

ВПЛИВ ХРОНІЧНОГО СТРЕСУ НА МОРФОМЕТРИЧНІ ПОКАЗНИКИ ПІНЕАЛЬНИХ КЛІТИН ЩУРІВ

¹Миколаївський національний університет імені В. О. Сухомлинського (м. Миколаїв)

²Чорноморський національний університет імені Петра Могили (м. Миколаїв)

pshychenko85@gmail.com

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами. Дослідження виконано в рамках науково-дослідної роботи кафедри лабораторної діагностики Миколаївського національного університету імені В.О. Сухомлинського «Порівняльна морфологія пазух твердої оболони головного мозку хребетних» (№ державної реєстрації 0115U000176, 2015-2020 рр.).

Вступ. Вплив екстремальних факторів викликає насамперед, активацію двох регулюючих систем організму – нервової та ендокринної, а також комплекс морфологічних змін, направлених на підтримання гомеостазу [1]. Важливу роль у здійсненні адаптаційних реакцій організму до дії стресорних факторів, а також в захисті організму від несприятливих факторів довкілля відіграє епіфіз, що є нейроендокринним органом [2,3]. Тому стресові реакції супроводжуються реактивними змінами морфології епіфізу, який активно включається в процес адаптації, змінюючи функціональну активність [4]. Особливий інтерес викликають зміни морфометричних параметрів пінеальних клітин, оскільки вони є маркером функціонального стану пінеалоцитів, а відповідно і епіфізу.

Метою нашого дослідження було встановити морфометричні зміни пінеалоцитів щурів в умовах хронічного стресу.

Об'єкт і методи дослідження. Експериментальне дослідження було проведено на 16 статевозрілих самців щурів лінії Вістар, віком 12 місяців та масою 220-260 гр. Тварини перебували за стандартних умов віварію в умовах природної зміни світлової і темної частини доби і були розподілені на 2 групи (по 8 тварин в кожній групі): інтактну і експериментальну. Моделювання хронічного стресу здійснювали шляхом гіпердинамії. Щурів поміщали в резервуар із водою місткістю 10 л. на 10 хв. для примусового плавання [5]. Одноразові тренування здійснювали впродовж 10 діб [6].

По закінченню терміну експерименту піддослідних тварин піддавали евтаназії в чіткій відповідності до вимог положень «Європейських конвенцій щодо захисту хребетних тварин, що використовуються в експериментальних та інших наукових цілях» (Страсбург, 1986), а також «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах ухвалених першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001). Евтаназію тварин здійснювали шляхом декапітації під легким ефірним наркозом.

Після декапітації проводили скальпування черепа з подальшим видаленням склепіння черепа разом з твердою мозковою оболонкою. Потім обережно відокремлювали головний мозок разом з м'якою мозковою оболонкою від основи черепа. Отримані макропрепарати занурювали у фіксуючий розчин 10 % нейтрального формаліну. Для своєчасного та

повноцінного проникнення фіксуючого розчину в епіфіза попередньо розсікали м'яку оболону головного мозку тварин, в місцях найбільш наближених до зони його розташування. Після вилучення епіфізу разом з прилягаючими до нього судинами отриманий комплекс занурювали у фіксуючий розчин 10 % нейтрального формаліну. За допомогою стандартних способів матеріал заключали у парафінові блоки, з яких виготовляли зрізи товщиною 4 мкм і фарбували гематоксиліном та еозином. Отримані таким чином гістологічні препарати вивчали при різних збільшеннях мікроскопу марки: «CarlZeiss» з подальшим фотографуванням мікропрепаратів цифровим дзеркальним фотоапаратом фірми «Canon».

Морфометричні вимірювання проводили з використанням мікрометра окулярного гвинтового типу МОВ 1-16 при збільшенні об'єктива 40х. Визначали великий (в) і малий (м) діаметри (Д) ядра (я) та цитоплазми (ц) світлих і темних пінеалоцитів у двох взаємоперпендикулярних напрямках. Враховуючи малі розміри і округлу форму ядерця світлих пінеалоцитів їхні розміри визначали в одному напрямку. Площу цитоплазми та ядерця визначали за формулою $S = \pi r R$, де r і R – малий і великий радіуси відповідно. Враховуючи округлу форму ядерця їх площу вираховували за формулою $S = \pi r^2$. Всі отримані цифрові величини виражені в мкм. Для уникнення помилок морфометрії піддавалися лише зрізи тих клітин, в яких дуже добре контурували ядерця. Пінеалоцити (це стосується світлих клітин), в каріоплазмі яких були відсутні ядерця або виявлялися лише їх залишки, при проведенні морфометрії не брали до уваги. Тим самим, ми вважаємо, досягалася значною мірою стандартизація отриманих фактичних даних в кожній з досліджених серій експериментального матеріалу.

Всі отримані результати піддані статистичній обробці для параметричних критеріїв з використанням t-критерію Стьюдента та програми Statistica 6.1 і Excel із пакету MS Office XP. Для кожної вибірки розраховували середню арифметичну (M), її стандартну похибку (m) і середнє квадратичне відхилення (σ). Достовірними вважали результати порівнянь при рівні значення $p < 0,01$, $p < 0,001$ [7].

Результати дослідження та їх обговорення. За результатами наших морфометричних досліджень пінеальних клітин експериментальних тварин, встановлено достовірне зменшення площі цитоплазми і ядра активних світлих пінеалоцитів порівняно з контрольною групою тварин (**табл.**), що безумовно є результатом зниження їх функціональної активності внаслідок впливу стресових факторів і свідчить про зменшення процесів внутрішньоклітинного синтезу.

Встановлено, що у світлих активних пінеалоцитів середня площа цитоплазми зменшується на 14,21 % ($p < 0,001$), середня площа ядра зменшується на

23,59 % ($p < 0,001$), середня площа ядра на 13,58 %.

Виявлено, що середня площа цитоплазми і ядра малоактивних темних клітин зменшується на 13,50 % і 24,78 % відповідно. Ядерця у темних пінеалоцитах не виявляються, що можна пояснити надмірним заповненням каріоплазми базофільною речовиною, яка «маскує» ядрце клітини.

Зменшення площі ядра вказує на зниження синтезу рРНК, необхідної для синтезу білка. Явища пікнозу ядер з переважанням процесів ущільнення гетерохроматину є основною причиною зменшення площі ядер у піддослідних тварин. Також зменшення площі ядра можна пов'язати з переходом функціонально активного еухроматину у функціонально неактивний гетерохроматин, що має невелику здатність до транскрипції. Еухроматин являє собою менш компакту і конденсовану форму хроматину, при якій більша кількість генів здатна до транскрипції в спеціалізованій клітині. Можна припустити зниження рівня транскрипції і синтезу білка в умовах хронічного стресу, внаслідок енергетичного дефіциту пінеальної клітини. У той же час збільшення ядерно-цитоплазматичного співвідношення вказує на зменшення площі клітини, що узгоджується зі зниженням білкового синтезу.

Середні морфометричні показники пінеалоцитів щурів, яких піддавали хронічному стресу порівняно з контрольною групою

Група тварин	Площа цитоплазми мкм ² M ± m	Площа ядра мкм ² M ± m	Площа ядра мкм ² M ± m
Світлі пінеалоцити			
Контроль	74,58 ± 1,89 n = 20	27,68 ± 0,82 n = 20	3,02 ± 0,32 n = 20
Хронічний стрес	63,98 ± 2,05** n = 20	21,15 ± 1,27** n = 20	2,61 ± 0,22 n = 20
Темні пінеалоцити			
Контроль	38,66 ± 2,04 n = 10	16,87 ± 1,22 n = 10	-
Хронічний стрес	33,44 ± 4,32 n = 20	12,69 ± 1,75 n = 20	-

Примітки: * достовірно з контролем ($p < 0,01$); ** достовірно з контролем ($p < 0,001$).

Висновок. Таким чином результати проведеного морфометричного дослідження пінеальних клітин свідчать про зниження функціональної активності епіфізу на що вказує зменшення морфометричних показників як світлих, так і темних пінеальних клітин.

Перспективи подальших досліджень. Базуючись на отриманих результатах та враховуючи той факт, що фізіологічний контроль ендокринної функції епіфізу здійснюється світловим режимом навколишнього середовища доцільним є подальше дослідження змін морфометричних параметрів пінеальних клітин в умовах хронічного стресу та порушеного фотоперіоду.

Література

- Viter VI, Stepanyan YuS. Funkcional'naya morfologiya ehpifiza pri smerti ot obshchego pereohlazhdeniya organizma. Problemy ehkspertizy v medicine. 2005 Oct 30;19(14):16-8. [in Russian].
- Pishak VP. Struktura i funktsii shishkopodibnoi zalozhi u ptahiv. Klinichna anatomiya ta operativna hirurgiya. 2012 Jan;11(1):101-3. [in Ukrainian].
- Sibarov DA, Kovalenko RI, Nozdrachev AD. Osobennosti funkcionirovaniya pinealocitov u kryis pri stresse v svetloe vremya sutok. Rossijskij fiziologicheskij zhurnal im. I. M. Sechenova. 2000;86(8):1049-57. [in Russian].
- Pishak VP, Lomakina YuV. Gistologichni ta ul'trastrukturni kriteriiy efektyvnosti korektsii melatoninom ta epitalonom pinealocitiv starih shchuriv pislyia immobilizacijnogo stresu. Problemi starinnyia i dovholittya. 2008;17(1):3-8. [in Ukrainian].
- Dev'yatkina TO, Dev'yatkina NM. Eksperimenti z vikoristanniam laboratornih tvarin yak peredumova dlya stvorennia novih stres protektoriv. Aktual'ni problemi suchasnoi medicini. 2009;9(2):35-8. [in Ukrainian].
- Panina LV. Osoblivosti zmin skladu krovi shchuriv za umov adaptatsii do fizichnogo navantazhennia plavanniam. Bukovins'kij medichnij visnik. 2012;16(3):71-3. [in Ukrainian].
- Avtandilov GG. Medicinskaya morfometriya. Moskva: Medicina; 1990. 382 s. [in Russian].

ВПЛИВ ХРОНІЧНОГО СТРЕСУ НА МОРФОМЕТРИЧНІ ПОКАЗНИКИ ПІНЕАЛЬНИХ КЛІТИН ЩУРІВ

Пшиченко В. В., Черно В. С.

Резюме. За допомогою методу світлової мікроскопії проведений аналіз морфометричних параметрів пінеальних клітин щурів лінії Wistar за умов хронічного стресу. Встановлено зменшення площі цитоплазми і ядра як активних світлих пінеалоцитів так і малоактивних темних клітин порівняно з контрольною групою тварин, що свідчить про пригнічення функціональної активності епіфіза. На нашу думку, даний факт можна інтерпретувати як зниження рівня транскрипції і синтезу білка в умовах хронічного стресу, внаслідок енергетичного дефіциту пінеальної клітини.

Ключові слова: епіфіз, щури, пінеальні клітини, стрес.

ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКОГО СТРЕССА НА МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ПИНЕАЛЬНЫХ КЛЕТОК КРЫС

Пшиченко В. В., Черно В. С.

Резюме. С помощью метода световой микроскопии проведен анализ морфометрических параметров пинеальных клеток крыс линии Wistar в условиях хронического стресса. Установлено уменьшение площади цитоплазмы и ядра как активных светлых пинеалоцитов так и малоактивных темных клеток по сравнению с контрольной группой животных, что свидетельствует об угнетении функциональной активности эпифиза. По нашему мнению, данный факт можно интерпретировать как снижение уровня транскрипции и синтеза белка в условиях хронического стресса, вследствие энергетического дефицита пинеальной клетки.

Ключевые слова: эпифиз, крысы, пинеальные клетки, стресс.

INFLUENCE OF CHRONIC STRESS ON MORPHOMETRIC PARAMETERS OF RAT PINEAL CELLS**Pshychenko V., Chernov V.**

Abstract. An important role in the implementation of the adaptive reactions of the organism to the action of stress factors, as well as in protecting the body from adverse environmental factors is played by the epiphysis, which is a neuroendocrine organ. Therefore, stress reactions are accompanied by reactive changes in the morphology of the epiphysis, which is actively involved in the process of adaptation, changing the functional activity. Of particular interest are changes in the morphometric parameters of the pineal cells, since they are a marker of the functional state of the pinealocytes, and, accordingly, of the epiphysis.

The purpose of our study was to determine the morphometric changes of pinealocytes in rats under chronic stress conditions.

The study was conducted on 16 sexually mature males of the Wistar line rats. Animals were under standard vivarium conditions under natural changes of light and dark part of the day and were divided into 2 groups: intact and experimental. Simulation of chronic stress was carried out through hyperdynamia. The rats were placed in a reservoir with water of 10 liters for 10 minutes for forced swimming. One-time training was carried out for 10 days.

According to the results of our morphometric studies of pineal cells of experimental animals, a significant reduction in the area of the cytoplasm and the nucleus of active light pinealocytes compared with the control group of animals, which is definitely the result of a decrease in their functional activity due to the influence of stress factors and indicates a decrease in the processes of intracellular synthesis.

It was found that in light active pinealocytes, the average area of the cytoplasm decreases by 14.21% ($p < 0.001$), the average nucleus area decreases by 23.59% ($p < 0.001$), the average nucleus area is 13.58%.

It was found that the average area of the cytoplasm and nuclei of low-activity dark cells decreases by 13.50% and 24.78% respectively. The nucleus in the dark pinealocytes does not appear, which can be explained by excessive filling of the karyoplasma with a basophilic substance that "disguises" the nucleolus of the cell.

Reducing the area of the nucleolus indicates a decrease in the synthesis of rRNA required for the synthesis of protein. The phenomena of nucleus picnosis with the predominance of heterochromatin densification processes is the main reason for the reduction of the area of nuclei in the experimental animals. Also, a reduction in the area of the nucleus can be associated with the transition of a functionally active euchromatin to a functionally inactive heterochromatin having a small transcriptional capacity. Euchromatin is a less compact and condensed form of chromatin, in which more genes are capable of transcription in a specialized cell. It is possible to assume a decrease in the level of transcription and protein synthesis in conditions of chronic stress, due to the energy deficit of the pineal cell. At the same time, an increase in the nuclear-cytoplasmic ratio indicates a decrease in the cell area, which is consistent with the decrease in protein synthesis.

Thus, the results of the morphometric study of pineal cells indicate a decrease in the functional activity of the epiphysis, indicating a decrease in the morphometric indices of both light and dark pineal cells.

Key words: pineal gland, rats, pineal cells, stress.

*Рецензент – проф. Білаш С. М.
Стаття надійшла 31.10.2018 року*

DOI 10.29254/2077-4214-2018-4-2-147-300-307

УДК 616.742+616-092.9+616.441-008.64

Саган Н. Т.

МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ЖУВАЛЬНИХ М'ЯЗІВ В УМОВАХ ЙОДОДЕФІЦИТНОЇ ДІЄТИ З ДОДАВАННЯМ СТРУМОГЕННИХ ПРОДУКТІВ У РІЗНІ ПЕРІОДИ ОНТОГЕНЕЗУ

Івано-Франківський національний медичний університет (м. Івано-Франківськ)

antimis2012@gmail.com

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами. Робота виконана в межах НДР «Морфофункціональні та цитогенетичні особливості органів і тканин при йододефіцитних станах, гіпотиреозі», державний реєстраційний номер 0114U005624.

Вступ. За даними ВООЗ, більше 1/3 населення Землі живе в зонах розвитку йододефіцитних станів. За даними Дитячого фонду ООН (ЮНІСЕФ) «прихованим голодом» страждають усі без виключення регіони України [1,2]. І як наслідок – поліоргани порушення. Тому проблема захворювань внаслідок нестачі йоду займає пріоритетне місце серед вітчизняних і міжнародних досліджень [3,4]. Відомо про розвиток міопатії при гіпотиреозі [5], причиною якого часто є йододефіцит [1,6]. Споживання струмогенних продуктів поглиблює метаболічні порушення [2]. Однак

скелетні м'язи в умовах йододефіциту із додаванням струмогенів не вивчалися.

Мета дослідження. Встановити особливості структурної організації власне жувального та бічного крилоподібного м'язів щурів на етапах постнатального онтогенезу при експериментально змодельованому йододефіциті з додаванням струмогенних продуктів.

Об'єкт і методи дослідження. Матеріалом для дослідження були власне жувальний та бічний крилоподібний м'язи 48 білих безпородних щурів-самців. Матеріал забирали в чітко визначених симетричних місцях власне жувального та бічного крилоподібного м'язів. Тварин ділили на групи: I група – інтактні ($n=24$) по 12 тварин нестатевозрілого та статевозрілого віку, яких утримували в звичайних умовах віварію, на природньому для гризунів кормі; II група – в умовах йододефіцитної дієти з додаванням струмогенних продуктів.