

УДК 616.45 –001.1/3 –06:616.1/4 –091.81 –055] –092.9  
DOI 10.11603/2415-8798.2016.3.6994

©І. Р. Міц, О. В. Денефіль, О. П. Андрійшин

ДВНЗ “Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського”

## МОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ ВНУТРІШНІХ ОРГАНІВ У ТВАРИН РІЗНОЇ СТАТІ, ЯКІ ЗАЗНАЛИ ХРОНІЧНОГО СТРЕСУ

МОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ ВНУТРІШНІХ ОРГАНІВ У ТВАРИН РІЗНОЇ СТАТІ, ЯКІ ЗАЗНАЛИ ХРОНІЧНОГО СТРЕСУ – Вивчено вплив хронічного пренатального, постнатального і комбінованого стресу на зміни морфологічної структури ендокринних залоз молодих щурів різної статі. Виявлено порушення морфологічної будови щитоподібної залози, яке було найбільше виражене у тварин, які зазнали комбінованого стресу. В надниркових залозах вираженішими були зміни у самців, які зазнали хронічного постнатального і комбінованого стресу, порівняно з самицями. Пошкодження були найбільшими у всіх тварин, які зазнали дії комбінованого стресу: зростала активність клубочкової і зменшувалася пучкової зон. У тимусі найбільшими зміни були в самців із пренатальним, у самиць – з комбінованим стресом. У статевих органах найбільші зміни були в щурів обох статей із комбінованим стресом. Виявлені зміни вказують на можливий розвиток хронічного запалення, вторинних імунодефіцитних станів.

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ВНУТРЕННИХ ОРГАНОВ ЖИВОТНЫХ РАЗНОГО ПОЛА, ПОДВЕРГШИХСЯ ХРОНИЧЕСКОМУ СТРЕССУ – Изучено влияние хронического пренатального, постнатального и комбинированного стресса на изменения морфологической структуры эндокринных желез молодых крыс разного пола. Выявлены нарушения морфологического строения щитовидной железы, которые были больше выражены у животных, подвергшихся комбинированному стрессу. В надпочечниках выраженные изменения наблюдались у самцов, подвергшихся хроническому постнатальному и комбинированному стрессу по сравнению с самками. Повреждения были самыми большими у всех животных, подвергшихся воздействию комбинированного стресса: увеличилась активность клубочковой, уменьшалась пучковой зон. В тимусе наибольшими изменения были у самцов с пренатальным, у самок – с комбинированным стрессом. В половых органах самыми большими изменения были у крыс обоего пола с комбинированным стрессом. Выявленные изменения указывают на возможное развитие хронического воспаления, вторичных иммунодефицитных состояний.

MORPHOLOGICAL CHANGES OF INTERNAL ORGANS IN ANIMALS OF DIFFERENT SEXES WITH CHRONIC STRESS – It was investigated the effects of chronic prenatal, postnatal and combined stress on the endocrine glands morphological structure changes of young both sexes rats. There were discovered violations of morphological structure of the thyroid gland, which was most in animals with combined stress. In the adrenal glands most changes were observed in rats-males with chronic postnatal and combined stress compared to rats-females. Damage was greatest in all animals with combined stress: increased activity of zona glomerulosa and decreased in zona fasciculata. In the thymus major changes were in rats-males with prenatal, in rats-females – with combined stress. In genitals were major histological changes in rats of both sexes with combined stress. Detected changes indicate the possible development of chronic inflammation, secondary immunodeficiency.

**Ключові слова:** хронічний стрес; щури; ендокринні залози; морфологічні зміни.

**Ключевые слова:** хронический стресс; крысы; эндокринные железы; морфологические изменения.

**Key words:** chronic stress; rats; heart; endocrine glands; morphological changes.

**ВСТУП** Хронічні стреси постійно супроводжують нас у житті. При їх довготривалій дії виникає патологія вну-

трішніх органів, страждає імунна, ендокринна системи, виникають порушення вищої нервової діяльності [7, 8]. При цьому спостерігаються зміни і морфологічної структури органів ендокринної системи [4–6]. Стрес по-різному впливає на осіб чоловічої та жіночої статей різного віку [10]. Пренатальний стрес має більший пошкоджувальний вплив на осіб чоловічої статі, постнатальний та поєднання пренатального і постнатального – жіночої [9, 11]. Визначення особливостей змін ендокринної системи допоможе розкрити механізми негативного впливу пренатального, постнатального стресу та їх поєднаної дії на статевозрілих осіб різної статі, сприятиме застосуванню відповідних лікарських засобів. Тому метою роботи було встановити пошкоджувальний вплив пренатального, постнатального стресу та їх поєднання на ендокринні залози щурів різної статі.

**МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ** Досліди виконано на 44 безпородних статевозрілих щурах-самцях і 48 самиць віком 3 місяці. Пренатальний стрес викликали у вагітних самиць за стандартною методикою [1]. Постнатальний стрес у тварин спричиняли, починаючи з 1,5-місячного віку. Їх поміщали у клітки з обмеженням життєвого простору до 3 місяців. У день експерименту щурів фіксували протягом 1 год спинкою донизу [2]. Комбінований стрес включав поєднання пре- і постнатального стресів.

Досліди виконано з дотриманням норм Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986), ухвали Першого національного конгресу з біоетики (Київ, 2001) і наказу МОЗ України № 690 від 23.09.2009 р.

Евтаназію щурів проводили шляхом тотального кровопускання з серця після попереднього тіопентало-натрієвого наркозу (60 мг·кг<sup>-1</sup> маси тіла тварини внутрішньочеревно). Для подальшого експериментального дослідження забирали надниркові залози, тимус, щитоподібну залозу, яєчники чи яєчка. Світлооптичні дослідження препаратів проведено згідно з загальноприйнятими методами [3]. Препарати забарвлювали гематоксиліном та еозином і вивчали у світлооптичному мікроскопі ЛОМО БИОЛАМ І та документували за допомогою відеокамери Vision CCD Camera і програми InterVideo Win DVR.

**РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ** При дослідженні гістологічних препаратів ендокринних органів у тварин виявлено зміни як у стромі, так і в паренхімі.

У щитоподібних залозах самців і самиць щурів із хронічним пренатальним стресом суттєвих змін у структурі органа виявлено не було. У тварин, які зазнали дії постнатального стресу, було виявлено кровонаповнення судин гемомікроциркуляторного русла: у сполучнотканних прошарках чітко контурувалися судини із форменими елементами крові в просвіті, причому такі явища спостерігалися й у венах. У дещо просвітлених периваскулярних просторах виявлялися дифузно розташовані лімфоцити, більше їх було й у стінках фолікулів. Колоїд був гомогенним, зростала інтенсивність його забарвлення. Ступінь вираження змін не залежав від статі (рис. 1).

Комбінований стрес спричинив суттєвіші зміни в структурі щитоподібних залоз піддослідних тварин, дещо більші у самиць. У препаратах виявляли значне кровонаповнення компонентів мікроциркуляторного русла та

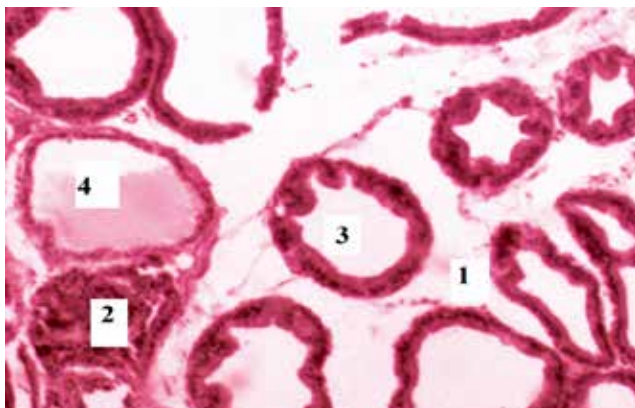


Рис. 1. Фрагмент щитоподібної залози щура-саміці після впливу комбінованого стресу. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Зб. ок. 8 x об. 10: 1 – розширені й просвітлені прошарки міжфолікулярної сполучної тканини, 2 – виразне кровонаповнення судин, 3 – нерівномірне зниження тироцитів, 4 – неоднорідний колоїд у просвіті фолікула.

вен. Прошарки сполучної тканини були розширеними, а периваскулярні простори просвітленими, в них виявлялися вогнища лімфогістіоцитарної інфільтрації. Висота тироцитів нерівномірно знижувалась, ядра набували овальної форми, були виразно гетерохроматичними. Колоїд ставав неоднорідним, особливо на периферії фолікулів, поблизу апікальних поверхонь тироцитів.

Таким чином, виявлені порушення морфологічної будови щитоподібної залози вказували на можливий розвиток хронічного запалення або аутоімунного процесу щитоподібної залози, що зумовлено безпосередньою дією раптового помірного стресу. При дії ж надмірного стресу може виникати гіпотиреозидизм, зумовлений впливом кортикостерону (кортизолу).

Структурна перебудова надниркових залоз при дії хронічного стресу найбільшою була в кірковій речовині, де спостерігалось порушення чіткого розмежування зон. Судини гемомікроциркуляторного русла в кірковій і у мозковій речовині органів добре виявлялися завдяки вмісту формених елементів у їх просвітах. Особливо добре вони простежувалися в пучковій зоні кори, де скупчення формених елементів мали вигляд тяжів, та в мозковій речовині, де вони формували великі агрегати довірливої форми.

При пренатальному стресі клітини в клубочковій зоні мали пірамідну форму, характерне розташування у вигляді петель та доволі чітко відрізнялися від адренкортикоцитів пучкової зони, які були більшими за розмірами, а їх оксифільна цитоплазма виявлялася виразно світлішою, неоднорідно забарвленою. На фоні такої цитоплазми в центрі клітин добре візуалізувалися еухроматичні ядра округлої форми. Обабіч клубочкової зони спостерігалися нечисельні дрібні клітини полігональної форми із слабобазофільною цитоплазмою (камбіальні клітини). Ланцюжки адренкортикоцитів у сітчастій зоні ідентифікувалися не чітко. Мозкова речовина виглядала світлішою, порівняно із кірковою, її епінефроцити та норепінефроцити мали характерну полігональну форму та слабобазофільне забарвлення. Між клітинами спостерігалися численні великі просвіти компонентів гемомікроциркуляторного русла із форменими елементами крові. Виразних статевих відмінностей не виявлено.

У препаратах тварин з постнатальним стресом характер виявлених змін був подібним, проте більш чутливими до дії стресорного фактора виявилися самці. В адренкортикоцитах клубочкових зон надниркових залоз вияв-

ляли помірне просвітлення цитоплазми, ядра клітин при цьому були світлішими (еухроматичними). Між пучками клітин відповідної зони було скупчення формених елементів крові.

За комбінованого стресу зміни в надниркових залозах були найбільшими. Кровонаповнення судин мікроциркуляторного русла було максимальним: у пучковій зоні кіркової речовини виявляли радіально розташовані скупчення формених елементів крові, периваскулярні простори довкола них були просвітлені. Стерлася чітка зональність кіркової речовини, оскільки цитоплазма кортикоцитів у всіх трьох зонах мала більш однорідне забарвлення (цитоплазма клітин клубочкової зони стала світлішою). Клітини камбіальних зон над- і підклубочкової погано візуалізувалися, базофілія їх цитоплазми знизилася. Найбільшими ці зміни були в надниркових залозах самців. При світлооптичному дослідженні мозкової речовини надниркових залоз суттєвих відмінностей у її структурних компонентах, порівняно з попередніми групами тварин, виявлено не було (рис. 2).

Таким чином, виявлені зміни у надниркових залозах свідчать про найбільшу можливість розвитку запального процесу в організмі тварин, які зазнали хронічного комбінованого стресу.

Пренатальний стрес спричинив найбільш виразні зміни в центральному органі імуногенезу піддослідних тварин – тимусі. Компоненти його строми при цьому суттєво змінилися: тонка сполучнотканнна капсула і міжчасточкові перегородки мали звичайний вигляд, окрім виразного кровонаповнення венозних судин. Часточкова будова цього органа суттєво порушилася, кількість малих лімфоцитів значно зменшилася, особливо у кірковій речовині, причому це явище мало виразний дрібновогнищевий характер (у вигляді картини “зоряного неба”). Це привело до стирання межі між кірковою та мозковою речовиною. Помітних змін в епітеліоретикулоцитах ми не виявили: ці великі оксифільні клітини із виразно еухроматичними ядрами дифузно розташовувалися як в кірковій, так і в мозковій речовині часточок. Описані зміни структурної організації центрального органа імуногенезу були більше виражені в препаратах тимуса щурів-самців (рис. 3).

Ефект впливу хронічного постнатального стресу на тимус піддослідних щурів був однотипним із пренатальним, але ступінь їх прояву був меншим, причому, як і в попередній групі, більш виразно реагували щури-самці. Інтенсивність базофільного забарвлення препаратів знижувалася за рахунок зменшення кількості Т-лімфоцитів,

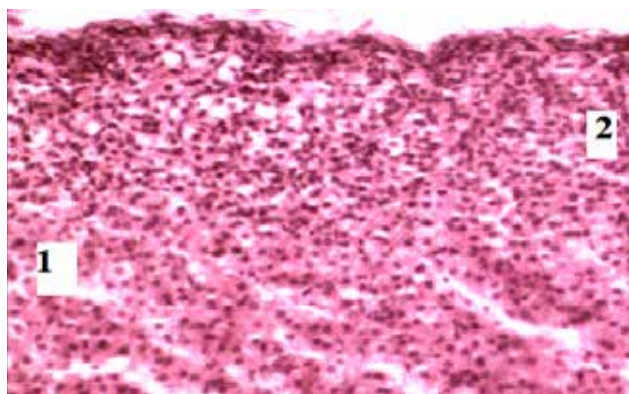


Рис. 2. Фрагмент надниркової залози щура-самця із комбінованим стресом. Забарвлення гематоксиліном та еозин. Зб. ок. 8 x об. 20: 1 – виразне кровонаповнення судин гемомікроциркуляторного русла, 2 – нечітка межа переходу від клубочкової до пучкової зони кори надниркової залози.

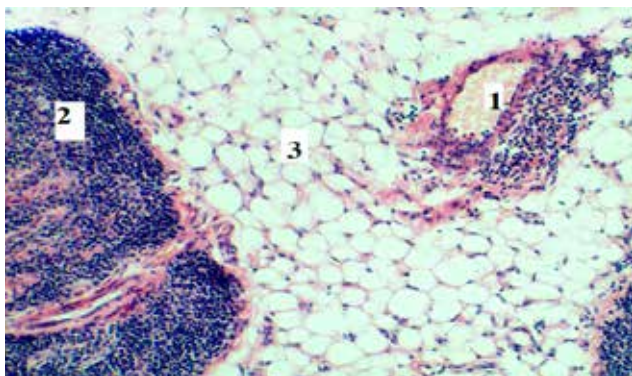


Рис. 3. Тимус щура-самця із пренатальним стресом. Забарвлення гематоксином та еозином. Зб. ок. 8 х об. 10: 1 – судина із форменими елементами крові, 2 – кіркова речовина часточки, 3 – жирова тканина в паренхімі органа.

зростала їх оксифілія, зумовлена розростанням сполучної тканини.

При вивченні препаратів тимусів тварин із комбінованим стресом було виявлено зміни менш виразні, аніж у попередніх групах, причому переважали вони в самок. Базофілія препаратів була слабшою, часточкова будова паренхіми – менше виражена. В самих часточках межа між кірковою та мозковою речовиною була нечіткою. В обидвох відділах виявлялися численні судини мікроциркуляторного русла із скупченнями формених елементів у них. Між інтенсивно базофільними тимоцитами кіркової речовини добре вирізнялися великі епітеліоцити неправильної (зірчастої) форми із еухроматичними ядрами. Таким чином, зазначено зміни у тимусі тварин, які зазнали хронічного стресу. В самців більші зміни були при пренатальному стресі, у самиць – комбінованому.

При вивченні гістологічних препаратів яєчників щурів-самиць після впливу хронічного пренатального стресу виявлено незначні зміни в структурі цього органа. Перш за все, це помірне кровонаповнення судин гемомікроциркуляторного русла як у кірковій, так і в мозковій речовині органа. Поверхня органів була помірно хвилястою відповідно до наявності фолікулів. Білкова оболонка мала звичайний вигляд, гермінативний епітелій на її поверхні низький кубічний, без особливостей. У кірковій речовині виявляли премордіальні фолікули, а також численні третинні з добре вираженою текою. Тут же знаходилися поодинокі атретичні фолікули із залишками блискучих оболонок яйцеклітин у вигляді гомогенної маси інтенсивно оксифільного забарвлення.

У самиць з постнатальним стресом були більш виражені зміни. При візуальному обстеженні органів, забраних для наступної фіксації, у вічі кидалася горбкуватість їх поверхні, зміна забарвлення, причина якої добре простежувалася при мікроскопічному дослідженні препаратів. Капсули органів були дещо товстими, епітелій на їх поверхні при цьому був плоским. Нерівна поверхня яєчників була зумовлена наявністю у кірковій речовині великих третинних фолікулів із товстими теками. І в зернистому, і в сполучнотканинному її шарах виявлялися численні кровонаповнені судини, причому довкола них було багато малих лімфоцитів. У кірковій речовині виявлялися також жовті тіла із аналогічними змінами у мікроциркуляторному руслі.

Специфічних змін у мозковій речовині яєчників не виявлено, але, як і в кірковій, судини гемомікроциркуляторного русла були виразно кровонаповненими, а периваскулярні простори – інфільтровані лімфоцитами.

Структурна перебудова жіночих статевих залоз щурів-самиць виявилася найбільшою після комбінованої дії стресорного фактора. Візуально яєчники були виразно гіперемовані, поверхня нерівномірна. При вивченні препаратів у світловому мікроскопі спостерігали потовщення білкової оболонки, витончення гермінативного епітелію. Теки фолікулів, які виступали над поверхнею органа були добре структуровані, з виразним шаром сполучної тканини. Таких фолікулів, що не овулювали, було більше порівняно із попередньою групою тварин (рис. 4). Розширені просвіти елементів мікроциркуляторного русла містили значні скупчення формених елементів крові як у стінках фолікулів, так і поза ними. Периваскулярні простори були добре виражені з характерними ознаками лімфогістіоцитарної інфільтрації (наявністю численних лімфоцитів та макрофагів).

Таким чином, виявлені зміни можуть вказувати на розвиток хронічного запального процесу в яєчниках самиць, які зазнали хронічного стресу.

При дослідженні препаратів яєчок щурів з пренатальним стресом було виявлено загальні ознаки стрес-реакції організму у вигляді кровонаповнення елементів гемомікроциркуляторного русла: у прошарках сполучної тканини між звивистими каналцями спостерігалися скупчення формених елементів крові, а також поодинокі овальні слабооксифільні ендокриноцити (клітини Лейдіга). Картина сперматогенного епітелію у різних зрізах була типово гетерогенною, проте порівняно із препаратами інтактних тварин, менше виявлялося сперматозоїдів у просвіті каналців. Базальний та адлюменальний шари клітин були розпізнавані. Серед клітин базального шару виявлялося мало сперматогоній із картинами мітотичних поділів. Суспендоцити мали звичайну форму та забарвлення.

При постнатальному стресі зміни були тотожними описаним вище. Проте в препаратах яєчок щурів цієї групи між звивистими каналцями виявлялися виразні прошарки сполучної тканини, що містили значно розширені судини мікроциркуляторного русла із скупченнями еритроцитів та лейкоцитів. Поодинокі лімфоцити можна було виявити в периваскулярних просторах. Поруч лежали поодинокі, зрідка невеликими групами, ендокринні клітини – округлі, виразно оксифільні з еухроматичними ядрами.

Серед клітин базального шару сперматогенного епітелію було мало клітин із характерними картинами мітозу, серед сперматогоній було багато клітин темних. Кількість сперматоцитів у фазі росту також була невеликою. У ділянках каналців із фазою сперматогенезу, що відповідає формуванню сперматид та їх трансформації у сперматозоїди, виявляли порівняно невелику кількість клітин.

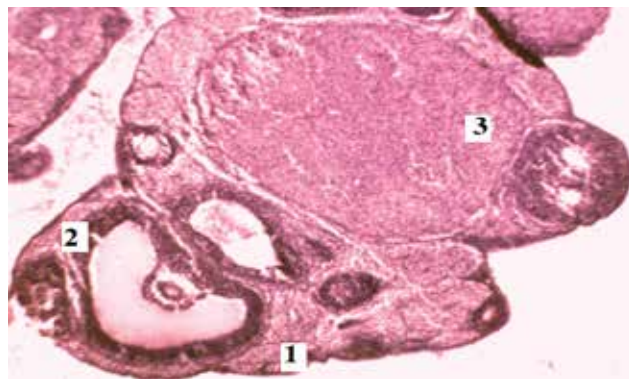


Рис. 4. Яєчник щура-самиці з комбінованим стресом. Забарвлення гематоксином та еозином. Зб. ок. 8 х об. 10: 1 – білкова оболонка органа, 2 – фолікул із потовщеною текою, 3 – кровонаповнені судини жовтого тіла.

Комбінований вплив стресу спричинив найбільш виразні зміни в гонадах щурів-самців. Білкова оболонка органів змінювалася найменше: окрім виразного кровонаповнення судин у ній суттєвих порушень не виявлено. Структура звивистих каналців та компонентів сполучної тканини між ними були порушені. Лише зрідка в базальному шарі сперматогенного епітелію виявляли сперматогонії на різних стадіях мітозу. В інших ділянках виявляли поодинокі великі сперматоцити в стадії росту. Суспендоцити мали звичайну форму та забарвлення, але їх ядра були інтенсивно базофільними за рахунок переважання гетерохроматину. В адлюменальному шарі кількість сперматид була невеликою, дуже мало виявлялось повноцінних сперматозоїдів у просвіті звивистих каналців. При даному виді стресу порушення гемомікроциркуляції виявлялись навіть у стінках звивистих каналців завдяки скупченням формених елементів крові у їх просвітах. Ознаки порушення гемодинаміки спотерігали і в міжканальцевій сполучній тканині: гемостаз у компонентах гемомікроциркуляторного русла, просвітлення периваскулярних просторів, їх лімфоцитарна інфільтрація. Поодинокі лімфоцити виявлялися також і в сперматогенному епітелії (рис. 5).

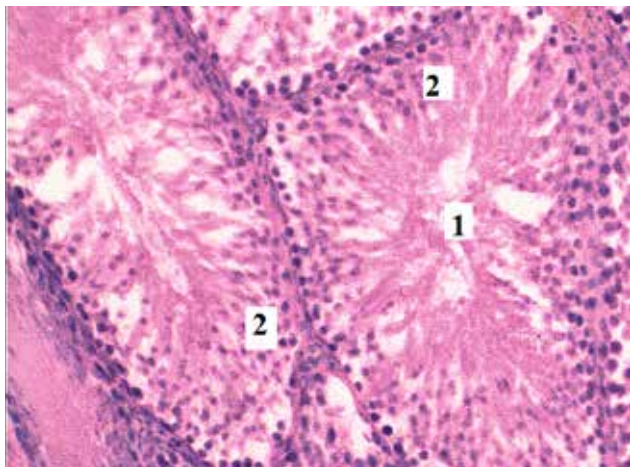


Рис. 5. Яєчко щура-самця із комбінованим стресом. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Зб. ок. 8 х об. 20: 1 – просвіт звивистого каналця, 2 – сперматогенний епітелій.

Таким чином, виявлені зміни свідчили як про порушення сперматогенезу, так і про розвиток дистрофічних змін, що найбільше виражено при комбінованому стресі.

**ВИСНОВКИ** 1. Виявлено порушення морфологічної будови щитоподібної залози, яке було найбільше виражене у тварин, які зазнали комбінованого стресу. В цій групі щурів можливий розвиток хронічного запалення або аутоімунного процесу щитоподібної залози, що зумовлено безпосередньою дією раптового помірного стресу на щитоподібну залозу. При дії ж надмірного стресу може виникати гіпотиреоїдизм, зумовлений впливом кортикостерону (кортизолу).

2. Більш виражені зміни у надниркових залозах спотерігалися у самців, які зазнали хронічного постнаталь-

ного і комбінованого стресу порівняно з самицями. Пошкодження були найбільшими у всіх тварин, які зазнали дії комбінованого стресу, в цій групі щурів стиралася чітка зональність кіркової речовини надниркових залоз: зростала активність клубочкової і зменшувалася – пучкової зон, що вказувало на зростання секреції мінералокортикоїдів і зменшення секреції глюкокортикоїдів, що вказує на можливість розвитку запалення.

3. Відмічено значні зміни у тимусі тварин, які зазнали хронічного стресу. Найбільшими вони були у самців з пренатальним, у самиць – з комбінованим стресом. Виявлені зміни свідчили про інволюцію тимуса, заміщення клітин жировою тканиною, ризик розвитку вторинних імунodefіцитних станів.

4. Найбільші гістологічні зміни у статевих органах були в щурів з комбінованим стресом. Вони можуть вказувати на розвиток хронічного запального процесу в яєчниках самиць, порушення сперматогенезу та розвиток дистрофічних змін яєчок у самців.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Абрамов А. В. Состояние толерантности к глюкозе у самцов, перенесших хронический пренатальный стресс / А. В. Абрамов, Ю. М. Колесник, М. А. Тихоновская // Запорожский медицинский журнал. – 2004. – № 6. – С. 38–41.
2. Волкова О. В. Основы гистологии с гистологической техникой / О. В. Волкова, Ю. К. Елецкий. – М.: Медицина, 1982. – 304 с.
3. Пат. на корисну модель № 99821 UA МПК: G09B 23/28 Спосіб моделювання хронічного іммобілізаційного стресу, підсиленого дією гострого стресу. Денефіль О. В., Міц І. Р. – № u201414143; Заявл. 29.12.2014; Опубл. 25.06.2015. Бюл. № 12.
4. Chronic stress induces ageing-associated degeneration in rat Leydig cells / F. F. Wang, Q. Wang, Y. Chen [et al.] // Asian J. Androl. – 2012. – Vol. 14(4). – P. 643–648.
5. Clark L. S. Morphological changes in the Atlantic bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*) adrenal gland associated with chronic stress / L. S. Clark, D. F. Cowan, D. C. Pfeiffer // J. Comp. Pathol. – 2006. – Vol. 135(4). – P. 208–216.
6. Morphological changes of adrenal gland and heart tissue after varying duration of noise exposure in adult rat / N. Gannouni, A. Mhamdi, M. El May [et al.] // Noise Health. – 2014. – Vol. 16(73). – P. 416–421.
7. Parswani M. J. Mindfulness-based stress reduction program in coronary heart disease: A randomized control trial / M. J. Parswani, M. P. Sharma, S. Iyengar // Int. J. Yoga. – 2013. – Vol. 6(2). – P. 111–117.
8. Physiological responses to emotional excitement in healthy subjects and patients with coronary artery disease / O. P. Piira, J. A. Miettinen, A. J. Hautala [et al.] / Auton. Neurosci. – 2013. – Vol. 177(2). – P. 280–285.
9. Sex-specific effects of prenatal stress on glucose homeostasis and peripheral metabolism in rats / P. J. Brunton, K. M. Sullivan, D. Kerrigan [et al.] // J. Endocrinol. – 2013. – Vol. 217 (2). – P. 161–173.
10. Sex-specific interaction effects of age, occupational status, and workplace stress on psychiatric symptoms and allostatic load among healthy Montreal workers / R. P. Juster, D. S. Moskowitz, J. Lavoie, B. D'Antono / Stress. – 2013. – Vol. 16(6). – P. 616–629.
10. The relationship of chronic and momentary work stress to cardiac reactivity in female managers: feasibility of a smart phone-assisted assessment system / M. A. Lumley, W. Shi, C. Wilholm [et al.] // Psychosom. Med. – 2014. – Vol. 76 (7). – P. 512–518.

Отримано 13.07.16