## Для заказа доставки данной работы воспользуйтесь поиском на сайте по ссылке: <http://www.mydisser.com/search.html>

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ’Я УКРАЇНИ**

**ОДЕСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

**ГУРАЛЮК ВАЛЕНТИН МИКОЛАЙОВИЧ**

**УДК 616.45 – 092 : 612.017.2**

**СТРЕС-ІНДУКОВАНІ МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНІ ЗМІНИ НАДНИРКОВИХ ЗАЛОЗ ЗА РІЗНОЇ ДОВЖИНИ ФОТОПЕРІОДУ**

**(експериментальне дослідження)**

**14.03.04 – патологічна фізіологія**

**Автореферат**

**дисертації на здобуття наукового ступеня**

**кандидата медичних наук**

Одеса - 2008

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в Буковинському державному медичному університеті МОЗ України.

**Науковий керівник:** член-кореспондент АПН України, доктор медичних наук, професор **Пішак Василь Павлович**, Буковинський державний медичний університет МОЗ України, м.Чернівці, завідувач кафедри медичної біології, генетики та гістології.

**Офіційні опоненти:**

доктор медичних наук, професор **Шандра Олексій Антонович**, Одеський державний медичний університет МОЗ України, м.Одеса, завідувач кафедри нормальної фізіології;

доктор медичних наук, професор **Насібуллін Борис Абдулайович,** Український науково-дослідний інститут медичної реабілітації та курортології МОЗ України, м.Одеса, провідний науковий співробітник.

Захист відбудеться «­9» квітня 2008 р. о 13.00 год на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 41.600.01 Одеського державного медичного університету МОЗ України (65082, м.Одеса, пров. Валіховський, 2).

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Одеського державного медичного університету МОЗ України (65082, м.Одеса, пров. Валіховський, 3).

Автореферат розісланий «­7» березня 2008 р.

Вчений секретар

спеціалізованої вченої ради Д. 41.600.01

к.мед.н., доцент В.В. Годован

**ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ**

Актуальність теми. **Тісна взаємодія організму з навколишнім середовищем підтримується складною, самокерованою системою гомеостазу, здатною одночасно поєднувати і контролювати різноманітні функціональні процеси [Алпатов А.М., 2000; Cutolo M. et al., 2003]. Постійне зростання стресових впливів на людину, що призводить до розвитку різних патологічних процесів, актуалізує пошук засобів, що підвищують стійкість організму в екстремальних ситуаціях. Одним з найважливіших механізмів обмеження інтенсивності стрес-реакції і стресорних пошкоджень організму є активація центральних і локальних стрес-лімітувальних систем, що виникають у відповідь на стресовий вплив [Ткачук С.С. та ін., 1999].**

**Нині немає сумнівів щодо важливості ролі катехоламінів у реалізації відповіді організму на дію стресового чинника. Участь клітин мозкової речовини надниркових залоз, що синтезують основну кількість катехоламінів, у реакції організму на стресовий вплив стала предметом активного біохімічного вивчення. Вивчені добові і сезонні ритми фізіологічних функцій в адреналектомованих тварин [Алпатов А.М., 2000]. Водночас відомості щодо сезонних і циркадіанних змін морфології і функціонування надниркових залоз мають фрагментарний характер [Бейер Э.В. и др., 1999; Illnerova H., 2000]. Слід зазначити, що одностайної думки щодо морфологічних та ультраструктурних змін, а також функціональної активності надниркових залоз досі немає, оскільки відомі різні моделі та тривалість індукування стресу.**

**Будь-який стресовий вплив на організм викликає дезорганізацію біологічних ритмів різного періоду. Причиною може бути первинне збудження емоціогенних структур мозку, що здатні вторинно дестабілізувати роботу центральних ланок керування коливальними процесами [Романов Ю.А., 2000; Ruiqi W., Luonan C., 2005]. За участі мелатоніну шишкоподібна залоза (ШЗ) бере активну участь у керуванні адаптивними реакціями організму на зміни зовнішніх умов середовища і внутрішнього гомеостазу [Пішак В.П., 2002]. Поряд з комплексом інших гормонів, добові ритми яких контролюються циркадіанним осцилятором, мелатоніну належить роль передавача циркадіанних ритмів від СХЯ до органів і тканин [Малиновская Н.К., 2002]. У людей, як і у тварин, зміни фотоперіоду зумовлюють зміни тривалості нічного синтезу мелатоніну, що, у свою чергу, перебудовує ендогенні ритми організму відповідно до змін навколишнього середовища, тривалості фотоперіоду та нічної продукції мелатоніну [Campbell S.С., Murphy P.J.**, **1999].**

**Останнім часом великої уваги надається вивченню властивостей пептидних тканинних екстрактів різних ендокринних залоз та їх синтетичних аналогів [Романова Е.Н., 2006]. Епіталон підвищує тривалість життя лабораторних тварин, після ін’єкцій епіталону рівень мелатоніну в залозі дорослих та старих щурів у нічний час доби зростає [Шатило В.Б., 1996; Хавинсон В.Х. и др., 2001]. Водночас, питання про властивості епіталону та можливість корекції ним порушень морфофункціонального стану надниркових залоз при стресі залишається невивченим.**

**Нез’ясованим є характер морфофункціональних порушень периферичного компонента ендокринної системи у динаміці розвитку стресу за різної довжини фотоперіоду. Отже, не викликає сумніву актуальність дослідження стрес-індукованих змін морфофункціонального стану надниркових залоз за умов різної функціональної активності ШЗ, з’ясування впливу синтетичного пептидного чинника ШЗ – епіталону на надниркові залози, як антистресового та ритморегулювального агента.**

Зв’язок роботи з науковими програмами, планами, темами. **Дисертація є частиною планової науково-дослідної роботи кафедри медичної біології, генетики та гістології „Вплив стресу та солей важких металів на хроноритми функцій нирок та морфологічні показники деяких ендокринних органів” (номер державної реєстрації 0104U0090125). Дисертант є виконавцем фрагменту даної наукової роботи.**

**Мета та завдання дослідження.** Метою дослідження є з’ясування морфологічних та функціональних змін надниркових залоз за різних режимів освітлення для встановлення ролі ШЗ в корекції їх стрес-обумовлених відхилень.

Завдання дослідження:

1. Визначити морфологічні та функціональні особливості наднир­кових залоз за умов стресу.
2. Дослідити морфофункціональний стан надниркових залоз при стресі за умов гіперфункції ШЗ.
3. Вивчити зміни в надниркових залозах при іммобілізаційному стресі за умов гіпофункції ШЗ.
4. З’ясувати роль епіталону у механізмах корекції відхилень морфофункціонального стану надниркових залоз при стресі залежно від довжини фотоперіоду.
5. Встановити кореляційні зв’язки між морфофункціональними змінами надниркових залоз в умовах стресу та функціональною активністю ШЗ.

*Предмет дослідження****:*** реакція структурних і функціональних компонентів мозкової та кіркової речовин надниркових залоз на стрес залежно від функціонального стану ШЗ.

*Об’єкт дослідження****:*** морфологічні та функціональні зміни кіркової та мозкової речовин надниркових залоз.

*Методи дослідження****:*** патофізіологічні, гістологічні (світлооптична та електронна мікроскопія); імуноферментний аналіз (вміст адреналіну та норадреналіну в плазмі крові); радіоімунний аналіз (вміст кортикостерону в плазмі крові тварин); статистичні (математична обробка отриманих результатів).

**Наукова новизна отриманих результатів.** Стрес-індуковані морфофункціональні перебудови надниркових залоз менш виражені у тварин, яким моделювали гіперфункцію шишкоподібної залози. У стресованих тварин на фоні гіпофункції шишкоподібної залози спостерігалося порушення функцій та виникнення морфологічних змін у надниркових залозах.

Вперше встановлено роль синтетичного пептиду епіталону в регуляції порушень, що виникають при стрес-реакції та порушенні функції шишкоподібної залози. З’ясовано, що згаданий пептид шишкоподібної залози володіє вираженими ритморегулювальними та стреспротективними властивостями.

Вперше доведено, що введення тваринам з гіпофункцією шишкоподібної залози перед стресом епіталону призводить до нормалізації добових ритмів функціональної активності надниркових залоз, знижує рівень катехоламінів та кортикостерону у плазмі крові, запобігає виникненню в органелах кортикоцитів та хромафіноцитів явищ деструкції та руйнації, а також перешкоджає появі стану десинхронозу.

**Практичне значення отриманих результатів.** Результати даного дослідження розширюють уявлення про динаміку та характер змін в ендокриноцитах надниркових залоз протягом доби та розкривають направленість компенсаторно-пристосувальних процесів при іммобілізаційному стресі.

Проведене дослідження дозволило встановити особливості функціональної активності хромафіноцитів мозкової речовини та кортикоцитів кори надниркових залоз в умовах постійного освітлення чи постійної темряви, визначити спрямованість та реактивність синтетичних процесів у досліджуваному органі.

Отримані результати можна використати при розробці комплексних лікувальних та профілактичних заходів щодо корекції зрушень гомеостазу, викликаних віковою гіпофункцією ШЗ, а також вони є основою для обґрунтування застосування епіталону з метою фармакологічної корекції та профілактики змін, що розвиваються в надниркових залозах при стресі.

**Особистий внесок здобувача.** Автором особисто здійснено розробку основних теоретичних та практичних положень роботи, аналіз та реферування літературних джерел, проведено дослідження морфологічного та функціонального стану надниркових залоз, статистично опрацьовано отримані результати. Дисертантом написано всі розділи дисертації. Узагальнено результати викладеного матеріалу та у співавторстві з науковим керівником сформульовано висновки.

**Апробація результатів дисертації.** Основні результати дослідження доповідалися на 78-й науково-практичній конференції студентів та молодих вчених, присвяченій 75-річчю Кримського державного медичного університету ім. С.І.Георгієвського “Теоретичні та практичні аспекти сучасної медицини” (м. Сімферополь, 2006); регіональній науково-практичній конференції “Актуальні питання імунології, алергології та ендокринології” (м. Чернівці, 2006); XVII з’їзді Українського фізіологічного товариства з міжнародною участю, присвяченому 125-річчю від дня народження академіка О.О.Богомольця (м. Чернівці, 2006); науково-практичній конференції з міжнародною участю “Морфологічний стан тканин і органів у нормі та при моделюванні патологічних процесів” (м. Тернопіль, 2006).

**Публікації.** За матеріалами дисертації опубліковано 10 наукових праць, з них 3 статті у наукових фахових виданнях, рекомендованих ВАК України (2 праці одноосібні), 1 патент України, 6 тез – у матеріалах конференцій, з’їздів, конгресів.

**Структура та обсяг дисертації.** Дисертаційна робота складається з вступу, огляду літератури, опису матеріалу і методів дослідження, 4 розділів власних досліджень, аналізу результатів досліджень, висновків, списку використаних джерел, актів впровадження результатів наукових досліджень. Обсяг основного тексту викладений на 155 сторінках тексту, робота ілюстрована 12 таблицями, 71 рисунками. Список літератури містить 353 джерела, з них 183 – англомовних авторів.

**ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ**

**Матеріал і методи досліджень.** Дослідження виконані на 270 статевозрілих нелінійних білих щурів-самцях, масою тіла 0,20-0,25 кг. Утримували тварин за звичайних умов віварію на стандартному харчовому раціоні з вільним доступом до води та їжі, при температурі приміщення 20-22°С. Усі експерименти проведені в осінній період (період стабільної сезонної активності надниркових залоз).

Вибір статі тварин зумовлений більшою вразливістю нейроендокринної регуляції стрес-реактивності у самців [Анищенко Т.Г. и др., 2001].

Під час досліджень дотримувалися Директиви ЄЕС №609 (1986) та наказу МОЗ України №281 від 01.11.2000р. „Про заходи щодо подальшого вдосконалення організаційних норм роботи з використанням експериментальних тварин”. Досліди проведені відповідно до вимог комісії з білетики Буковинського державного медичного університету (протокол №3 від 16.02.2005).

Нами проведено три серії експериментів: І серія – визначення морфофункціонального стану надниркових залоз при іммобілізаційному стресі на фоні фізіологічної активності ШЗ; ІІ серія – визначення морфологічних та функціональних особливостей будови надниркових залоз в умовах стресу на фоні гіперфункції ШЗ; ІІІ серія - визначення морфофункціонального стану надниркових залоз при стресі на фоні гіпофункції ШЗ.

Тварини кожної з серій досліду розподілені на три експериментальні групи: 1-ша група (контрольна) – інтактні щури, які виводилися з експерименту одночасно з дослідними тваринами для визначення контрольних показників; 2‑га група – щури, яким моделювали гострий іммобілізаційний стрес; 3-ю групу складали тварини, яким за 1 год до стресу уводили епіталон.

З метою з’ясування шляхів корекції стрес-зумовлених морфофункціональних змін надниркових залоз залежно від активності ШЗ застосовано синтетичний аналог пептидних препаратів ШЗ – епіталон (Санкт-Петербург, Росія).

Для встановлення циркадіанних особливостей морфології та функціонування надниркових залоз у кожній з серій експериментів проводили дослідження о 08.00, 14.00, 20.00 та 02.00 год.

Стрес моделювали шляхом фіксування тварин в спеціальних пластикових клітках-пеналах, призначених та пристосованих для іммобілізації щурів упродовж однієї години.

Тварини, яким проводили дослідження на фоні фізіологічної активності ШЗ, знаходились при звичайному режимі освітлення (12.00С:12.00Т). Гіперфункцію ШЗ моделювали шляхом цілодобового утримування тварин в умовах постійної темряви впродовж 7 діб (0С:24.00Т). Цю серію експериментів здійснювали при інфрачервоному світлі, яке не спричиняє активації пінеалоцитів. Гіпофункцію залози викликали утримуванням тварин при постійному освітленні інтенсивністю 1000 люкс протягом 7 діб (24.00С:0Т). Щурам 3-ої групи кожної з експериментальних серій за одну годину до моделювання іммобілізаційного стресу уводили епіталон у дозі 0,5 мкг/100 г маси тварин. Епіталон отриманий для досліджень з Санкт-Петербурзького Інституту геронтології і біорегуляції СЗО РАМН. Тварин виводили з експерименту шляхом декапітації під легким ефірним наркозом.

*Методи вивчення функціональних та морфологічних особливостей надниркових залоз.* Для аналізу та характеристики гістологічних змін надниркових залоз проводили їх морфометрію за допомогою ліцензійної програми, котру використовують для дослідження цифрових зображень „ВидеоТест-Размер 5.0” (ООО ВидеоТест, Росія). Зображення зрізів надниркових залоз із виготовлених мікропрепаратів отримували за допомогою системи, що складається з фотокамери „OLYMPUS C740UZ”, мікроскопа „ЛЮМАМ-Р8”, USB-кабеля та персонального комп’ютера „Celeron 2.4 MHz”.

Для електронно-мікроскопічного дослідження мозкової та кіркової речовин надниркових залоз забір матеріалу проводили згідно з загальноприйнятими правилами [Фомочкина И.И., 2005].

Дослідження вмісту в плазмі крові адреналіну та норадреналіну виконували за допомогою імуноферментного аналізу з використанням набору реагентів „CatCombi ELISA” фірми IBL (Hamburg); каталоговий номер продукту – RE 59242. Даний набір реагентів спеціально призначений для одночасного визначення адреналіну та норадреналіну в плазмі крові.

Рівень кортикостерону в плазмі крові щурів встановлювали за допомогою радіоімунного методу з використанням набору реагентів „Corticosterone RIA (for rats and mice)” фірми IBL (Hamburg); каталоговий номер продукту – RS 49011. Концентрацію гормонів виражали у нмоль/л.

Отримані цифрові дані обробляли методами варіаційної статистики за допомогою пакету програм “Biostat” та “Excel” з використанням для оцінки вірогідності різниць окремих груп даних критерія Стьюдента. За статистично вірогідні вважали зміни при р≤0,05. Числові значення в таблицях та графіках наведені у вигляді середніх величин та їх стандартних похибок.

**Результати дослідження та їх обговорення.** Слід зазначити, що функції надниркових залоз підпорядковані добовій періодизації. Порівняння морфологічних показників з функціональними виявило, що о 08.00 год, коли в плазмі крові визначається акрофаза ритму секреції кортикостерону, в клітинах спостерігаються прояви активного секреторного процесу. І, навпаки, в серіях дослідів, проведених о 20.00 год, коли концентрація гормону в плазмі невисока, клітини характеризувалися морфологічними ознаками посиленого синтезу та накопичення кортикостероїдів. Такі зміни проявлялися збільшенням розмірів клітин, об’ємів мітохондрій і гладенького ендоплазматичного ретикулуму (ЕПР). Концентрація адреналіну та норадреналіну в плазмі крові також змінювалась впродовж доби. Батифаза секреції катехоламінів реєструвалась о 02.00 год, до ранкових годин їх концентрація зростала, досягаючи піку о 14.00 год.

*Циркадіанна характеристика морфофункціонального стану надниркових залоз за різної активності шишкоподібної залози.*

Ультрамікроскопічне дослідження кортикоцитів тварин, які перебували при постійному освітленні показало, що всі клітини полігональної форми з округлим ядром. У кортикоцитах пучкової зони щурів спостерігалося зменшення числа та розмірів секреторних включень, їх межі слабко контуровані. У цитоплазмі виявлялися світлі вакуолі, розширення цистерн агранулярного ЕПР. Комплекс Гольджі складався з трубчастих структур, які частково розширені, що пов’язано з їх участю у проміжних стадіях синтезу кортикостероїдів. Основна частина мітохондрій округлої форми, з осміофільним матриксом. Між мітохондріями помітна значна кількість вільних рибосом.

Постійне освітлення призводить до підвищення рівня концентрації кортикостерону у плазмі крові щурів та зрушення його ритму секреції. Так, якщо в інтакних тварин максимальний вміст кортикостерону у плазмі крові визначався в ранкові години (119,2±5,84 нмоль/л) з поступовим зниженням впродовж доби, то у тварин з гіпофункцією ШЗ цей показник був вищий в усіх групах у 2-5 разів зі зміщенням акрофази та порушенням ритму секреції кортикостерону (рис.1).

Рис. 1.Циркадіанна характеристика вмісту кортикостерону у плазмі крові щурів, яких утримували при постійному освітленні.

У рис 1 та 2–\* – зміни вірогідні порівняно з інтактними тваринами, р<0,05.

У тварин, що перебували при постійному освітленні, реєстрували інверсію ритму секреції з акрофазою у вечірні години. Так, о 20.00 год вміст кортикостерону в плазмі становив 203,0±7,39 нмоль/л, вночі цей показник значно зменшувався і о 02.00 год становив 138,6±5,12 нмоль/л. До 08.00 год ранку вміст гормону знову підвищувався. В інтактних тварин спостерігали повільне та рівномірне зростання вмісту кортикостерону протягом нічного періоду доби до ранкових годин з досягненням його максимуму о 08.00 год, а потім таке ж рівномірне зниження вмісту секреції з батифазою у вечірні години. У дослідних тварин протягом доби спостерігали відмінні від контролю коливання концентрації кортикостерону в плазмі крові. Так, в ранкові години визначався пік концентрації кортикостерону з поступовим спадом до 14.00 год. Увечері рівень гормону в плазмі крові знову зростав до ранкових значень, спадав у нічні години і до 08.00 год знову підвищувався. Таку тенденцію підтримує і різке зниження у дослідних тварин амплітуди ритму секреції кортикостерону. Якщо у тварин, які перебували за фізіологічних умов освітлення, цей показник складав 43,5%, то у щурів, які знаходилися при постійному освітленні, амплітуда ритму секреції знижувалася до 19,2%.

Ультрамікроскопічний аналіз структури мозкової речовини наднирникових залоз дослідних щурів, яким моделювали гіпофункцію ШЗ, показав, що впродовж досліду визначаються типові зміни епінефроцитів. Цитоплазма місцями набуває вакуолізованого вигляду, в ній відмічалися великі, порожні вакуолі, кількість секреторних гранул помітно знижувалася.

Якщо в інтактних тварин серед гранул переважали такі, що заповнені продуктом цитохімічної реакції, тобто синтезованими катехоламінами, то у тварин з гіпофункцією ШЗ спостерігалася тенденція до зниження числа заповнених секретом хромафінних гранул та збільшення кількості напівпорожніх та порожніх гранул.

У тварин, які перебували при постійному освітленні, відмічались ознаки активації САС та посиленого функціонування надниркових залоз, що проявлялося підтриманням підвищеного рівня адреналіну в плазмі крові, показники якого в 1,5 раза вищі, ніж в інтактних тварин і досягали 18,0±0,49 нмоль/л. Водночас порушувався добовий ритм концентрації адреналіну в крові, проте зміни показників не мали вірогідного характеру.

Мезор адреналіну підвищувався з 13,4±0,87 нмоль/л в інтактних тварин до 17,3±0,23 нмоль/л у дослідних, водночас амплітуда його секреції знижувалася. Такі різкі зміни амплітуди секреції зумовлені втратою ШЗ гормонального регуляторного впливу на периферичні компоненти стрес-реалізувальної системи. Як наслідок зміщуються циркадіанні особливості реагування мозкової речовини надниркових залоз на стрес, САС переходить у стан постійного збудження і підвищеного реагування. Тривале посилене функціонування хромафінної тканини призводить до виснаження клітин і виникнення патологічних морфологічних та функціональних змін.

Аналізуючи зміни рівня норадреналіну в плазмі крові тварин, що перебували при постійному освітленні, бачимо аналогічне зростання його концентрації в дослідних проміжках доби. Середньодобовий рівень норадреналіну складав 56,1±0,84 проти 43,2±3,17 нмоль/л у контролі. Амплітуда секреції знижувалася менше від такої в адреналіну – від 21,3 до 4,8%. Більша стійкість циркадіанного ритму концентрації норадреналіну в крові до впливу постійного освітлення можливо зумовлена тим, що надниркові залози не єдине джерело синтезу норадреналіну. Завдяки цьому спрацьовують компенсаторні механізми підтримання фізіологічного рівня цього гормону у плазмі крові.

У тварин з *гіперфункцією ШЗ* циркадіанна динаміка секреції кортикостерону не порушувалася, впродовж денного проміжку доби його концентрація поступово знижувалась і у вечірні години складала 85,8±3,51 нмоль/л. Амплітуда секреції вірогідно не відрізнялася від контролю.

Аналізуючи хромафіноцити тварин даної дослідної групи на ультраструктурному рівні, не виявили вагомих відмінностей їх організації порівняно з контролем.

Рівень катехоламінів у плазмі крові тварин з гіперфункцією ШЗ показав, що циркадіанний ритм та амплітуда секреції залишаються незмінними порівняно з інтактними тваринами. Рівень адреналіну залежно від часового проміжку доби однаковий або дещо нижчий від контролю, проте різниця показників не є статистично вірогідною. Так, акрофаза секреції адреналіну спостерігалась о 14.00 год, коли концентрація в крові становила 15,8±0,79 нмоль/л, у вечірні години його рівень поступово знижувався до 13,0±0,54 нмоль/л. Батифаза секреції не відрізнялася від інтактних тварин і також реєструвалася в нічні години доби, становлячи 11,0±0,51 нмоль/л.

Електронно-мікроскопічними маркерами активації пучкової зони кори надниркових залоз при стресі є характерні зміни ультраструктури клітин та внутрішньоклітинних компонентів (ліпосом, мітохондрій, гладенького ЕПР).

*Вплив стресу на морфологічні та функціональні показники діяльності надниркових залоз за різної довжини фотоперіоду*

Вивчаючи відмінності стрес-зумовлених перебудов кортикоцитів у різні проміжки доби, доведено, що найбільш вагомі ультраструктурні зміни спостерігалися в денні та нічні години. Помірні зміни структур кортикоцитів у ранкові години ймовірно зумовлені тим, що на цей часовий проміжок доби припадає пік концентрації в крові кортикостерону, який підвищує резистентність організму до стресового чинника.

Так, у денних та вечірніх серіях дослідів у фазу тревоги стрес-реакції в клітинах пучкової зони кори надниркових залоз значно зростав вміст везикулярних крист у мітохондріях. Відмічалася тенденція до зростання об’єму мітохондрій та їх поділу. Цитоплазма просвітлена унаслідок наявності вакуолей, кількість ліпідних включень значно менша порівняно з контролем.

Циркадіанний ритм секреції кортикостерону стресованих тварин не відрізнявся від інтактних, акрофаза секреції припадала на ранкові години, батифаза – на вечірні. Показник концентрації в усіх добових проміжках суттєво вищий. Так, о 08.00 год концентрація кортикостерону у плазмі крові складала 198,0±7,44 проти 119,2±9,71 нмоль/л в контролі. У вечірні години у стресованих тварин цей показник зменшувався у два рази і складав 86,7±6,78 нмоль/л.

Амплітуда секреції кортикостерону знижувалася від 43,5% до 36,5%, і хоча цей показник не є статистично вірогідним, він вказує на напружене функціонування кортикоцитів в умовах стресу.

У стресованих тварин спостерігалося різке підвищення концентрації катехоламінів у плазмі крові. Так, концентрація адреналіну в усіх проміжках доби вища від контролю у 2 рази (рис. 2).

Акрофаза секреції, як і в інтактних тварин, помічається о 14.00 год. У цей час рівень адреналіну в плазмі крові складає 27,1±0,71 нмоль/л, що відповідає морфологічній картині хромафіноцитів, оскільки саме в ці години в них виявляється найменше гранул з катехоламінами. При стресуванні тварин о 20.00 год концентрація адреналіну нижча від денних годин, проте ця різниця не є статистично вірогідною. Найменше значення концентрації адреналіну виявлялося о 02.00 год, коли рівень адреналіну в плазмі крові стресованих щурів складав 19,2±0,54 проти 11,1±0,18 нмоль/л в інтактних.

Рис. 2. Вміст адреналіну в плазмі крові щурів при іммобілізаційному стресі у різні проміжки доби.

При вивченні добової стрес-зумовленої динаміки секреції норадреналіну, виявлено підвищений його вміст у плазмі крові дослідних тварин. Якщо рівень адреналіну у дослідних тварин вдвічі вищий від інтактних, то концентрація норадреналіну зростала значно менше – на 20-30%. Найвищим цей показник був у денні години доби і складав 85,2±1,33 нмоль/л. Батифаза реєструвалась у нічні години.

Отже, вивчення електронограм та функціональних показників активності мозкової речовини надниркових залоз показало, що стрес-реакція призводить до посилення функціональної активності хромафіноцитів та різкого викиду катехоламінів у кров. Водночас, стрес не порушує циркадіанні ритми їх секреції, хоч амплітуда ритму відрізняється від інтактних тварин. Так, амплітуда ритму секреції адреналіну інтактних тварин складає 17,5%. У стресованих щурів вона знижується до 14,0%. Амплітуда норадреналіну також низька, але різниця показників не має вірогідного характеру.

Зниження амплітуди ритму є свідченням функціонального виснаження клітин. Тому можна підтвердити, що стрес призводить до активації САС та підвищення рівня катехоламінів у плазмі крові. Вплив гострого стресу на організм призводить до виснаження синтетичної активності хромафіноцитів, порушення мобілізації сил організму на протидію стресу і, як наслідок, дисбалансу гомеостазу та розвитку десинхронозу функцій залоз. Ступінь постстресорних змін залежить від періоду доби. Уночі, коли концентрація мелатоніну у плазмі крові висока, зрушення у функціонуванні надниркових залоз менш виражені.

Моделювання іммобілізаційного стресу тваринам, що перебували *при постійному освітленні*, не викликало істотного підвищення концентрації кортикостерону щодо тварин, яким стрес не моделювали, але також утримували при повному освітленні.

Електронно-мікроскопічне вивчення відповіді мозкової речовини надниркових залоз на стрес-реакцію на фоні гіпофункції ШЗ також підтвердило ознаки функціонального виснаження клітин. У всіх часових проміжках доби в цитоплазмі епінефроцитів практично цілковито відсутні гранули з катехоламінами, що зумовлено як зниженням сумарної кількості синтезованих катехоламінів, так і постійним викидом їх у кров (рис. 3).

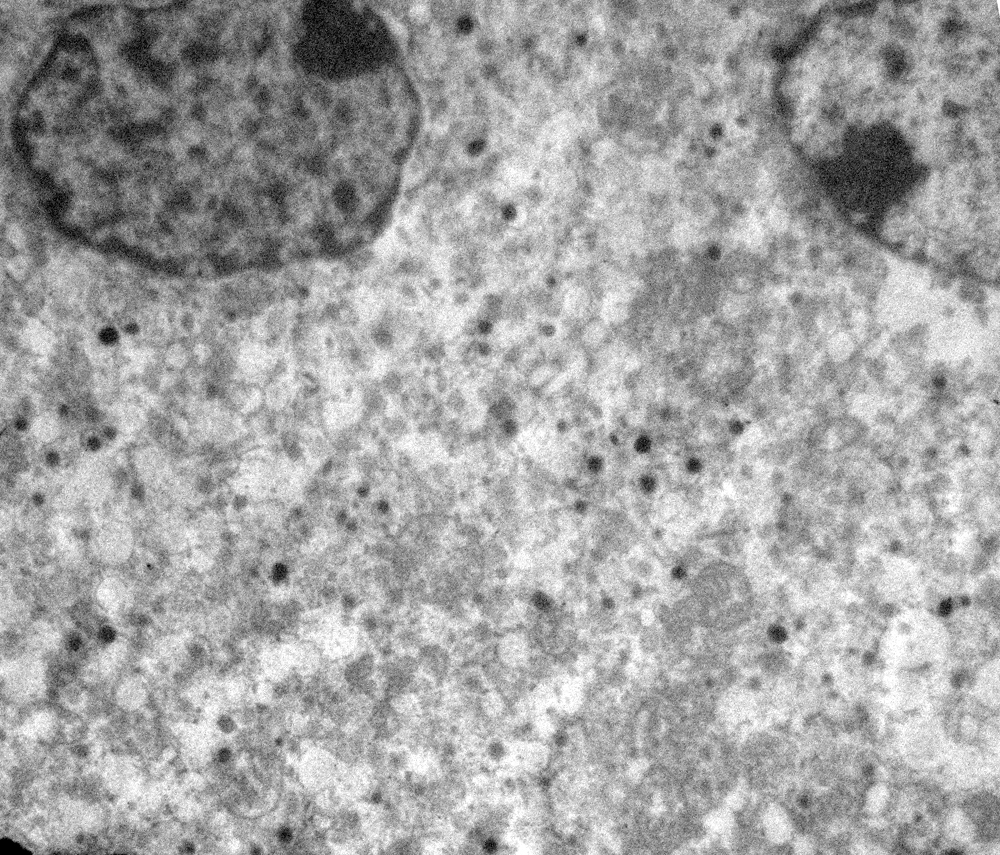


Рис. 3. Ультраструктура епінефроцитів надниркової залози стресованої тварини при гіпофункції шишкоподібної залози о 14.00 год. ×10 000

Незначна кількість секреторних гранул, розкиданих по цитоплазмі; вакуолізація цитоплазми та конденсація гетерохроматину в ядрі.

У каріоплазмі переважає гетерохроматин, який локалізується як примембранно, так і в товщі каріоплазми. Перинуклеарний простір дещо розширений, що свідчить про низьку синтетичну та регулювальну діяльність ядерного апарату клітини в умовах гіпофункції ШЗ у поєднанні з іммобілізаційним стресом.

О 14.00 год рівень адреналіну та норадреналіну близький до такого ж показника стресованих тварин з фізіологічною функцією ШЗ і складав відповідно 28,1±0,76 та 85,6±1,14 нмоль/л. Мезор адреналіну в плазмі крові досліджуваної групи тварин становив 27,8±0,10 нмоль/л, амплітуда ритму секреції різко знижена і дорівнювала 1,0% проти 17,5% в інтактних.

*Гіперфункція ШЗ* та посилена продукція і секреція мелатоніну запобігали порушенню ритміки функціонування кортикоцитів та хромафіноцитів, спричинених стресом. Активність клітин залежала від часового проміжку доби. Концентрація катехоламінів та кортикостерону у плазмі крові стресованих тварин підвищувалася порівняно з контролем, але залишалася дещо нижчою ніж при стресуванні тварин за умов фізіологічної та гіпофункції ШЗ.

*Вплив епіталону на вираженість реакції надниркових залоз на стрес залежно від режиму освітлення.*

Інтенсивність секреції кортикостероїдів у кров тварин, які отримували епіталон, у відповідь на гостру іммобілізацію зростала, рівень кортикостерону в плазмі крові підвищений. Проте показник вірогідно нижчий від такого у тварин, яким не проводили ін’єкцій епіталону (рис. 4).

Рис. 4. Динаміка добової секреції кортикостерону в плазму крові у стресованих тварин на фоні уведення епіталону.

\* – різниця вірогідна порівняно з інтактними тваринами, р<0,05;

\*\* – різниця вірогідна порівняно зі стресованими тваринами, р<0,05.

Вірогідна різниця спостерігалася в усіх проміжках доби, крім 20.00 год, коли як в інтактних, так і дослідних групах тварин реєструвалася батифаза ритму секреції кортикостерону. Добовий ритм секреції не відрізнявся від інтактних тварин.

Якщо у стресованих тварин, які не отримували ін’єкції епіталону, мезор кортикостерону вищий від інтактних тварин у 2 рази (142,7±3,26 проти 78,7±4,00 нмоль/л), то у тварин, яким уводили пептид, мезор на 15% нижчий – 125,3±3,82 нмоль/л.

Аналізуючи ультрамікроскопічну структуру адреноцитів та норадреноцитів, прослідковували протекторний ефект епіталону. Характерними є накопичення рибосом, набряк мітохондрій, чітко виражені диктіосоми комплексу Гольджі.

Іммобілізація тварин з гіпофункцією ШЗ, які попередньо отримували ін’єкції епіталону, не викликала перенапруження та виснаження синтетичних і секреторних механізмів у кортикоцитах, підвищувала адаптаційні процеси в надниркових залозах у відповідь на стресор. О 08.00 год вміст кортикостерону в плазмі крові дослідних тварин складав 152,7±3,89 нмоль/л, у вечірні години концентрація його становила 63,0±2,47 нмоль/л. Ці показники є вищими, ніж в інтактних тварин на 20-35% залежно від періоду доби, проте є вірогідно меншими ніж у тварин, які не отримували ін’єкції епіталону.

Про підвищення резервних та адаптаційних можливостей кортикоцитів пучкової зони кори надниркових залоз свідчить і нормалізація амплітуди ритму. У тварин, яким не уводили пептид, вона знижувалася до 11,9% проти 43,5% – в інтактних. Ін’єкції епіталону тваринам перед іммобілізацією сприяли підвищенню амплітуди ритму до 36,9%.

Досліджуючи показники вмісту катехоламінів у плазмі крові встановлено, що уведення епіталону стресованим тваринам з гіпофункцією ШЗ сприяло зниженню концентрації та відновленню фізіологічного ритму секреції гормонів.

Уведення епіталону на фоні гіпофункції ШЗ призводило до зменшення концентрації адреналіну в плазмі крові на 30%, однак цей показник залишався вірогідно вищим порівняно з інтактними тваринами. Найнижча концентрація адреналіну виявлялася так само, як у інтактних та стресованих тварин з нормальною функцією ШЗ о 02.00 год. У цей проміжок доби вміст адреналіну в плазмі крові склав 17,7±1,25 нмоль/л.

У цитоплазмі кортикоцитів стресованих тварин з гіперфункцією ШЗ, яким уводили епіталон, виявлялися ліпосоми середніх та великих розмірів, з щільноелектронним вмістом, що свідчить про неповне виведення ліпідів з клітин у відповідь на стрес-реакцію. Вони розташовувалися переважно навколо ядра (рис. 5). Ядра мали чітку округу форму, гладеньку поверхню, у деяких місцях виявлявся примембранно розташований гетерохроматин.

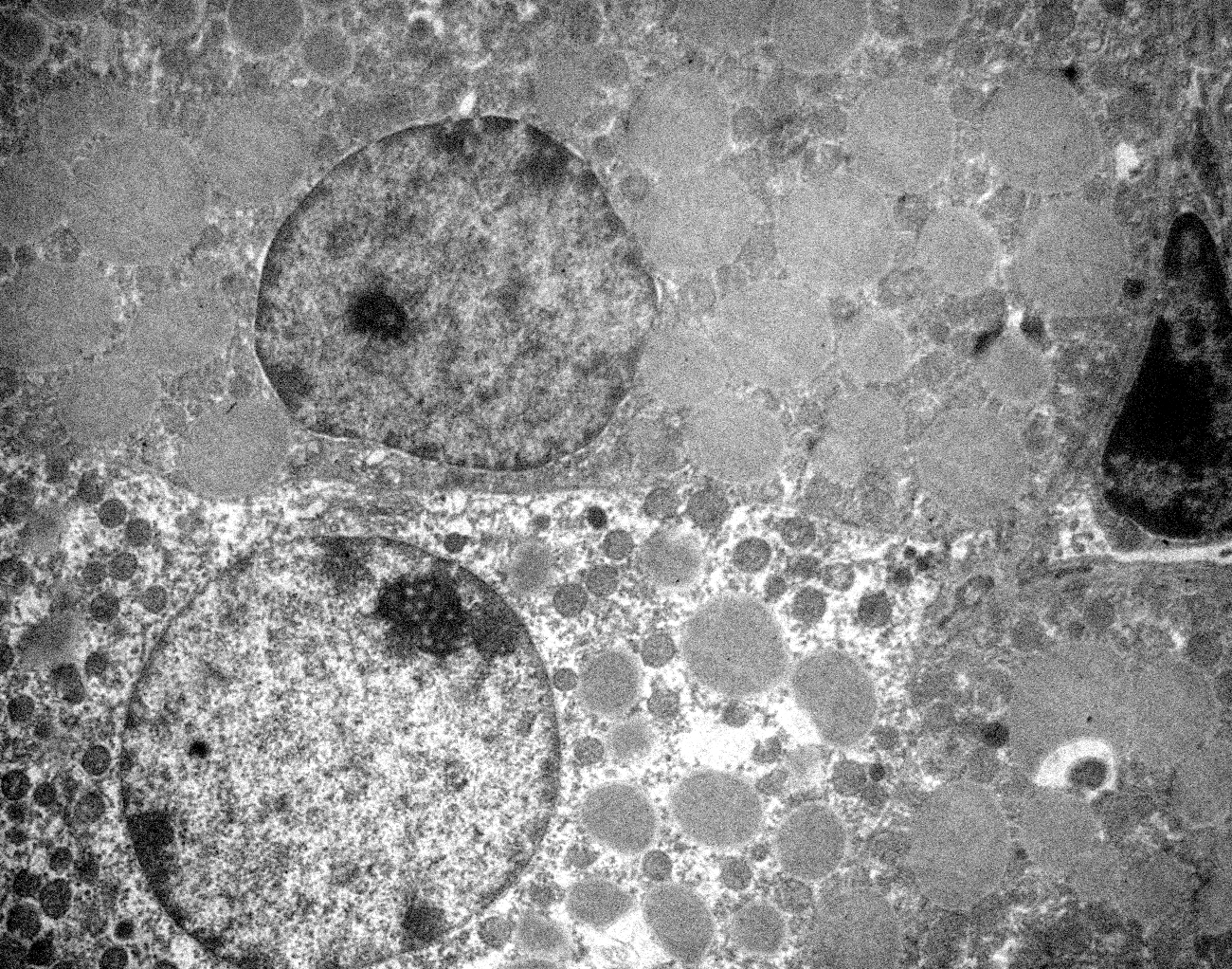


Рис. 5. Ультраструктура кортикоцитів пучкової зони кори надниркової залози стресованого щура о 20.00 год на фоні гіперфункції шишкоподібної залози та уведення епіталону ×7 000.

1 – округлі, функціонально малоактивні ядра;

2 – великих розмірів ліпосоми;

3 – округлі мітохондрії з просвітленим матриксом.

Досліджуючи концентрацію кортикостерону в плазмі крові, виявлено, що уведення епіталону на фоні гіперфункції ШЗ не впливає на рівень секреції гормону в стресованих тварин.

Добовий ритм секреції кортикостерону зберігається, проте його вміст залишається високим і вірогідно не відрізняється від стресованих тварин з гіперфункцією ШЗ, яким епіталон не уводили. Мезор та амплітуда ритму також вірогідно не відрізнялися від таких у тварин, яким не уводили епіталон.

Рівень адреналіну в плазмі крові у тварин з гіперфункцією ШЗ, яким до досліду уводили епіталон, після іммобілізації вірогідно не відрізнявся від інтактної групи. Циркадіанний ритм секреції характеризувався синфазністю щодо інтактних тварин з акрофазою в денні та батифазою в нічні години. Амплітуда ритму при цьому складала 16,6%, вірогідної різниці порівняно з інтактними тваринами не встановлено.

Так, о 02.00 год реєструвалася батифаза ритму секреції норадреналіну, коли його концентрація в плазмі крові становила 50,0±2,52 нмоль/л. У досліджуваний проміжок доби цей показник вірогідно вищий (р<0,05) від стресованих тварин з гіпофункцією ШЗ, які не отримували епіталон. Аналогічні співвідношення показників визначались о 14.00 год, коли реєструвалась акрофаза ритму секреції гормону.

Мезор концентрації норадреналіну складав 53,6±3,42 нмоль/л і вірогідно не відрізнявся від іммобілізованих тварин з гіперфункцією ШЗ, яким не уводили епіталон. Амплітуда ритму знижувалась до 9,4% проти 21,3% – в інтактних та 11,6% – у стресованих тварин без уведення епіталону.

**ВИСНОВКИ**

У дисертаційній роботі наведено теоретичні узагальнення та нове висвітлення наукової проблеми, що полягає в розкритті сутності циркадіанних перебудов структури та функцій надниркових залоз на фоні різного функціонального стану шишкоподібної залози. Встановлено особливості впливу іммобілізаційного стресу на реактивність надниркових залоз залежно від довжини фотоперіоду. З’ясовано стрес-протективний та ритморегулю-вальний ефекти препарату епіталону.

1. Ультраструктурній організації хромафіноцитів та кортикоцитів властиві циркадіанні перебудови. Між концентрацією катехоламінів і кортикостероїдів у плазмі крові та морфологічною організацією клітин надниркових залоз впродовж доби існує кореляційний зв’язок. Акрофаза секреції катехоламінів відмічалася у денні години доби, батифаза – о 02.00 год, коли рівень адреналіну становив 11,10±0,2 нмоль/л, норадреналіну – 33,80±1,1 нмоль/л.

2. Зміна світлового режиму (постійне освітлення, постійна темрява) порушують інтегральні показники циркадіанних ритмів надниркових залоз. За умов гіпофункції шишкоподібної залози розвивається десинхроноз добової активності надниркових залоз, що свідчить про істотний вплив шишкоподібної залози на їх діяльність.

3. Моделювання іммобілізаційного стресу супроводжується характерною активацією кори надниркових залоз та симпато-адреналової системи і призводить до підвищення вмісту в плазмі крові адреналіну до 27,1±0,71 нмоль/л, норадреналіну – до 85,2±1,33 нмоль/л, кортикостерону – 198,0±7,44 нмоль/л. Амплітуда ритмів секреції гормонів знижується. Прояв реакції надниркових залоз на стрес залежить від часового проміжку доби, в якому тварин піддавали іммобілізації.

4. Іммобілізація тварин на тлі гіпофункції шишкоподібної залози посилює викид катехоламінів та кортикостерону у плазму крові з розвитком десинхронозу та порушенням добового ритму секреції гормонів. Рівень кортикостерону складав 171,1±15,70 нмоль/л у ранкові години та 184,3±16,41 нмоль/л – у вечірні. Дія іммобілізаційного стресу на тварин з гіперфункцію шишкоподібної залози зумовлювала підвищення рівня кортикостерону у плазмі крові на 30%, амплітуда секреції катехоламінів вірогідно не знижувалась.

5. Уведення тваринам епіталону в дозі 0,5 мкг/тварину/добу впродовж трьох діб сприяло підвищенню стійкості тварин до дії стресового чинника, що виявлялося незначною активацією гіпоталамо-гіпофізарно-наднирникової та симпато-адреналової систем у відповідь на іммобілізацію. У тварин з гіпофункцією шишкоподібної залози епіталон відновлював білядобову ритмічну діяльність хромафіноцитів та кортикоцитів, підвищував їх стійкість до стресу.

6. Ін’єкції епіталону стресованим тваринам на тлі гіперфункції шишкоподібної залози не викликали вірогідних змін ультраструктури клітин надниркових залоз та показників вмісту катехоламінів у плазмі крові.

**СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ НАУКОВИХ ПРАЦЬ**

**ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ**

1. Пішак В.П., Гуралюк В.М. Вплив стресу на морфологічну організацію наднирникових залоз у різні періоди доби // Буковинський медичний вісник. – 2005. – Т.9, №3. – С.135-137. Дисертант самостійно провів статистичну обробку одержаних результатів дослідження, сформулював висновки.

2. Гуралюк В.М. Вплив фотоперіоду на циркадіанні ритми секреції кортикостерону в стресованих щурів // Буковинський медичний вісник. – 2006. – Т.10, №4. – С. 38-41.

3. Гуралюк В.М. Ультраструктурні та функціональні перебудови адренокортикоцитів надниркових залоз за гіпофункції шишкоподібної залози // Клінічна та експериментальна патологія. – 2007. – Т.6, №1. – С. 34-37.

4. Пат. 23176 UA, МПК А61К31/00. Спосіб антиоксидантної дії епіталону при стресі лабораторних тварин: Пат. 23176 UA, МПК А61К31/00 Пішак В.П., Гуралюк В.М., Висоцька В.Г., Булик Р.Є., Магаляс В.М. – №u200613568; Заявл. 21.12.2006; Опубл. 10.05.2007. – 4 с. Дисертант самостійно здійснив огляд літератури та експериментальну частину досліджень.

5. Гуралюк В.М. Циркадіанна морфологічна характеристика надниркових залоз за умов іммобілізаційного стресу // Матеріали ІІ міжнародної медико-фармацевтичної конференції студентів та молодих вчених: Чернівці, 21-23 лютого, 2005р. - Хист. – 2005. ­– №7. – С.89.

6. Гуралюк В.М. Добові ритми концентрації адреналіну у плазмі крові білих щурів при дії іммобілізаційного стресу // Матеріали XVII з’їзду Українського фізіологічного товариства присвяченого 125-річчю з дня народження академіка О.О.Богомольця. Чернівці, 18-20 травня 2006 р. – Фізіологічний журнал. – 2006. – Т.52, №2. – С.121-122.

7. Гуралюк В.М. Вплив шишкоподібної залози на вміст катехоламінів у плазмі крові // Матеріали 78-ої науково-практичної конференції студентів і молодих вчених, присвяченої 75-річчю Кримського державного медичного університету ім. С.І.Георгієвського. Симферопіль, 20 квітня 2006 р. – Симферополь, 2006. – С.80.

8. Гуралюк В.М. Добові ритми секреції кортикостерону у щурів // Актуальні питання імунології, алергології та ендокринології: матеріали регіональної науково-практичної конференції. Чернівці, 10-11 травня 2006 р. – Чернівці, 2006. – С.8-9.

9. Гуралюк В.М. Морфологічні зміни в корі надниркових залоз щурів при іммобілізаційному стресі // Морфологічний стан тканин і органів у нормі та при моделюванні патологічних процесів: матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю. Тернопіль, 30-31 травня 2006 р. – Тернопіль, 2006. – С. 39-40.

10. Гуралюк В.М. Циркадіанні зміни ультраструктури кортикоцитів пучкової зони кори надниркових залоз за умов постійної темряви // Патологоанатомічна діагностика хвороб людини: здобутки, проблеми, перспективи: матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції, присвяченої 100-річчю з дня народження професора Н.М.Шинкермана. Чернівці, 21-22 травня 2007 р. – Чернівці: Медуніверситет, 2007. – С. 81-83.

**АНОТАЦІЯ**

**Гуралюк В.М.** Стрес-індуковані морфофункціональні зміни надниркових залоз за різної довжини фотоперіоду (експериментальне дослідження) – Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.04 – патологічна фізіологія. – Одеський державний медичний університет МОЗ України. – Одеса, 2008.

У дисертації вивчено добові морфофункціональні перебудови надниркових залоз у нормі та при дії іммобілізаційного стресу за умов фізіологічної, гіпер- та гіпофункції шишкоподібної залози.

Встановлено, що наднирковим залозам властиві циркадіанні ритми секреції катехоламінів у плазму крові з акрофазою о 14.00 год та батифазою о 02.00 год. Акрофаза секреції кортикостерону реєструвалась о 08.00 год, батифаза – о 20.00 год.

З’ясовано, що стрес-індуковані морфофункціональні перебудови надниркових залоз менш виражені у тварин, яким моделювали гіперфункцію шишкоподібної залози. У стресованих тварин на фоні гіпофункції шишкоподібної залози спостерігалося порушення функцій надниркових залоз та виникнення їх морфологічних змін.

Виявлено, що введення тваринам з нормо- та гіпофункцією шишкоподібної залози перед стресом епіталону призводить до нормалізації добових ритмів функціональної активності надниркових залоз, знижує рівень катехоламінів та кортикостерону у плазмі крові, запобігає виникненню в органелах кортикоцитів та хромафіноцитів деструкції і руйнації та не допускає явищ десинхронозу.

***Ключові слова:*** стрес, надниркові залози, катехоламіни, кортикостерон.

**АННОТАЦИЯ**

**Гуралюк В.Н.** Стресс-индуцированные морфофункциональные изменения надпочечных желез при различной длительности фотопериода. (экспериментальное исследование) – Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.04. – патологическая физиология. – Одесский государственный медицинский университет МЗ Украины. – Одесса, 2008.

Диссертация посвящается изучению суточных ритмов функциональной активности надпочечных желез в норме и при воздействии на организм иммобилизационного стресса в зависимости от активности шишковидной железы. Выявлено, что суточные изменения концентрации в плазме крови адреналина и норадреналина характеризуются четким циркадианным ритмом секреции с акрофазой в 14.00 часов и батифазой в 02.00. Пик активности глюкокортикоидной функции надпочечных желез регистрировался в 08.00 часов утра, что сопровождалось соответственной активацией секреторных процессов в кортикоцитах.

Установлено, что при гипофункции шишковидной железы развивается десинхроноз суточной активности надпочечных желез, что указывает на значительное влияние шишковидной железы на их деятельность.

Моделирование иммобилизационного стресса сопровождается характерной активацией коры надпочечных желез и симпато-адреналовой системы и ведет к повышению содержания в плазме крови адреналина до 27,1±0,71 нмоль/л, норадреналина – до 85,2±1,33 нмоль/л и кортикостерона на 40%. Амплитуда ритмов секреции гормонов снижается.

Иммобилизация животных на фоне гипофункци шишковидной железы усиливает выброс катехоламинов и кортикостерона в плазму крови с развитием десинхроноза и нарушением суточного ритма секреции гормонов. Уровень кортикостерона составлял 171,1±15,70 нмоль/л в утренние часы и 184,3±16,41 нмоль/л – в вечерние. Влияние иммобилизационного стресса на животных с гиперфункцией шишковидной железы обуславливало повышение уровня кортикостерона в плазме крови на 30%, амплитуда секреции катехоламинов вероятно не снижалась.

Установлено, что введение животным пептида эпиталона в дозе 0,5 мкг/животное/сутки на протяжении трёх суток до опыта повышало стойкость животных к стрессу, что проявлялось активацией гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой и симпато-адреналовой систем в ответ на иммобилизацию. У животных с гипофункцией шишковидной железы эпиталон восстанавливал суточную ритмическую деятельность хромаффиноцитов и кортикоцитов, повышал их стойкость к стрессу, предупреждая возникновение в органеллах клеток декомпенсаторных и деструктивных изменений.

***Ключевые слова:*** стресс, надпочечные железы, катехоламины, кортикостерон.

**SUMMARY**

**V.M.Guralyuk.** Stress-induced morphofunctional changes of suprarenal glands at different length of photoperiod (experimental research). – Manuscript.

The thesis to obtain a scientific degree of сandidate of Medical Science on specialty 14.03.04 – pathological physiology. – Odessa State Medical University, the Ministry of Public Health of Ukraine. – Odessa, 2008.

The thesis is devoted to the research of the daily morphofunctional changes of suprarenal glands in norm and at immobilizing stress action at physiological, hyper- and hypofunction of the pineal gland.

It has been established, that suprarenal glands are said to have circadian rhythms of catecholamine’s secretion in blood plasma with acrophase at 14.00 and batiphase at 02.00. The acrophase of corticosterone secretion was registered at 08.00, batiphase – at 20.00.

It has been investigated, that stress-induced morphofunctional changes of suprarenal glands are expressed less in those animals, which had are pineal gland hyperfunction. In stressed animals on the background of pineal gland hypofunction the changes of suprarenal glands functions were found as well as decompensated morphological changes.

It was proved, that epithalon introduction before stress in animals with phisiologycal and hypofunction of the pineal gland caused normalization of daily rhythms of suprarenal glands functional activity, decreased the rate of catecholamine’s and corticosterone in blood plasma, prevented the fact of the destruction and demolition in organelles of corticocytes and chromaphinocytes and averted the formation of desynchronosis.

***Key words:*** stress, suprarenal glands, catecholamines, corticosterone.

# Для заказа доставки данной работы воспользуйтесь поиском на сайте по ссылке: <http://www.mydisser.com/search.html>