

СТАН ГІПОФІЗАРНО-НАДНИРКОВОЇ ТА РЕПРОДУКТИВНОЇ СИСТЕМИ СТАТЕВОЗРІЛИХ ЩУРІВ В УМОВАХ РЕАДАПТАЦІЇ ПІСЛЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ПОЗАКЛІТИННОЇ ДЕГІДРАТАЦІЇ

*К. б. н., доц. Гринцова Н. Б.,
д. м. н., проф. Романюк А. М.,
к. м. н., доц. Карпенко Л.І.,
к. м. н., доц. Будко Г.Ю.,
студ. Петренко Н.В. ,
студ. Галіч Р.А.*

*Сумський державний університет, медичний інститут, кафедра патологічної анатомії,
Україна, 40022, м. Суми, вул. Привокзальна, 31*

Abstract. *To study the functional state of the pituitary-adrenal and reproductive system of mature rats in terms of reparative changes after experimental extracellular dehydration experiment was conducted on 12 white mature male rats weighing 250-300g, aged 7-8 months. Applied anatomical, statistics, and general clinical research methods. Established that violations of water-salt balance of the body has on the body of laboratory animals negative impact. The level of cortisol in the body of the animals increased by 56.4% ($p < 0.001$), total testosterone by 12% ($p > 0.05$), free - at 41.1% ($p < 0.05$) compared to intact animals. ACTH concentrations decreased in 8.9 times ($p < 0.001$) compared to those of intact animals, indicating a negative feedback between the level of cortisol in the blood and the level of secretion of ACTH by the pituitary gland. Experimental rats are in a state of general adaptation syndrome, the stage of resistance to the damaging agent is for the body as a whole stress factor. Activation beam endocrine system and adrenal cortex simennykiv rat Leydig cells in the body explains the development of compensatory-adaptive processes in response to violations of water-salt metabolism. Thus, the level of sex hormone dehydroepiandrosterone sulfate (DHS), which is synthesized endocrinocytes sitchatoyi zone of the adrenal cortex, remains virtually unchanged and was indexes $< 0, 407 \text{ umol} / \text{L}$. Restorative processes of reparative regeneration operating body of experimental animals for 15 days is not sufficient for a complete normalization of homeostasis. This is indicated drunk experimental animals, which decreased by 14.3% ($p < 0.001$) in respect of indices of control animals.*

Keywords: *pituitary gland, adrenal glands, extracellular dehydration, cortisol, testosterone, homeostasis.*

Вступ. Водно - електролітний обмін - сукупність процесів всмоктування, розподілу, споживання і виділення води в організмі тварин і людини. Він забезпечує підтримку водного балансу і сталість осмотичного тиску, іонного складу і кислотно - лужного балансу організму. Вміст води в організмі дорослої людини становить у середньому 60% від маси тіла. В організмі вода перерозподілена між внутрішньоклітинним і позаклітинним секторами. Позаклітинна вода (екстрацелюлярна рідина, 20-24% маси тіла людини) включає рідину, що знаходиться в інтерстиціальному руслі (міжклітинний простір), інтраваскулярну рідину (плазма крові) і трансцелюлярну рідину (цереброспинальна, плевральна, первинна сеча, шлунковий і кишковий соки і т.д.). Функції системи регуляції водного обміну тісно пов'язані з системами контролю сольового обміну і осмотичного тиску[8,10,12]. Водно-сольовий баланс характеризується надзвичайною сталістю, так як існує ряд регуляторних механізмів його підтримання. Збереження водного балансу забезпечується, в основному, видільною функцією нирок, в регуляції якої першочергове значення мають гормони ендокринної системи: антидіуретичний гормон гіпофіза (АДГ), ренін-ангіотензин-альдостеронова система,

передсердний натрійуретичний фактор, простогландини, катехоламіни, глюкокортикоїди та інш. Сенс цих механізмів полягає в тому, щоб утримати в організмі натрій і воду [9].

У клінічній практиці екстремальних станів організму особливо в реанімації і ургентній хірургії, особливе значення мають знання про порушення водно - електролітного обміну внутрішнього середовища організму. У зв'язку з тим, що розлади водно - електролітного обміну є типовими порушеннями при цілому ряді хвороб і патологічних станів, мають місце при впливі на організм самих різних патологічних чинників, розгляд патогенезу цих розладів має особливе значення для клініки. [2,8,10]. Позаклітинна дегідратація розвивається при одночасній втраті води і електролітів в еквівалентних кількостях: 1) через шлунково-кишковий тракт (блювота, рясний пронос) 2) через нирки (зменшення вироблення альдостерону, призначення натрій-вивідних сечогінних препаратів і ін.) 3) через шкіру (масивні опіки, підвищене виділення піту) 4) при крововтраті та інших порушеннях. При перерахованій патології, в першу чергу, втрачається позаклітинна рідина, розвивається позаклітинна дегідратація[10].

Незаперечним можна вважати той факт, що порушення водно-сольового балансу в організмі піддослідних тварин викликають стрес – реакцію - неспецифічну відповідь цілого організму на фактори зовнішнього чи внутрішнього середовища, що порушують гомеостаз. Формується адаптаційний синдром, як сукупність захисних реакцій організму при стресі [13]. Гіпофізарно-наднирниковий ендокринний комплекс відіграє важливу роль в регуляції гомеостазу, адже кортизол є одним з основних регуляторів метаболізму, виступає в якості клітинного та органного біорегулятора [4,6,]. У ряді літературних джерел, показано, що фізіологічною основою формування адаптаційного синдрому є базальний рівень кортикостероїдів, що являє собою результат нормального функціонування гіпоталамо-гіпофізарно-надниркової системи[13,15].

Із літературних джерел відомо про вплив на ендокринний апарат щурів зокрема, гіпофіз[3,14], наднирники[6,] та сімєники[5,11,16] комбінацій сполук важких металів та радіаційного опромінення, гіпергідратації. Дані літератури про функціональний стан гіпофізарно-надниркової та репродуктивної системи щурів в умовах репаративних змін після експериментальної позаклітинної дегідратації авторам невідомі.

Мета дослідження. Визначення функціонального стану гіпофізарно- надниркової та репродуктивної системи, масометричних показників статевозрілих щурів в умовах репаративних змін після експериментальної позаклітинної дегідратації.

Матеріал та методи дослідження. Експеримент проведений на 12 білих статевозрілих щурах-самцях масою 250-300г, віком 7-8 місяців, що були розподілені на 2 групи (контрольну та експериментальну). Щурі контрольної групи утримувалися в звичайних умовах віварію, отримували звичайну питну воду та їжу. Тваринам експериментальної групи протягом 30 днів моделювалась легка ступінь позаклітинного зневоднення. Щурі отримували як питний раціон -- 0,0001% розчин фуросеміда на бідистильованій воді, а у вигляді корму – виварену рослинну їжу (безсольова дієта) [1]. По досягненню відповідного ступеня позаклітинного зневоднення, з метою дослідження адаптивних змін, тварин експериментальної групи на протязі 15 днів утримували на звичайному питному раціоні та їжі у вигляді гранульованого комбікорма. Групи піддослідних тварин виводилися з експерименту шляхом декапітації під ефірним наркозом на 45-ту добу від початку експерименту, у відповідності до положень «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах» (Київ, 2001р.), які узгоджені з Європейською конвенцією про захист експериментальних тварин (Страсбург, 1986) та Директиви Ради Європи 86/609/ЕЕС (1986). Перед виведенням з експерименту тварин контрольної та експериментальної груп зважували на настільних вагах типу РН-10ц УЗ, маса обчислювалась в грамах.

Функціональний стан гіпофіза, кори надниркових залоз та репродуктивної системи оцінювали шляхом визначення у сироватці периферійної крові дослідних тварин (методом ІФА та автоматичного імунохемолюмінесцентного аналізу) наступних гормонів: вільного тестостерону, адренкортикотропного гормону (АКТГ), кортизолу (COR), дегідроепіандростерону сульфату (DHS) та загального тестостерону (TES). Рівень АКТГ, COR, DHS та TES визначався з використанням наборів реагентів фірми Siemens (серії 0231- для DHS, серії 0258 – для АКТГ, серії 0434-для TES та 0401- для COR) на автоматичному імунохемолюмінесцентному аналізаторі Immulite 1000 Siemens Healthare Global.[4,7]. Кількісне визначення концентрації вільного TES проводилося з використанням набору

реагентів фірми «DRG», Німеччина, серія 4078, дата граничного використання 28.02.2017. Забір крові у щурів проводили шляхом пункції хвостової вени безпосередньо перед декапітацією, в ранковий час, з 6 до 8 годин. Кров забирали в пробірки, центрифугували 20 хв при +4 °С (1000 g), після чого здійснювали відбір сироватки. Всі зразки були проаналізовані в двох повторах. Концентрацію АКТГ та вільного ТЕС виражали в пг/мл сироватки, кортизолу та загального ТЕС – в нмоль/л сироватки, DHS – в умоль/л сироватки.

Статистична обробка даних здійснювалася у пакеті програм “Statistica 8.0”, з використанням критерію Стьюдента-Фішера. Значущими вважали відмінності при $p \leq 0,05$.

Результати дослідження та їх обговорення В результаті проведених досліджень функціонального стану гіпофіза, кори надниркових залоз та репродуктивної системи щурів в умовах репаративних змін після легкого ступеня позаклітинного зневоднення встановлено наступне: концентрація АКТГ в сироватці крові інтактних щурів становила $571,5 \pm 4,16$ пг/мл, а концентрація кортизолу – $56,45 \pm 2,88$ нмоль/л. В результаті дії позаклітинного зневоднення на організм піддослідних тварин рівень кортизолу збільшився на 56,4% ($p < 0,001$), а концентрація АКТГ – знизилася в 8,9 разів ($p < 0,001$) у порівнянні з показниками інтактних тварин. Цей факт вказує на негативний зворотний зв'язок між рівнем кортизолу в крові і рівнем секреції АКТГ гіпофізом (Таблиця №1). Дослідження репродуктивної панелі щурів-самців базувалося на аналізі функціональної активності ендокриноцитів сітчастої зони кори наднирників (DHS) та клітин Лейдіга сіменників (загального та вільного ТЕС).

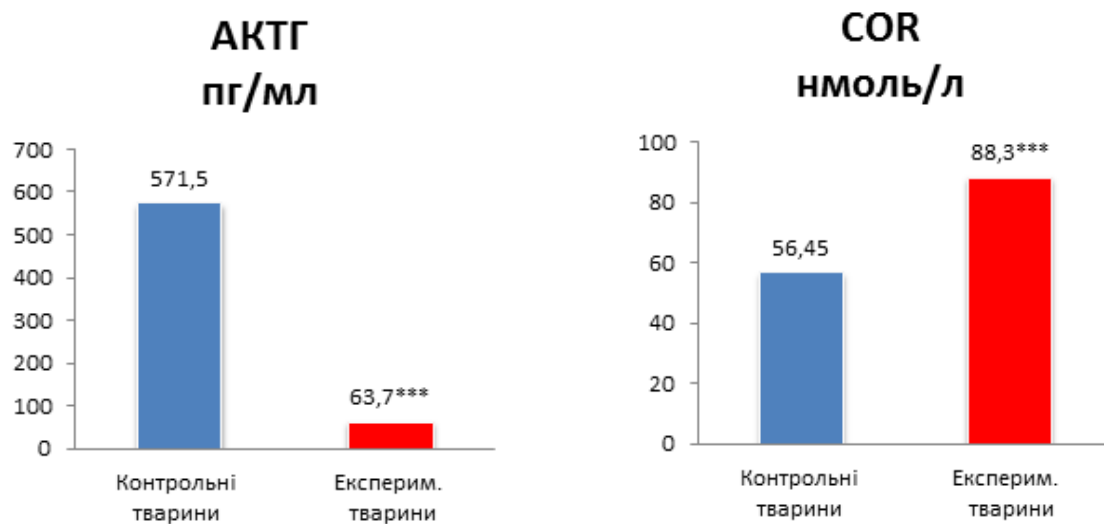


Рис. 1. Вміст АКТГ та кортизола у плазмі крові експериментальних та контрольних тварин

При цьому, в сироватці крові піддослідних та інтактних щурів рівень статевого гормону дегідроепіандростерона сульфату (DHS), що є неактивною формою основного попередника андрогена (ДГЕА), залишався практично незмінним і мав показники $< 0,407$ умоль/л. Однак, показник оптичної щільності DHS у піддослідних тварин на 1,3% більший ($p > 0,05$), ніж у інтактних. Рівень загального тестостерона в сироватці крові інтактних щурів становив $5,69 \pm 5,01$ нмоль/л, а у сироватці піддослідних тварин -- $6,38 \pm 3,06$ нмоль/л, що на 12% більше ($p > 0,05$). Показник вільного тестостерона у експериментальних тварин склав $11,73 \pm 1,42$, що на 41,1% більше, ніж у інтактних ($p < 0,05$) (Таблиця №1). З метою порівняльного аналізу проведено вивчення масометричних показників загальної ваги інтактних та експериментальних щурів. Встановлено, що масометричні показники загальної ваги інтактних щурів у віці 7-8 місяців складають $280,0 \pm 2,04$ г. Масометричні показники загальної ваги експериментальних щурів складають $240,1 \pm 1,06$ г, що на 14,3 % менше за показники контрольних тварин ($p < 0,001$).

Таблиця 1. Результати визначення гормонів у сироватці крові експериментальних та контрольних тварин ($M \pm m$), $n=6$

Досліджувальні групи тварин	Вміст гормонів у сироватці крові				
	АКТГ пг/мл	COR нмоль/л	DHS умоль/л	Загальний TES нмоль/л	Вільний TES пг/мл
Контрольні тварини	571,5 \pm 4,16	56,45 \pm 2,88	< 0, 407	5,69 \pm 5, 01	8,31 \pm 0,35
Експерим. тварини	63,7 \pm 2,12***	88,3 \pm 1,35***	< 0, 407	6,38 \pm 3,06	11,73 \pm 1,42*

Примітка : різниця між показниками контролю та експеримента * $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$.

Заключення. Порушення водно-сольового балансу організму (змодельованого позаклітинного зневоднення легкої ступені) чинить на організм піддослідних тварин негативний вплив. Зважаючи на збільшений рівень кортизолу в організмі піддослідних тварин (на 56,4% ($p < 0,001$)), а також збільшення рівня загального тестостерона на 12% ($p > 0,05$) і вільного -- на 41,1% ($p < 0,05$) у порівнянні з показниками інтактних тварин можливо стверджувати наступне: експериментальні щурі знаходяться у стані розвитку загального адаптаційного синдрому, стадії резистентності до дії пошкоджуючого агента, що є для організму в цілому стресовим фактором. Активація ендокринного апарату пучкової зони кори наднирників та клітин Лейдига сіменників щурів пояснюється розвитком в організмі компенсаторно-приспосувальних процесів у відповідь на порушення водно-сольового обміну, що корелює з дослідженнями ряду авторів [5,11,16]. При цьому, рівень статевому гормону дегідроепіандростерона сульфату (DHS), що синтезується ендокриноцитами сітчастої зони кори наднирників, залишається практично незмінним і мав показники < 0, 407 умоль/л.

Процеси репаративної регенерації, що діють в організмі експериментальних тварин на протязі 15 діб, є недостатніми для повної нормалізації гомеостазу. На це вказує дефіцит маси піддослідних тварин, яка зменшується на 14,3% ($p < 0,001$) стосовно показників контрольних тварин.

Висновок. За умов 15 добової реадaptaції після позаклітинної дегідратації легкого ступеня гормональний статус піддослідних тварин характеризується ознаками нестабільності, що пояснюється розвитком в організмі компенсаторно-приспосувальних процесів у відповідь на порушення водно-сольового балансу.

Перспективи подальших досліджень передбачають вивчення морфологічних змін в органах ендокринної системи за досліджуваних умов.

ЛІТЕРАТУРА

1. Бумейстер В.І., Лагоша А.І «Корекція морфологічних змін регенерату довгих кісток тварин за умов зневоднення організму», «Вісник проблем біології і медицини», 2013, №2(100) – с.с.245-249.
2. Огієнко М.Н., Бумейстер В.І. «Стимуляція репаративного остеогенезу великогомілкової кістки молодих щурів за умов загального зневоднення», «Журнал клінічних та експериментальних медичних досліджень», 2014, №2(1) – с.с.30-38.
3. Каваре В.И. Ультраструктурные преобразования аденогипофиза в условиях неблагоприятных экологических факторов / В.И. Каваре // VIII Підсумкова науково-практична конференція мед. факультету СумДУ. – Суми, 2000. – С. 36-37.
4. «Клінічна лабораторна діагностика» за ред. проф. Б.Д.Луцика, Київ, «Медицина», 2011 – с.с. 169-177.
5. Кривецький В. В., Москаленко Р. А., Карпенко Л. І., Закорко І-М. С. « Особливості морфо функціонального дослідження ендокринного компоненту сім'яників в умовах експерименту», «Журнал клінічних та експериментальних медичних досліджень», 2013, Том 1, №2 – с.с.149-153.

6. Кіптенко Л.І. «Морфофункціональні зміни в корі наднирникових залоз тварин за дії іонізуючого опромінення і солей важких металів», автореферат дис. на здобуття наук. ступ. канд. біолог. наук «03.00.01-радіобіологія», Київ, 2002 – с.с.1-10.
7. Медведєв В.В., Волчек Ю.З. «Клиническая лабораторная діагностика», «Гиппократ», 2006 – с.с. 262-276.
8. «Патофізіологія», за ред. проф. М.Н.Зайка, проф. Ю.В.Биця, Київ, «Медицина», 2008 – с.с. 8-17.
9. «Патофизиология», под. ред. А.И.Воложина, Г.В.Порядина, Москва, «Академия», 2006, том 2– с.с. 52-58.
10. Попутников Д.М., Меленчук Е.В., Висмонт Ф.И. «Нарушения водно-электролитного обмена (патофизиологические аспекты)», учебно-методическое пособие, Минск, БГМУ, 2011 – с.с. 8-17.
11. Романюк А.М., Москаленко Ю.В. «Морфологічні особливості становлення ендокринного компонента сім'яників щурів у ранньому постнатальному онтогенезі в умовах впливу сполук важких металів», «Журнал клінічних та експериментальних медичних досліджень», 2014, №2(2) – с.с.224-236.
12. Слісаренко О.В. «Структурні зміни кісткового регенерату за умов клітинного зневоднення організму», «Журнал клінічних та експериментальних медичних досліджень», 2013, Том 1, №2 – с.с.163-168.
13. Фалалєєва Т.М., Вірченко О.В., Янковський Д.С., Берегова Т.В. «Корекція стрес-індукованих порушень гіпоталамо-гіпофізарно-наднирникової системи мультипробіотиком «Симбітер», «Світ медицини та біології», 2012, №1 – с.с.174 – 179.
14. Фомина К.А. Динамика массы тела, массы мозга половозрелых крыс и органомерических показателей гипофиза после двухмесячного воздействия тиотриазолина / К.А. Фомина, В.В. Сикора // Вісник СумДУ. Серія Медицина.- 2009.- №2. - С. 34 - 39.
15. Чеснокова Н.П., Моррисон В.В., Бриль Г.Е. «Общая патология», изд. Саратовского медицинского университета, 2002 – с.с.79-82.
16. Romanyuk A.M., Saulyak S.V, Moskalenko R.A, Moskalenko Yu.V. [Spermatogenic function under the influence of heavy metals salts and correction of preparation Tivortin®]. Lik. sprava. 2012;1 – 2:123 – 128.