

УДК 599.323.4.045-114.76

ББК Е623.362.423.2\*697.3-652.28

О.Ю. КОСТРОВА, И.С. СТОМЕНСКАЯ, Л.М. МЕРКУЛОВА,  
Г.Ю. СТРУЧКО, А.А. КОТЁЛКИНА, М.Н. МИХАЙЛОВА

### РЕАКЦИЯ БИОГЕННЫХ АМИНОВ НАДПОЧЕЧНИКОВ КРЫС-САМОК НА ВОЗДЕЙСТВИЕ ВОДНОИММОБИЛИЗАЦИОННОГО СТРЕССА

**Ключевые слова:** надпочечники, крысы, стресс, гистамин, серотонин, катехоламины, люминесцирующие гранулярные клетки.

С помощью люминесцентно-гистохимических методов исследованы надпочечники 30 крыс-самок. Животные были разделены на две группы: контрольные крысы и крысы, которых подвергали водноиммобилизационному стрессу продолжительностью один час ежедневно в течение 10 дней. Выведение животных из эксперимента проводилось через 30, 60 и 90 дней после окончания воздействия. Установлено, что воздействие водноиммобилизационного стресса изменяет уровень биогенных аминов в надпочечниках, массу органа, соотношение (СТ+ГСТ)/КА и количество люминесцирующих гранулярных клеток. Все эти изменения носят волнообразный характер и зависят от срока исследования. Вероятно, что стадия тревоги возникла у крыс через 30 дней после окончания воздействия. Через 60 дней наступает стадия истощения. На 90-е сутки у крыс формируется стадия восстановления.

O. KOSTROVA, I. STOMENSKAYA, L. MERKULOVA,  
G. STRUCHKO, A. KOTELKINA, M. MIKHAILOVA

### RESPONSE OF ADRENAL BIOGENIC AMINES IN FEMALE RATS TO WATER-IMMOBILIZATION STRESS

**Key words:** adrenal glands, rats, stress, histamine (HST), serotonin (ST), catecholamines (CAs), luminescent granular cells

Adrenal glands of 30 female rats were examined using luminescent-histochemical methods. The animals were divided into two groups: control rats and rats, which were subjected to water-immobilization stress lasting one hour daily during the period of 10 days. Animals were removed from the experiment in 30, 60 and 90 days after the end of exposure. It was found that the effect of water-immobilization stress changed the level of biogenic amines in the adrenal glands, the organ weight, the ratio (ST+HST)/CA and the number of luminescent granular cells. All these changes are of undulating nature and depend on the period of the study. It is probable that the alert stage developed in rats in 30 days after the end of exposure. In 60 days the stage of exhaustion begins. On the 90th day the stage of recovery forms in rats.

Несмотря на то, что стресс является адаптивной реакцией, в то же время он может привести к развитию многих заболеваний [1, 8]: неврологических, сердечно-сосудистых, эндокринноиммунных, гастроэнтерологических [3, 4].

Процесс адаптации организма к изменениям среды регулируется, главным образом, надпочечниками, а значит, их морфофункциональное состояние напрямую влияет на этот процесс. Известно, что дисфункция надпочечников приводит к ослаблению работы иммунной системы [5, 6]. В свою очередь, сниженный иммунитет повышает риск развития инфекционных и онкологических заболеваний. На работу иммунных органов влияет выброс адреналина в кровь из мозгового слоя надпочечников, а также синтез катехоламинов клетками иммунной системы. Последние способны воздействовать на пролиферацию и дифференцировку иммунокомпетентных клеток через специфические рецепторы [6, 11].

На сегодняшний день профилактика последствий стресса, а значит, и изменений надпочечников является главной задачей медицины.

Цель исследования – оценить морфофункциональное состояние надпочечников крыс-самок, подвергавшихся водноиммобилизационному стрессу.

**Материалы и методы исследования.** Эксперименты выполнены на 30 белых крысах-самках. Животные были разделены на две группы. Первая (контрольная) – интактные крысы ( $n = 15$ ), вторая (опытная) – животные ( $n = 15$ ), которых подвергали водноиммобилизационному стрессу продолжительностью один час ежедневно в течение 10 дней. Выведение животных из эксперимента проводилось через 30, 60 и 90 дней после окончания воздействия.

В работе использованы следующие методы:

1. Люминесцентно-гистохимический метод Фалька – Хилларпа в модификации Крохиной – для избирательного выявления серотонина и катехоламинов в надпочечниках.

2. Люминесцентно-гистохимический метод Кросса – Эвена – Роста – для идентификации гистаминсодержащих структур надпочечников.

3. Метод цитоспектрофлуориметрии – для количественной оценки уровня серотонина (СТ), катехоламинов (КА) и гистамина (ГСТ) в структурах надпочечников. Измерения производили с помощью насадки ФМЭЛ-1А, установленной на люминесцентный микроскоп ЛЮМАМ-4 при выходном напряжении 600 В.

4. Для характеристики суммарно-направленного действия биогенных аминов вычислялось соотношение  $(СТ+ГСТ)/КА$ , свидетельствующее о функциональном состоянии клеток органа [9].

5. При анализе числовых данных применена описательная статистика: подсчитаны средние значения выборок и стандартное отклонение ( $M \pm SD$ ). Определение значимости межгрупповых различий проводили с использованием критерия Стьюдента. Различия определяли при уровне доверительной вероятности 90%.

**Результаты исследования и их обсуждение.** При люминесцентной микроскопии надпочечников у всех исследуемых крыс хорошо различаются корковое и мозговое вещество с желтовато-зеленым свечением. В корковом веществе отчетливо визуализируются три зоны: клубочковая (наружная), пучковая (средняя) и сетчатая (на границе с мозговым веществом). Надпочечник покрыт капсулой желтоватого свечения. Люминесцирующие гранулярные клетки (ЛГК) имеют округлую форму, оранжевое свечение и обнаруживаются, в основном, в сетчатой зоне. В этих структурах у всех групп животных определяется свечение серотонина (СТ), катехоламинов (КА), гистамина (ГСТ).

Цитоспектрофлуориметрия показала, что у интактных животных во всех исследуемых структурах преобладающим биогенным амином является серотонин.

Масса надпочечников и масса крысы через 30 дней после воздействия водноиммобилизационного стресса не отличается от аналогичных показателей в интактной группе животных. Содержание же биогенных аминов изменяется неоднозначно. Так, во всех зонах коркового вещества, а также в люминесцирующих гранулярных клетках надпочечников уровень всех биогенных аминов достоверно нарастает. При этом наиболее значимое увеличение отмечается в ЛГК: уровень СТ и КА достоверно повышается в 3,3 и в 2,9 раза, соответственно. В мозговом веществе уровень гистамина, наоборот, достоверно снижается в 1,7 раза (табл. 1).

Соотношение  $(СТ+ГСТ)/КА$  во всех исследуемых структурах органа достоверно уменьшается по сравнению с таковым в интактной группе животных. Это может быть связано с повышением активности органа [9].

Таблица 1

Уровень биогенных аминов в надпочечниках у интактных крыс и через 30 дней после воздействия водноиммобилизационного стресса, усл. ед.

Исследуемые структуры	Биогенные амины	Интактная группа	Стресс
Капсула	СТ	6,97±0,2	<b>5,1±0,56<sup>*</sup></b>
	ГСТ	3,6±0,03	<b>5,7±0,45<sup>**</sup></b>
	КА	1,07±0,04	<b>0,61±0,05<sup>**</sup></b>
Мозговое вещество	СТ	9,9±0,4	10,6±1,65
	ГСТ	3,7±0,2	<b>2,2±0,02<sup>**</sup></b>
	КА	1,75±0,1	2±0,3
Корковое вещество (клубочковая зона)	СТ	4,5±0,2	<b>11±1,4<sup>**</sup></b>
	ГСТ	4,13±0,2	<b>5,6±0,27<sup>**</sup></b>
	КА	0,89±0,03	<b>1,86±0,2<sup>**</sup></b>
Корковое вещество (пучковая зона)	СТ	5,68±0,16	<b>10,5±1<sup>**</sup></b>
	ГСТ	3,9±0,13	<b>5,25±0,1<sup>**</sup></b>
	КА	0,86±0,01	<b>1,56±0,17<sup>**</sup></b>
Корковое вещество (сетчатая зона)	СТ	7,7±0,23	<b>13,25±0,07<sup>**</sup></b>
	ГСТ	3,32±0,08	<b>5,4±0,57<sup>**</sup></b>
	КА	1,2±0,05	<b>2,4±0,03<sup>**</sup></b>
Люминесцирующие гранулярные клетки	СТ	4,03±0,1	<b>13,5±0,93<sup>**</sup></b>
	ГСТ	5,11±0,2	<b>7,29±0,04<sup>**</sup></b>
	КА	0,79±0,01	<b>2,26±0,17<sup>**</sup></b>

Примечание. \* – при  $P \leq 0,05$ ; \*\* – при  $P \leq 0,005$ .

Через 60 дней после воздействия водноиммобилизационного стресса масса надпочечников достоверно уменьшается в 2 раза по сравнению с таковой в интактной группе животных того же возраста и в 1,3 раза – по сравнению с аналогом в предыдущий срок исследования. Масса крысы снизилась на 20% по сравнению с нормой. В капсуле, мозговом и во всех зонах коркового вещества обнаруживается достоверное увеличение уровня гистамина. При этом содержание серотонина и катехоламинов в этих же исследуемых структурах не отличается от нормы. Это приводит к увеличению соотношения (СТ+ГСТ)/КА, что косвенно указывает на снижение функциональной активности клеток надпочечников в опытной группе [9]. На фоне стресса увеличилось не только количество ЛГК, но и содержание в них всех биогенных аминов.

Через 90 дней после окончания воздействия стрессового фактора масса органа незначительно увеличилась по сравнению с интактной группой крыс того же возраста и в 3,4 раза – по сравнению с предыдущим сроком исследования (рис. 1).

Уровень почти всех биогенных аминов на этом сроке достоверно увеличился по сравнению с контролем. Особенно эти изменения выражены в клубочковой и сетчатой зонах коркового вещества надпочечников. Так, содержание СТ и КА в клубочковой зоне увеличилось на 32% и 35%, соответственно, а уровень ГСТ вырос на 55%.

Соотношение (СТ+ГСТ)/КА снижается почти во всех структурах. Лишь в ЛГК оно увеличивается в 1,5 раза по сравнению с аналогичным показателем в интактной группе крыс (рис. 2).

Таким образом, наши исследования показали, что воздействие водноиммобилизационного стресса изменяет уровень биогенных аминов в надпочечниках, массу органа, соотношение (СТ+ГСТ)/КА, а также количество люминесцирующих гранулярных клеток. Эти изменения носят волнообразный характер и зависят от срока исследования.

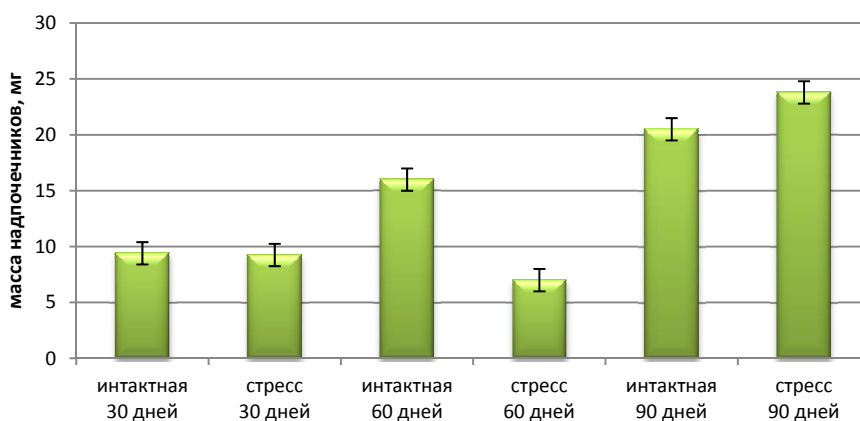


Рис. 1. Изменение массы надпочечников у крыс интактной и опытной групп

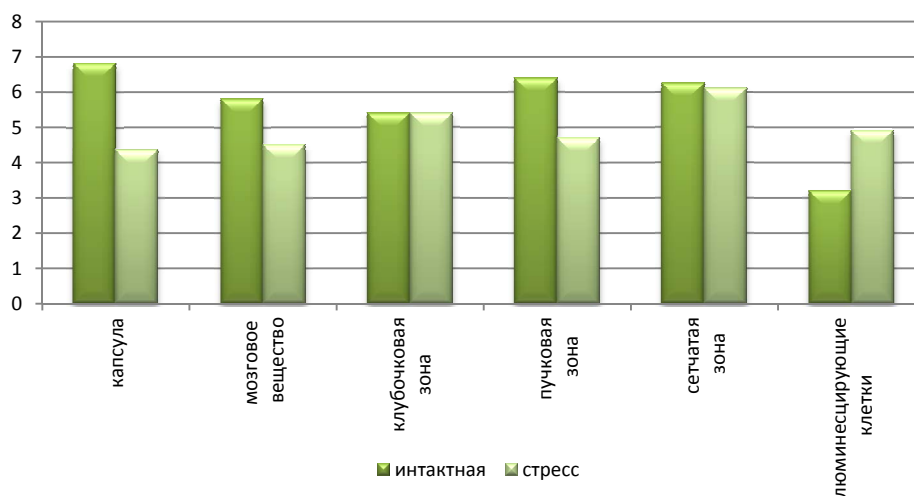


Рис. 2 Соотношение (СТ+ГСТ)/КА в разных структурах надпочечников у интактных животных и через 90 дней после воздействия водноиммобилизационного стресса

Известно, что в развитии стресса выделяют три основные стадии: стадию тревоги, адаптации и истощения [7]. В стадии тревоги в тканях усиливаются процессы распада органических веществ. Стадия адаптации развивается при продолжении негативного воздействия и характеризуется увеличением размеров надпочечников, усилением их функции, повышением резистентности организма [2]. При стадии истощения возникают дистрофические изменения в органах и тканях, резко снижается масса надпочечников и тела. Продолжение действия стрессового фактора может привести к гибели.

Вероятно, что в нашем исследовании фаза тревоги возникла у крыс через 30 дней после окончания воздействия стресса. Именно на этом сроке исследования наблюдается повышение активности надпочечников, что проявилось увеличением количества ЛГК, а также возрастанием уровня почти всех биогенных аминов в люминесцирующих структурах органа.

Через 60 дней у крыс-самок наступает стадия истощения, что проявляется снижением массы тела животного и резким уменьшением массы надпочечников. Наблюдается увеличение уровня гистамина и соотношения (СТ+ГСТ)/КА, что указывает на снижение функциональной активности клеток органа. Повышение уровня гистамина, возможно, обусловлено его стимулирующим действием на секрецию катехоламинов и глюкокортикостероидов [10, 12]. Можно предположить, что повышенный уровень гистамина приводит к тому, что на 90-е сутки у крыс формируется фаза восстановления: увеличиваются масса надпочечников и содержание биогенных аминов, особенно в клубочковой и сетчатой зонах коркового вещества органа.

#### Литература

1. Голуб И.Е., Лебединский В.Ю., Изатулин А.В., Шашкова О.Н. Морфофункциональные изменения в надпочечниках экспериментальных животных при хроническом иммобилизационном стрессе // *Современные наукоемкие технологии*. 2009. № 9. С. 82–84.
2. Кухаренко Н.С., Новоселова А.А. Коррекция хронического холодового стресса у крыс пробиотическим препаратом // *Вестник Красноярского государственного аграрного университета*. 2009. № 7.
3. Подвигина Т.Т., Филаретова Л.П. Двойственные эффекты глюкокортикоидных гормонов на слизистую оболочку желудка // *Успехи физиологических наук*. 2014. Т. 45, № 4. С. 19–33.
4. Полина Ю.В., Наумова Л.И. Гистофункциональное состояние надпочечников при стрессе // *Астраханский медицинский журнал*. 2012. Т. 7, № 4. С. 208–209.
5. Прохоренко И.О., Германова В.Н., Сергеев О.С. Стресс и состояние иммунной системы в норме и патологии. Краткий обзор литературы // *Вестник медицинского института «РЕАВИЗ»: реабилитация, врач и здоровье*. 2017. Т. 25, № 1. С. 82–90.
6. Пряхина К.А. Надпочечники. Стрессы, влияющие на них // *Студенческая наука – агропромышленному комплексу: науч. тр. студентов Горского гос. аграрного ун-та. Владикавказ*, 2017. С. 200–202.
7. Пунина П.В. Влияние холодового стресса на линейные показатели надпочечников крыс при применении корректирующих препаратов // *Молодёжь XXI века: шаг в будущее: материалы XVIII регион. науч.-практ. конф. Благовещенск*, 2017. С. 592–594.
8. Солодкова О.А., Зенкина В.Г. Холодовой стресс и его коррекция гидролизатом кукумарии японской // *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований*. 2016. № 3-4. С. 591–594.
9. Стручко Г.Ю. Изменения нейромедиаторной системы тимуса у крыс после спленэктомии // *Морфология*. 1998 № 1. С. 105.
10. Dronjak S, Jezova D, Kvetnansky R. Different effects of novel stressors on sympathoadrenal system activation in rats exposed to long-term immobilization. *Ann N Y Acad Sci.*, 2004, Jun, vol. 1018, pp. 113–123.
11. Ibrahim I.Y., Abdel-Hakim S.M., Nazmy W.H., Saad A.H., Ali F.F. Biological variations in adrenal gland response to immobilization and glucoprivation stressors in rats. *Endocr Regul.*, 2015, Oct., vol. 49(4), pp. 217–226.
12. Podvin S, Bunday R, Toneff T, Ziegler M, Hook V. Profiles of secreted neuropeptides and catecholamines illustrate similarities and differences in response to stimulation by distinct secretagogues. *Mol Cell Neurosci.*, 2015, Sep., vol. 68, p.p 177–185.

#### References

1. Golub I.E., Lebedinskii V.Yu., Izatulin A.V., Shashkova O.N. *Morfofunktsional'nye izmeneniya v nadpochechnikakh eksperimental'nykh zivotnykh pri khronicheskom immobilizatsionnom stresse* [Morphofunctional changes in adrenal glands of experimental animals in chronic immobilization stress]. *Sovremennyye naukoemkie tekhnologii* [Modern science intensive technologies]. 2009, no. 9, pp. 82–84.
2. Kukharenko N. S., Novoselova A. A. *Korreksiya khronicheskogo kholodovogo stressa u krysv probioticheskim preparatom* [Correction of chronic cold stress in rats with probiotic medicine]. *Vestnik Krasnoyarskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta*, 2009, no. 7.
3. Podvigina T.T., Filaretova L.P. *Dvoistvennye efekty glyukokortikoidnykh gormonov na slizistuyu obolochku zheludka* [The dual effects of glucocorticoid hormones on the gastric mucosa]. *Uspekhi fiziologicheskikh nauk*, 2014, vol. 45, no. 4, pp. 19–33.
4. Polina Yu.V., Naumova L.I. *Gistofunktsional'noe sostoyanie nadpochechnikov pri stresse* [Histofunctional state of the adrenal glands under stress]. *Astrakhanskii meditsinskii zhurnal*, 2012, vol. 7, no. 4, pp. 208–209.

5. Prokhorenko I.O., Germanova V.N., Sergeev O.S. *Stress i sostoyanie immunnnoy sistemy v norme i patologii. Kratkii obzor literatury* [Stress and the immune system in health and disease. A brief literature review]. *Vestnik meditsinskogo instituta "REAVIZ": reabilitatsiya, vrach i zdorov'e* [Bulletin of the medical Institute "REAVIZ": rehabilitation, doctor and health], 2017, vol. 25, no. 1, pp. 82–90.

6. Pryakhina K.A. Nadpochechniki. *Stressy, vliyayushchie na nikh* [Adrenals. Stresses affecting them]. In: *Studencheskaya nauka – agropromyshlennomu kompleksu Nauchnye trudy studentov Gorskogo Gosudarstvennogo agrarnogo universiteta: sb. st.* [Collected papers: Student Sciences to agraindustrial complex. Student research papers of Gorsky state agrarian University]. Vladikavkaz, 2017, pp. 200–202.

7. Punina P.V. *Vliyanie kholodovogo stressa na lineinye pokazateli nadpochechnikov kryz pri primeneni korrektruyushchikh preparatov* [The effect of cold stress on the linear parameters of the adrenal glands of rats with the use of corrective drugs]. *Molodezh' XXI veka: shag v budushchee: materialy XVIII region. nauch.-prakt. konf.* [Proc. of the XVIII Sci. and Pract. Conf. «Youth of the XXI century: a step into the future materials»]. Blagoveshchensk, 2017, pp. 592–594.

8. Solodkova O.A., Zenkina V.G. *Kholodovoi stress i ego korrektsiya gidrolizatom kukumarii yaponskoi* [Cold stress and its correction by a hydrolyzate of Cucumaria Japonica]. *Mezhdunarodnyi zhurnal prikladnykh i fundamental'nykh issledovaniy* [International journal of applied and fundamental research], 2016, № 3-4, pp. 591–594.

9. Struchko G.Yu. *Izmeneniya neiromediatornoi sistemy timusa u kryz posle splenektomii* [Changes in the thymus neurotransmitter system in rats after splenectomy]. *Morfologiya*, 1998, no. 1, p. 105.

10. Dronjak S., Jezova D., Kvetnansky R. Different effects of novel stressors on sympathoadrenal system activation in rats exposed to long-term immobilization. *Ann N Y Acad Sci.*, 2004, Jun, vol. 1018, pp. 113–123.

11. Ibrahim I.Y., Abdel-Hakim S.M., Nazmy W.H., Saad A.H., Ali F.F. Biological variations in adrenal gland response to immobilization and glucoprivation stressors in rats. *Endocr Regul.*, 2015, Oct., vol. 49(4), pp. 217–226.

12. Podvin S, Bunday R, Toneff T, Ziegler M, Hook V. Profiles of secreted neuropeptides and catecholamines illustrate similarities and differences in response to stimulation by distinct secretagogues. *Mol Cell Neurosci.*, 2015, Sep., vol. 68, p.p 177–185.

---

**КОСТРОВА ОЛЬГА ЮРЬЕВНА** – кандидат медицинских наук, доцент кафедры инструментальной диагностики с курсом фтизиатрии, Чувашский государственный университет, Россия, Чебоксары (evkbiz@yandex.ru).

**KOSTROVA OLGA** – Candidate of Medical Sciences, Assistant Professor, Department of the Instrumental Diagnostics with a Course of Phthisiology, Chuvash State University, Russia, Cheboksary.

**СТОМЕНСКАЯ ИРИНА СТАНИСЛАВОВНА** – кандидат медицинских наук, доцент кафедры инструментальной диагностики с курсом фтизиатрии, Чувашский государственный университет, Россия, Чебоксары (irina.stomenskaja@gmail.com).

**STOMENSKAYA IRINA** – Candidate of Medical Sciences, Assistant Professor, Department of the Instrumental Diagnostics with a Course of Phthisiology, Chuvash State University, Cheboksary, Russia.

**МЕРКУЛОВА ЛАРИСА МИХАЙЛОВНА** – доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой нормальной и топографической анатомии с оперативной хирургией, Чувашский государственный университет, Россия, Чебоксары (merkulova192@mail.ru).

**MERKULOVA LARISA** – Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of Normal and Topographic Anatomy Department, Chuvash State University, Russia, Cheboksary.

**СТРУЧКО ГЛЕБ ЮРЬЕВИЧ** – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой инструментальной диагностики с курсом фтизиатрии, Чувашский государственный университет, Россия, Чебоксары (glebstr@mail.ru).

**STRUCHKO GLEB** – Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of Instrumental Diagnostics Department with a Course of Phthisiology, Chuvash State University, Russia, Cheboksary.

**КОТЁЛКИНА АНАСТАСИЯ АНДРЕЕВНА** – ассистент кафедры нормальной и топографической анатомии с оперативной хирургией, Чувашский государственный университет, Россия, Чебоксары (ds6426@chebnet.com).

**KOTELKINA ANASTASIA** – Assistant Lecturer of Normal and Topographic Anatomy Department, Chuvash State University, Russia, Cheboksary.

**МИХАЙЛОВА МАРИНА НИКОЛАЕВНА** – кандидат медицинских наук, доцент кафедры нормальной и топографической анатомии с оперативной хирургией, Чувашский государственный университет, Россия, Чебоксары (mar3007@mail.ru).

**MIKHAILOVA MARINA** – Candidate of Medical Sciences, Assistant Professor of Normal and Topographic Anatomy Department, Chuvash State University, Russia, Cheboksary.

---