

DOI: 10.26693/jmbs06.01.052

УДК 616.36:599.323.4

Филенко Б. М., Винник Н. І., Коптев М. М., Проскурня С. А., Кислий В. Ф.

ВІДТВОРЕННЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ МОДЕЛІ ВПЛИВУ НА ПЕЧІНКУ ГОСТРОГО СТРЕСУ ШЛЯХОМ ФІКСАЦІЇ ЩУРІВ ЗА ШИЙНУ СКЛАДКУ

Українська медична стоматологічна академія, Полтава, Україна

borysfyllenko@gmail.com

Не зважаючи на тривалу історію свого вивчення, проблематика стресу залишається актуальною понині. Вивчення впливу стресу на живий організм без використання експериментальних досліджень наразі не можливе. Існує низка способів моделювання гострих стресових реакцій у організмі піддослідних тварин, зокрема фіксація мишей за шийну складку, яка не потребує значних витрат та є нескладною у виконанні. Але на сьогодні мало відомостей про використання цієї методики для відтворення гострої стресової реакції у щурів; зокрема, для вивчення впливу іммобілізаційного стресу на печінку. Метою дослідження було вивчити вплив на морфологію печінки білих щурів експериментальної моделі відтворення гострого іммобілізаційного стресу шляхом атравматичного підвищення за шийну складку протягом 6-ти годин. У відповідності з міжнародними біоетичними принципами, робота виконана на 20 білих щурах-самцях. Першу, контрольну, групу склали 10 інтактних тварин, другу, експериментальну, групу – 10 щурів, які зазнали впливу гострого іммобілізаційного стресу унаслідок фіксації за шийну складку протягом 6 годин. Після евтаназії проводилося макро- та мікроскопічне дослідження печінки. Мікропрепарати забарвлювали гематоксиліном та еозином. Гістологічне вивчення препаратів печінки щурів II-ої групи показало, що на гістологічному рівні експериментальна модель відтворення гострого іммобілізаційного стресу шляхом атравматичного підвищення за шийну складку протягом 6-ти годин викликає суттєві зміни. Особливо вони проявилися на рівні кровоносного русла печінки. Так, відмічалось повнокров'я та явища тромбозу міжчасточкових вен. Центральні вени також були повнокровними, відмічалось значне розширення перисинусоїдних просторів. Зміни на рівні гемомікроциркуляторного русла характеризувалися проявами застою крові та сладжування у більшості синусоїдних капілярів. Периваскулярно та в порталних трактах виявлялися явища інфільтрації тканин сегментоядерними нейтрофілами, а також макрофагами, лімфоцитами. Зміни визначалися і в клітинах печінки: явища каріопікнозу, субкапсулярний фокальний коліквацийний некроз в окремих гепатоцитах, гідропічна дистрофія в гепатоцитах, розміщених по периферії часточок печінки.

Ключові слова: щури, морфологія, печінка, стрес, фіксація за шийну складку ший.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Наукове дослідження проведене в рамках комплексної міжкафедральної науково-дослідної теми Української медичної стоматологічної академії «Закономірності морфогенезу органів, тканин та судинно-нервових утворів у нормі, при патології та під впливом зовнішніх чинників», № державної реєстрації 0118U004457.

Вступ. Не зважаючи на тривалу історію свого вивчення, проблематика стресу залишається актуальною понині [1, 2]. Складна екологічна ситуація, соціально-економічні негаразди, прискорення ритму життя та збільшення інформаційного навантаження сприяють виникненню та розвитку в організмі сучасної людини постійного напруження, проявом якого є стресова реакція. Стресові реакції, що сформувалися в ході еволюційного розвитку, ґрунтуються на нейроендокринних і метаболічних зрушеннях, які з'являються під впливом різноманітних екзо- та ендогенних подразників, і є для живих організмів всезагальною сукупністю захисних і ушкоджувальних механізмів. У процесі еволюції стрес виникнув як важлива ланка процесу адаптації, проте тривала чи надмірна стресова реакція може стати основою патогенетичних механізмів найрізноманітнішої патології. Над вивченням механізмів виникнення, розвитку та перебігу стресових реакцій, пошуком нових методів підвищення резистентності до них, розробкою сучасних заходів із запобігання виникненню та лікування стресової патології нині працюють науковці різних спеціальностей. Вивчення впливу стресу на живий організм без використання експериментальних досліджень наразі не можливе. Існує низка способів моделювання гострих стресових реакцій у організмі піддослідних тварин, але перевагу намагаються віддавати тим, які є простими у виконанні, не потребують складного чи вартісного обладнання, відповідають біоетичним вимогам. Такою моделлю відтворення гострої стресової реакції є фіксація за шийну складку у мишей, яка не потребує значних витрат та є нескладною у виконанні [3]. Але на сьогодні мало відомостей про використання цієї методики для відтворення гострої стресової реакції у щурів; зокрема, для вивчення впливу іммобілізаційного стресу на печінку. В роботах останніх років використовувалися інші моделі [4, 5, 6, 7].

Мета дослідження: на підставі морфологічних досліджень вивчити вплив на печінку білих щурів експериментальної моделі відтворення гострого іммобілізаційного стресу шляхом атравматичного підвищення за шийну складку протягом 6-ти годин.

Матеріал та методи дослідження. У відповідності з міжнародними біоетичними принципами, робота виконана із дотриманням положень Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, яких використовують в експериментальних та інших наукових цілях (Страсбург, 1986 р.), Директиви Ради Європи 2010/63/EU, Закону України № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження».

Дослідження проводилося на 20 білих щурах-самцях, маса тіла яких становила 240-260 грамів, вік – 8-10 місяців. Щурів утримували в стандартних умовах віварію академії на звичайному раціоні. Тварини були розподілені на 2 групи, по 10 особин у кожній. Першу, контрольну, групу склали інтактні тварини, які не залучалися до проведення жодних експериментів чи дослідів. У другій, експериментальній, групі перебували щури, які зазнали впливу гострого іммобілізаційного стресу.

За основу відтворення експериментальної моделі гострого іммобілізаційного стресу було обрано фіксацію за шийну складку. Із цієї метою ненаркотизованих щурів іммобілізували шляхом підвищення за шийну складку атравматичним затиском протягом 6 годин. Експеримент проводився натщесерце з 9 до 15 години.

Евтаназія тварин здійснювалася декапітацією через 2 години після завершення фіксації. Внутрішньоочеревинний наркоз проводився шляхом уведення тіопенталу натрію (50 мг/кг маси тіла). Після евтаназії проводилося розкриття черевної порожнини, огляд печінки та забір матеріалу для гістологічного дослідження. Шматочки печінки фіксували у 10% розчині формаліну; після відповідного проведення через спирти зростаючої концентрації, їх поміщали в парафін за звичайною методикою. Мікропрепарати забарвлювали гематоксиліном та еозином.

Результати дослідження та їх обговорення. Проведений, після розкриття черевної порожнини, огляд печінки візуальних відмінностей у щурів експериментальної групи від контрольних не виявив. Подальше мікроскопічне вивчення препаратів печінки щурів II-ої групи показало, що на гістологічному рівні експериментальна модель відтворення гострого іммобілізаційного стресу шляхом атравматичного підвищення за шийну складку протягом 6-ти годин викликає суттєві зміни. Особливо вони проявилися на рівні кровоносного русла печінки. Так, відмічалось повнокров'я та явища тромбозу міжчасточкових вен (рис. 1). Центральні вени також були повнокровними, відмічалось значне розширення перисинусоїдних просторів (рис. 2).

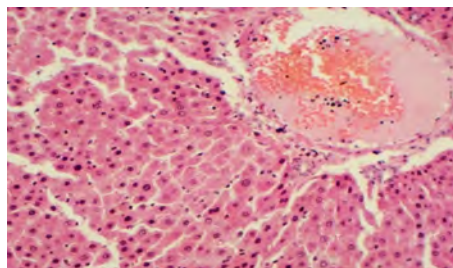


Рис. 1. Повнокров'я міжчасточкових вен з явищами тромбозу. Забарвлення гематоксилін-еозин. 36. x 100

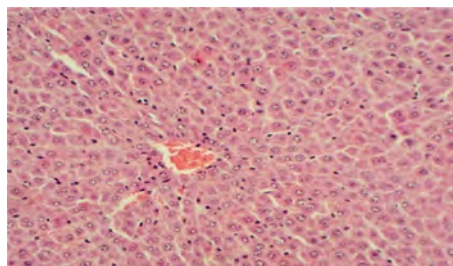


Рис. 2. Повнокров'я центральної вени з різким розширенням перисинусоїдних просторів. Забарвлення гематоксилін-еозин. 36. x 100

Зміни на рівні гемомікроциркуляторного русла характеризувалися проявами застою крові та сладжування у більшості синусоїдних капілярів (рис. 3).

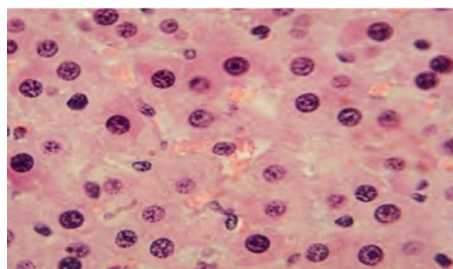


Рис. 3. Більшість синусоїдних капілярів з явищами застою крові та сладжування. Забарвлення гематоксилін-еозин. 36. x 400

Периваскулярно та в портальних трактах виявлялися явища інфільтрації тканин поодинокими сегментоядерними нейтрофілами, а також макрофагами, лімфоцитами.

Зміни визначалися і в клітинах печінки: явища каріопікнозу, субкапсулярний фокальний коліквацийний некроз в окремих гепатоцитах, гідропічна дистрофія в гепатоцитах, розміщених по периферії часточок печінки (рис. 4).

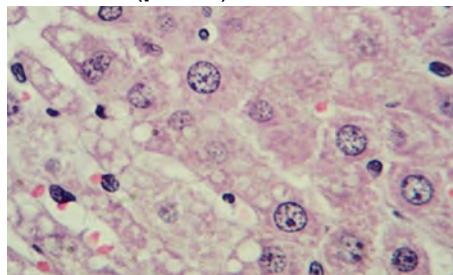


Рис. 4. Явища каріопікнозу в окремих гепатоцитах, на периферії часточок гепатоцити з гідропічною дистрофією. Забарвлення гематоксилін-еозин. 36. x 400

Таким чином, використання експериментальної моделі відтворення гострого іммобілізаційного стресу шляхом атравматичного підвищення за шийну складку у печінці щурів експериментальної групи викликає суттєві морфологічні зміни, подібні до тих, що виникають під впливом фіксації щурів у положенні лежачи на спині [3, 4]. Виконане дослідження доводить виникнення структурних змін у печінці під впливом гострої стресової реакції, а також ефективність експериментальної моделі відтворення у щурів гострого іммобілізаційного стресу шляхом атравматичного підвищення за шийну складку.

Висновки. Вплив експериментальної моделі відтворення гострого іммобілізаційного стресу шляхом атравматичного підвищення за шийну склад-

ку щурів протягом 6-ти годин спричиняє розвитку у печінці піддослідних тварин повнокров'я міжчасточкових та центральних вен, явищ тромбозу, застою крові та сладжування еритроцитів у синусоїдних капілярах, різке розширення перисинусоїдних просторів, незначної периваскулярної змішаноклітинної інфільтрацію, явищ каріопікнозу, гідропічної дистрофії та фокального коліквацийного некрозу в окремих гепатоцитах.

Перспективи подальших досліджень. У подальшому планується вивчення впливу експериментальної моделі відтворення гострого іммобілізаційного стресу шляхом атравматичного підвищення за шийну складку на печінку щурів на ультраструктурному рівні.

References

1. Haydey OS. Etiolohiya stress [Etiology of stress]. *Nauk-tekhn byul In-tu biolohiyi tvaryn ta Derzh n-d kontrol in-tu vetpreparativ ta korm. Dobavok.* 2012; 13(3/4): 416-9. [Ukrainian]
2. Vynnyk NI, Koptev MM, Sovhyrya SM, Filenko BM, Bilash SM. Current studies of ukrainian researchers of stress impact on chest organs: literature review. *Wiadomosci lekarskie.* 2017; 70(6): 1114-7.
3. Kirichek LT. *Stressprotektory v eksperimente i klinike* [Stress protectors in experiment and clinic]. Khar'kov: IPP «Kontrast»; 2008. 304 s. [Russian]
4. Torubara OO, Kyslyi VF, Koptev MM, Filenko BM. The use of torasemide as a stres protector in morphological research of hepatic reaction. V: *Abstract book of international Scientific and Practical Conference of Students, Postgraduates and Young Scientists «Biomedical perspectives»;* 2019 Oct 16–18; Sumy. Sumy: SumDU; 2019. p. 27.
5. Levchuk IYu, Shevchenko AV, Neryanov NO. Morfolohichna kharakterystyka pechinky shchuriv pislya vplyvu hostroho immobilizatsiynoho stresu na tli korektsiyi meksydolom [Morphological characteristics of rat liver after exposure to acute immobilization stress on the background of correction with mexidol]. V: *Tezy dopovidey 75-yi Vseukrayins'koyi student-s'koyi naukovoyi konferentsiyi «Medical students' conference in Poltava» (MEDSCOP 2019);* 2019 Ber 29-30; Poltava. Poltava: UMSA; 2019, s 75. [Ukrainian].
6. Ivanov AV, Bobyntsev II, Shepeleva OM, Kryukov AA, Andreyeva LA, Myasoyedov NF. Morfologicheskkiye izmeneniya pecheni kryis pri stresse i ikh osobennosti pri vvedenii semaksa [Morphological changes of the liver during stress and their features during the introduction of semax]. *Morfologiya.* 2017; 151(1): 40-43. [Russian].
7. Koptev MM, Pronina OM, Danilchenko SI, Royko NV, Vinnik NI, Filenko BM. Sravnitel'naya harakteristika izmeneniy struktury stenok vnutrilegochnyih bronhov kryisyi posle vozdeystviya raznyih modeley immobilizatsionnogo stressa [Comparative characteristics of changes of rat's intrapulmonic bronchi walls structure caused by different models of immobilizing stress]. *Universum: Meditsina i farmakologiya: elektron. nauch. zhurn.* 2013; 1: <http://7universum.com/ru/med/archive/item/329>. [Russian].

УДК 616.36:599.323.4

ВОСПРОИЗВЕДЕНИЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ ВОЗДЕЙСТВИЯ НА ПЕЧЕНЬ ОСТРОГО СТРЕССА ПУТЕМ ФИКСАЦИИ КРЫС ЗА ШЕЙНУЮ СКЛАДКУ Филенко Б. Н., Винник Н. И., Коптев М. Н., Проскурня С. А., Кислый В. Ф.

Резюме. Несмотря на длительную историю своего изучения, проблематика стресса остается актуальной по сей день. Изучение влияния стресса на живой организм без использования экспериментальных исследований пока невозможно. Существует ряд способов моделирования острых стрессовых реакций в организме подопытных животных, в частности фиксация мышей за шейную складку, которая не требует значительных затрат и является несложной в исполнении. Однако, сегодня мало сведений об использовании этой методики для воспроизведения острой стрессовой реакции у крыс; в частности, для изучения влияния иммобилизационного стресса на печень. *Целью* исследования было изучить влияние на морфологию печени белых крыс экспериментальной модели острого иммобилизационного стресса путем атравматического подвешивания за шейную складку в течение 6-ти часов. В соответствии с международными биоэтическими принципами, работа выполнена на 20 белых крысах-самцах. Первую, контрольную, группу составили 10 интактных животных, вторую, экспериментальную, группу – 10 крыс, подвергшихся воздействию острого иммобилизационного стресса путем фиксации за шейную складку

в течение 6 часов. После эвтаназии проводилось макро- и микроскопическое исследование печени. Микропрепараты окрашивали гематоксилином и эозином. Гистологическое исследование препаратов печени крыс II-й группы показало, что на гистологическом уровне экспериментальная модель воспроизведения острого иммобилизационного стресса путем подвешивания за шейную складку в течение 6-ти часов вызывает существенные изменения. Особенно они проявились на уровне кровеносного русла печени. Так, отмечалось полнокровие и явления тромбоза междольковых вен. Центральные вены также были полнокровными, отмечалось значительное расширение перисинусоидных пространств. Изменения на уровне гемомикроциркуляторного русла характеризовались проявлениями застоя крови и сладжированием в большинстве синусоидальных капилляров. Периваскулярно и в портальных трактах оказывались явления инфильтрации тканей единичными сегментоядерными нейтрофилами, а также макрофагами, лимфоцитами. Изменения определялись и в клетках печени, где отмечены явления карнопикноза, субкапсулярный фокальный колликвационный некроз в отдельных гепатоцитах, гидропическая дистрофия в гепатоцитах, расположенных по периферии долек печени.

Ключевые слова: крысы, морфология, печень, стресс, фиксация за кожную складку шеи.

UDC 616.36:599.323.4

The Cervical Fold Suspension Model of Acute Stress in Rats and its Effect on the Liver

Fileiko B. M., Vynnyk N. I., Koptev M. M., Proskurnya S. A., Kyslyi V. F.

Abstract. Stress-related studies remain relevant notwithstanding its long-lasting history of research. Experimental studies are crucial in the study the impact of stress on a living organism. Currently, there is a great variety of simulation animal acute stress reaction models, in particular, cervical fold suspension of mice, which is cost effective and easy-to-use. However, there are insufficient data on using this technique to reproduce the acute stress response in rats, particularly, in studying the impact of immobilization stress on the liver.

The purpose of the work was to study the impact of 6-hour-long *cervical fold suspension* simulation model of acute immobilization stress on the albino rats' liver.

Material and methods. Based on the international bioethical regulations, 20 male albino rats were involved into the study. The intact animals were assigned into group I (n=10) (control); the animals, exposed to 6-hour-long *cervical fold suspension* simulation model of acute immobilization stress were assigned to experimental group (n=10) (group II). After euthanasia, macro- and microscopic examination of the liver was performed. Micro-specimens were stained with hematoxylin and eosin.

Results and discussion. The macroscopic examination of the liver did not reveal any visual differences in the rats of the experimental group compared to the control ones. Histological study of the liver specimens of group II rats showed that the experimental model of simulated acute immobilization stress in rats by atraumatic cervical fold suspension for 6 hours caused significant changes. They were especially pronounced in the bloodstream of the liver, manifested by the plethora and the phenomena of interlobular vein thrombosis. The central veins were also plethoric and a significant dilatation of the perisinusoidal spaces was noted. Changes in the hemomicrocirculation were characterized by manifestations of blood stasis and sludge in most sinusoidal capillaries. We detected the phenomena of tissue infiltration by the segmented neutrophils, as well as macrophages and lymphocytes perivascularly and in the portal tracts. Changes were also found in the liver cells, namely, the phenomena of karyopyknosis; subcapsular focal colliquational necrosis in the individual hepatocytes; hydropic dystrophy in hepatocytes located on the periphery of the liver lobuli.

Conclusion. The implementation of experimental model of acute immobilization stress in rats by atraumatic cervical fold suspension caused significant histological changes in rat liver.

Keywords: rats, morphology, liver, stress, cervical fold suspension.

The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of coauthors of the article.

Стаття надійшла 30.11.2020 р.

Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування