

... ФІЗИОЛОГІЯ ЛЮДИНИ ТА ТВАРИН ...
... PHYSIOLOGY OF HUMAN AND ANIMALS ...

УДК: 616.453-092.9:613.63

**Морфофункціональні перебудови кіркової речовини наднирників
статевозрілих щурів за умов експериментального мікроелементозу**

Н.Б. Гринцова, А.М. Романюк, М.С. Линдін, Т.В. Рябенко

Ксенобіотики, в тому числі і солі важких металів, детермінують розвиток патології окремих органів та систем організму. Гормони надниркових залоз займають одне з ключових місць у регуляції та підтриманні основних функцій організму. Вивчення морфологічних, біохімічних та імуногістохімічних перебудов у корі наднирників статевозрілих щурів-самців за умов впливу на організм комплексу солей важких металів залишається актуальним аспектом сучасної морфології. Експеримент був проведений на 24 білих статевозрілих щурах-самцях масою 250–300 г, у віці 7–8 місяців. Тварини експериментальної групи протягом 60 днів вживали звичайну питну воду, насичену комбінацією солей важких металів (Zn, Cu, Fe, Mg, Cr). Застосовувалися гістологічні, біохімічні (визначення вмісту гормонів: COR – кортизол, DHS –дегідроепіандростерону сульфат) та імуногістохімічні (визначення експресії маркера проліферації Ki-67) методи дослідження. Довготривале надходження до організму статевозрілих щурів комбінацій солей важких металів призводить до потовщення стромального компонента залози, запускання капілярів та порушення реологічних властивостей крові. У ядерному апараті спонгіоцитів виявляється конденсація хроматину, його маргінальне розташування, початкові етапи некробіотичних перебудов. З боку ендокриноцитів клубочкової та сітчастої зон залози спостерігається незначне збільшення проліферативної активності, при ареактивності клітин пучкової зони. Наведені морфологічні зміни корелюють з результатами біохімічного дослідження, згідно з якими у формуванні адаптивних реакцій в організмі експериментальних тварин при 60-добовому терміні надходження до організму комплексу солей важких металів беруть активну участь гормони сітчастої зони наднирників – DHS. Результати комплексних досліджень вказують на послаблення секреторної активності клітин пучкової зони наднирників, що негативно впливає на розвиток в організмі компенсаторно-приспосувальних процесів і перебіг загального адаптаційного синдрому у відповідь на дію пошкоджуючого агента.

Ключові слова: кора наднирників, важкі метали, кортизол, дегідроепіандростерону сульфат, Ki-67, адаптаційний синдром.

Про авторів:

Н.Б. Гринцова – Сумський державний університет, медичний інститут, вул. Санаторна, буд. 33, Суми, Україна, 40018, natalia.gryntsova@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0002-6713-7533>

А.М. Романюк – Сумський державний університет, медичний інститут, вул. Санаторна, буд. 33, Суми, Україна, 40018, pathomorph@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0003-2560-1382>

М.С. Линдін – Сумський державний університет, медичний інститут, вул. Санаторна, буд. 33, Суми, Україна, 40018, lyndin_nikolay@ukr.net, <http://orcid.org/0000-0003-4385-3903>

Т.В. Рябенко – Сумський державний університет, медичний інститут, вул. Санаторна, буд. 33, Суми, Україна, 40018, anatomy@med.sumdu.edu.ua, <http://orcid.org/0000-0003-2740-389X>

Вступ

Важкі метали та їх сполуки утворюють особливу групу токсикантів, які зумовлюють негативний вплив на довкілля і безпосередньо на саму людину (Дмитруха, 2009; Koller, 1980). Хронічна дія хімічних факторів (зокрема солей важких металів) в умовах виробництва, призводячи в кінцевому рахунку до інтоксикації, як правило, супроводжується змінами різних органів та систем людини (Губар та ін., 2007). Солі важких металів, кількість яких у екосистемі постійно зростає, привертають особливу увагу дослідників (Рогозіна та ін., 2009; Romaniuk et al., 2017). Так, вміст солей важких металів в навколишньому середовищі (ґрунті, воді, повітрі) окремих регіонів нашої країни часом багаторазово перевищує санітарно-гігієнічні норми, перетворюючись в серйозну екологічну проблему, яка з роками все більше загрожує здоров'ю населення (Трахтенберг, 2008). В окремих північних районах України відзначено підвищення у ґрунті та питній воді солей цинку, хрому, свинцю, марганцю, міді та заліза, що зустрічаються в різних комбінаціях в залежності від регіону та чинять несприятливий вплив на здоров'я населення (Гринцова, 2017; Romanyuk et al., 2019). В умовах техногенного забруднення довкілля одним із пріоритетних напрямків екологічної морфології залишається вивчення особливостей і механізмів комбінованої дії найбільш поширених

ксенобіотиків – факторів ризику багатьох екологічно залежних мультифакторних захворювань (Луговской, 2005). Відомостей про біохімічні та імуногістохімічні особливості структурних елементів кори наднирників статевозрілих щурів-самців за умов впливу комбінації солей важких металів у науковій літературі ми не зустріли.

Актуальність проблеми спонукає до пошуку природних механізмів захисту від подібної хімічної агресії. На таку роль цілком можуть претендувати наднирники, біологічно активні речовини яких, зокрема глюко- та мінералокортикоїди, за певних умов забезпечують протективний ефект при несприятливих впливах на організм. На сьогоднішній день доведено негативну дію солей важких металів як на організм в цілому, так і на наднирники (Рожков, Гордієнко, 2005). Однак інформації щодо детального комплексного дослідження структурних компонентів наднирників після впливу комбінації солей важких металів автори не знайшли.

Наднирники є однією з важливих ланок у системі ендокринної регуляції більшості життєво важливих функцій організму. У той же час, наднирник є найбільш уразливим в ендокринній системі органом-мішенню для токсичності, і фактори, що сприяють цій уразливості, були визначені численними дослідниками (Harvey et al., 2007; Hinson, Raven, 2006). Наднирники займають одне з центральних місць в ендокринній регуляції життєдіяльності всіх органів та систем індивіда в залежності від умов існування. Вони відіграють провідну роль у здійсненні пристосувальних реакцій організму до мінливих умов зовнішнього середовища, зокрема при розладах водно-солевого обміну, гострому та хронічному стресі, регулюють синтез білків, жирів та вуглеводів. Наднирники вносять вагомий внесок у здійснення стрес-організуючих і стрес-лімітуючих механізмів, залучаючись до формування множинних адаптаційних відповідей організму на стресорний вплив. Гормони наднирників глюкокортикоїди є важливою ланкою адаптаційних механізмів до різноманітних екзогенних впливів. Отже, комплексне вивчення морфологічних, біохімічних та імуногістохімічних перетворень структурних компонентів кори наднирників за умов впливу комбінації солей важких металів є актуальною проблемою та потребує детального вивчення. На сьогоднішній день аналіз наукових робіт свідчить про те, що існує нерівномірність в розподілі знань. Більш дослідженими є питання, присвячені біохімічним та морфологічним аспектам, у той час як вивченню імуногістохімічних особливостей структурних компонентів кори наднирників, в особливості при різних патологічних станах організму, присвячена порівняно невелика кількість наукових публікацій (Луцик, Ященко, 2018; Ng, Liu, 1990; Rana, 2014; Rastogi, Singhal, 1975).

Метою роботи є вивчення морфологічних, та функціональних перебудов у корі наднирників статевозрілих щурів-самців за умов впливу на організм комплексу солей важких металів.

Об'єкти та методи дослідження

Експеримент проведений на 24 білих статевозрілих щурах-самцях масою 250–300 г, віком 7–8 місяців, що були розподілені на 2 групи (контрольну та експериментальну). Щури утримувалися у звичайних умовах віварію, на стандартному питному та харчовому раціоні, з постійною температурою оточуючого середовища 20–22°C. В експерименті використовували активних тварин із задовільним загальним станом та станом шкіряного покриву. У віварії тварини перебували в однакових умовах утримання, харчування, належного догляду та природного освітлення (день/ніч). Експеримент проведено в осінньо-зимовий період. Щури контрольної групи утримувалися в звичайних умовах віварію, отримували звичайну питну воду та їжу. Експериментальну групу склали щури, які протягом 60 діб вживали звичайну питну воду, насичену комбінацією солей важких металів: цинку ($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$) – 5 мг/л, міді ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$) – 1 мг/л, заліза ($FeSO_4$) – 10 мг/л, марганцю ($MnSO_4 \cdot 5H_2O$) – 0,1 мг/л, свинцю ($Pb(NO_3)_2$) – 0,1 мг/л та хрому ($K_2Cr_2O_7$) – 0,1 мг/л (Гринцова, 2017; Romanuk et al., 2019). Групи піддослідних тварин виводилися з експерименту шляхом декапітації під ефірним наркозом на 60-ту добу від початку досліду. Утримання тварин та маніпуляції над ними проводилися у відповідності до положень «Загальноетичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим Національним конгресом з біоетики (Київ, 2001), «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985) та закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» № 3477-IV від 21.02.2006.

Для вивчення морфологічних перебудов у кірковій речовині наднирників застосовували загальноприйняті методики мікроанатомічного (гістологічного) методу дослідження. З метою проведення морфологічних та імуногістохімічних досліджень проводили виділення наднирників.

Фіксація органу впродовж 24 годин у 10%-ному розчині нейтрального формаліну. Процес зневоднення проводили у низці порцій етилового спирту з висхідними концентраціями 70°, 80°, 90°, 96°, після чого об'єкти заливали парафіном. З гістологічних блоків на ротаційному мікротомі виготовляли зрізи завтовшки від 4 до 5 мкм. Зрізи фарбували гематоксилін-еозином за стандартною методикою. Загальний морфологічний аналіз проводили за допомогою світлооптичного мікроскопа «Zeiss Primo Star», з об'єктивами $\times 10$, $\times 20$, $\times 40$, біокулярами 7, 10. Фотодокументування отриманих результатів проводили цифровою відеокамерою «Ахіосат ERC 5S Zeiss». Оцінку анатомічного стану наднирників проводили за рядом макроскопічних показників: форма органу, стан стромального та паренхіматозного компонентів. Оцінку гістологічного стану наднирників проводили за рядом мікроскопічних показників: стан спонгіоцитів клубочкової, пучкової та сітчастої зон кори наднирників, зокрема стан ядерного апарату клітин та наявність включень в цитоплазмі; стан судинного русла, зміни реологічних властивостей крові.

Визначення експресії маркера проліферації Ki-67 проводили на депарафінованих зрізах товщиною 4–5 мкм, із попереднім демаскуванням антигенів у цитратному буфері (рН 6,0) в умовах мікрохвильової печі протягом 10 хв. Для імуногістохімічної реакції використовували кролячі моноклональні антитіла (клон SP6 для визначення Ki-67, США) з титром 1 : 100 згідно з рекомендаціями виробника. Оцінку експресії маркера проліферації Ki-67 проводили за кількістю забарвлених ядер клітин залози. Мікроскопічно визначалося коричневе забарвлення ядер залозистого епітелію. Оцінка експресії Ki-67 проводилася напівкількісно методом підрахунку кількості забарвлених ядер на 100 клітин у трьох полях зору, результат виражався у відсотках і оцінювався за прийнятою шкалою: 1) відсутня проліферативна реакція (–), 2) 0–20 % – слабка проліферативна активність (+), 3) 21–50 % – помірна проліферативна активність (++) , 4) 51–100 % – значна проліферативна активність (+++) (Луцик, Яценко, 2018).

Функціональний стан кори надниркових залоз оцінювали шляхом визначення у сироватці периферійної крові дослідних тварин (методом ІФА) наступних гормонів та показників їх оптичної щільності (у.о.): кортизолу COR (нмоль/л) та DHS (мкмоль/л). Рівень гормонів та їх оптичної щільності визначався за допомогою реагентів фірми Siemens (серії 388 – для COR, 225 – для DHS) на автоматичному імунохемолюмінесцентному аналізаторі Immulite 1000 Siemens HealthCare Global. 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°C (1000 g), після чого здійснювали відбір сироватки. Всі зразки були проаналізовані у двох повторях.

Статистичний аналіз даних здійснювалася у пакеті програм «Statistica 8.0», з використанням критеріїв Стьюдента і Фішера. Значущими вважали відмінності при $p \leq 0,05$.

Результати

При гістологічному дослідженні наднирник щурів контрольної групи мав овальну форму, ззовні оточений капсулою. Зовнішній шар капсули сформований жировою тканиною, яка є спільною для наднирника та нирки. Внутрішній шар капсули побудований із щільної оформленої сполучної тканини. Паренхіма наднирника представлена кірковою та мозковою речовиною. В свою чергу кіркова речовина включає в себе три зони: клубочкову, пучкову та сітчасту. Клітини клубочкової зони формують епітеліальні тяжі у вигляді клубочків, що знаходяться субкапсулярно. Клітини клубочкової зони дрібні, кубічної або призматичної форми, мають світлу цитоплазму з невеликою кількістю ліпідних включень. Ядра клітин з ядрцем мали овальну форму та займали центральне положення у клітині. Хроматин мав дрібнодисперсну будову. Ядерно-цитоплазматичне співвідношення складало 1 : 2–1 : 3. Міжклітинні простори в епітеліальних тяжках вузькі, не виразні.

Пучкова зона утворена паралельно орієнтованими тяжками клітин, між якими залягають гемокапіляри. Клітини пучкової зони дещо більші від клітин клубочкової зони, мають велике округле світле ядро з розвинутими ядрцями, що займає переважно центральне положення. Цитоплазма більшості клітин оксифільна, у ній визначаються вакуолі та ліпідні включення. У цій зоні поряд зі світлими клітинами зустрічаються в різній кількості темні з ущільненою цитоплазмою, що містила мало ліпідних включень. Ядерно-цитоплазматичне співвідношення складало 1 : 3,5–1 : 4 (рис. 1).

Сітчаста зона – найглибша зона кори наднирника, що прилягає до мозкової речовини. У цій зоні епітеліальних тяжкі розгалужуються, анастомозують та формують пухку мережу у вигляді сітки. Між ними розташовані численні капіляри. Адренкортикоцити в сітчастій зоні зменшуються в розмірах і набувають кубічної, округлої або полігональної форми. При світловій мікроскопії клітини сітчастої

зони мають кулясті ядра, ядерця та яскраво оксифільну цитоплазму. Ядерно-цитоплазматичне співвідношення складало 1 : 1,5-1:2.

Результати нашої оцінки гістологічного стану наднирників щурів контрольної групи співпадають з результатами досліджень ряду авторів (Грабовський, 2014; Скотаренко, 2015).

Згідно з результатами імуногістохімічного дослідження експресії Ki-67 у корі наднирників тварин контрольної групи визначено наступне: у клітинах клубочкової та сітчастої зони маркер Ki-67 виявлявся у 35 % ядер, що свідчить про помірну проліферативну активність клітин (++) у цих зонах залоз. Клітини пучкової зони експресували Ki-67 лише у поодиноких клітинах (5 %, +), що свідчить про низьку проліферативну активність клітин у цій зоні залози. Інтенсивність забарвлення ядер клітин оцінювалася як помірне (++) , а цитоплазми як низька (рис. 2).

Згідно з результатами біохімічного дослідження крові контрольних тварин рівень COR в периферійній крові становив $107,25 \pm 2,776$ нмоль/л. Рівень DHS, що є неактивною формою основного попередника андрогена (ДГЕА), мав показники $<0,407$ мкмоль/л в сироватці крові контрольних щурів. Також досліджували оптичну щільність DHS у сироватці крові, враховували закон Бугера-Ламберта-Бера, який вказує на те, що оптична щільність розчину прямо пропорційна концентрації аналізованої речовини. При цьому показник оптичної щільності цього гормону становив $28,006 \pm 0,926$ у.о.

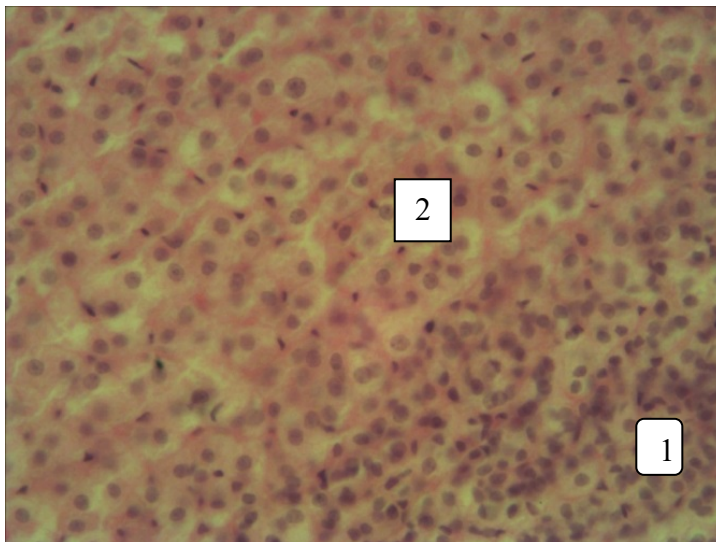


Рис. 1. Гістологічна будова наднирників щурів контрольної групи: 1 – клубочкова зона, 2 – пучкова зона. Забарвлення гематоксилін-еозином. $\times 400$

Після 60-добового терміну впливу комплексу солей важких металів на організм експериментальних тварин у наднирниках визначалися значні морфофункціональні перебудови. Макроскопічно наднирник піддослідних щурів зберігав свою анатомічну будову. Фібозна капсула залоз щільно прилягала до паренхіми, на деяких ділянках була дещо потовщена та розпушена, цілісність її не порушена. Судини капсули розширені, з ознаками субкапсулярного повнокрів'я. Морфологія стінки артерій та артеріол капсули була порушена, м'язова оболонка потовщена, ендотеліоцити перебували у стані набряку, гіпертрофовані, гіперхромні, а їх ядра випиналися у просвіт судин. Місцями ендотеліальний шар судин порушений. Спостерігалось порушення реологічних властивостей крові у вигляді стазу еритроцитів та початкових процесів їх складжування. Цитоархітектоніка зон наднирника порушена. У клубочковій зоні клітинні тяжі дещо втрачали характерне розташування, визначалася дисконкомпексація клітинних трабекул. Міжтрабекулярні простори клубочкової зони не розширені, з ознаками запусівання переважної частини міжтрабекулярних капілярів (рис. 3).

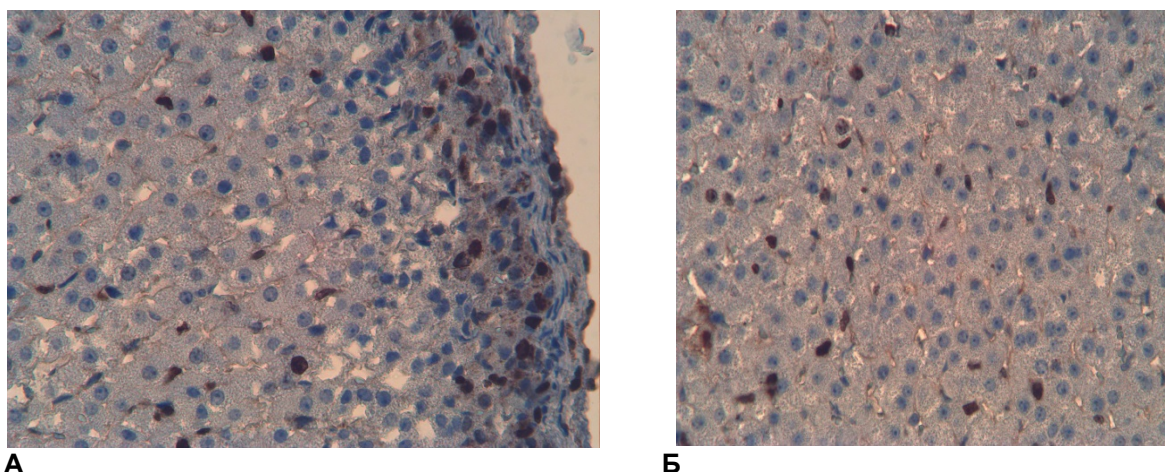


Рис. 2. Експресія Кі-67 у клубочковій і пучковій зоні (А) та сітчастій зоні (Б) кори наднирників щурів контрольної групи. $\times 400$

Клітини клубочкової зони мали нечіткі контури клітинної оболонки, дещо гіперхромну цитоплазму з дрібнодисперсною зернистістю. Ядра клітин клубочкової зони були гіперхромні, з початковими етапами пікнотичних перебудов. Лише поодинокі клітини мали округлі збільшені у розмірах ядра з дещо просвітленою хроматиною сіткою та добре контурованим ядерцем. Архітектоника пучкової зони у порівнянні з контролем порушена. Міжтрабекулярні простори були значно розширені, з ознаками набряку, але гіперемії капілярів не спостерігалось (рис. 3). Ендокриноцити пучкової зони мали оксифільну цитоплазму та округлі, базофільні, дещо зменшені в розмірах ядра. У препаратах спостерігалась тенденція до посилення процесів конденсації хроматину ядер, їх деформації. Кількість ядер, що мали ядерця, зменшувалась у порівнянні з контролем. У ядрах спостерігалось крайове розташування конденсованого хроматину, гіпертрофія та гіперхроматоз ядерця.

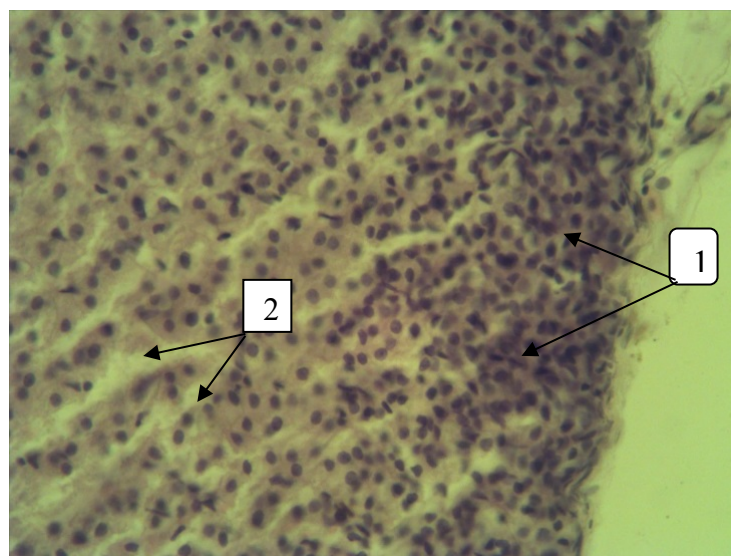


Рис. 3. Гістологічна будова кіркової речовини наднирника експериментальних тварин після 60-добового надходження в організм комбінації солей важких металів: 1 – порушення гістоархітектоніки клітин клубочкової зони; 2 – розширення та набряк міжтрабекулярних просторів у пучковій зоні. Фарбування: гематоксилін і еозин. $\times 400$

Сітчаста зона залози у порівнянні з контролем була дещо розширена, цитоархітектоніка епітеліальних трабекул, що сформовані спонгіоцитами сітчастої зони, була дещо порушена. Міжтрабекулярні простори та судини мікроциркуляторного русла були розширені, з ознаками набряку, але лише незначна частина просвітів капілярів частково заповнена клітинними елементами крові. Спостерігалось порушення реологічних властивостей крові у вигляді гемостазу, сладж-феномену, початкових етапів порушення проникності судинної стінки та виходу клітинних елементів крові та плазми у позасудинний простір. Частина капілярів була з ознаками запусівання. Епітеліальні тяжі склалися з великих клітин із світлою цитоплазмою та округлим помірно базофільним ядром, з ознаками конденсації хроматинової сітки. При цьому ступінь конденсації хроматину був більш виразним, ніж у ядрах клітин пучкової зони (рис. 4).

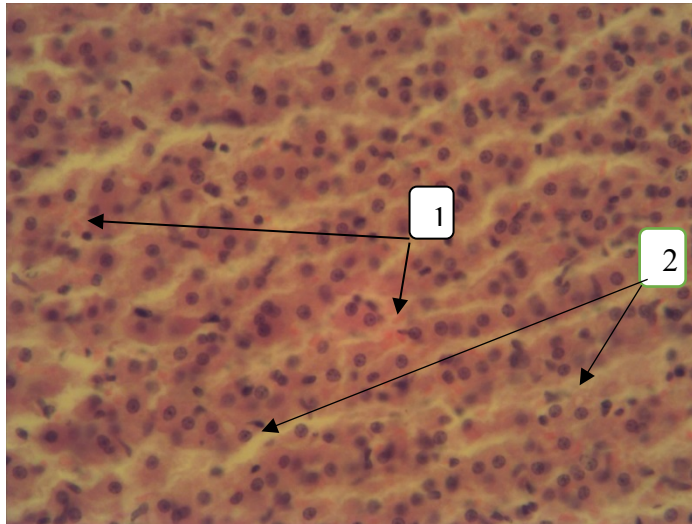


Рис. 4. Гістологічна будова кіркової речовини наднирника експериментальних тварин після 60-денного надходження в організм комбінації солей важких металів: 1 – повнокрів'я судин сітчастої зони; 2 – набряк строми. Фарбування: гематоксилін і еозин. $\times 400$

Згідно з результатами імуногістохімічного дослідження експресії маркеру проліферативної активності Ki-67 визначено, що на 60-ту добу досліду експресія Ki-67 спостерігалася у численних ядрах клітин клубочкової та сітчастої зон. При цьому відмічалось незначне збільшення кількості ядер клітин, що експресували Ki-67 (40 %) у порівнянні з контролем (35 %). Це свідчить про активацію процесів проліферації саме в цих ділянках кори наднирників (помірна проліферативна активність) у поєднанні з практичною ареактивністю клітин пучкової зони паренхіми залози (5 % – низька проліферативна активність). Інтенсивність забарвлення ядер клітин оцінювалася як помірна (++) , а цитоплазми як низька (рис. 5).

Згідно з результатами біохімічного дослідження крові експериментальних тварин: рівень COR у сироватці крові достовірно зменшувався на 27,1 % ($p < 0,05$) у порівнянні з показниками контрольних тварин.

Рівень DHS мав показник $< 0,407$ мкмоль/л у сироватці крові як контрольних, так і експериментальних тварин. Але показник оптичної щільності цього гормону був значуще більший за показники контрольних тварин на 8,9 % ($p < 0,05$) (табл. 1). Це вказує на збільшення концентрації DHS у сироватці крові експериментальних тварин у порівнянні з тваринами контрольної групи.

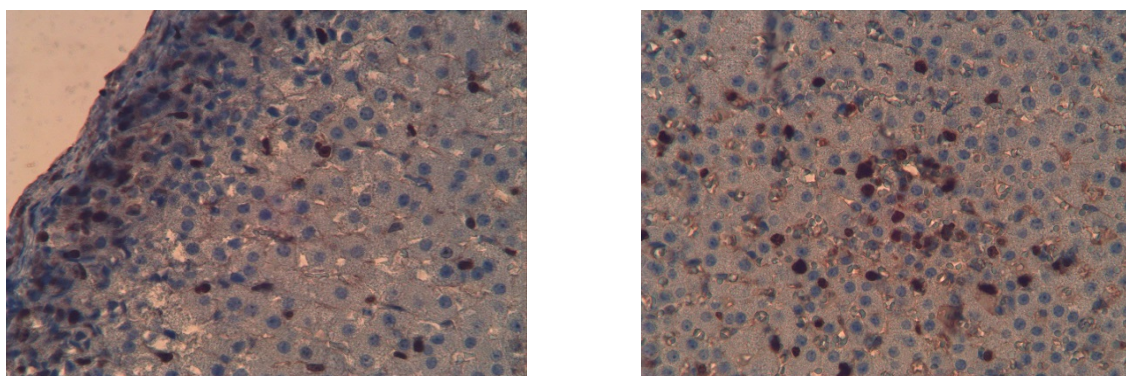


Рис. 5. Експресія Ki-67 у клітинах клубочкової та сітчастої зон наднирника експериментального щура після 60-добового терміну досліджу. $\times 400$

Таблиця 1.

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

Показник	Досліджувані групи тварин	
	Контрольні тварини	Експериментальні тварини
Вміст гормонів у сироватці крові		
COR (нмоль/л)	107,25 \pm 2,776	78,2 \pm 9,5*
DHS (мкмоль/л)	<0,407	<0,407
DHS, оптична щільність (у.о.)	28,006 \pm 0,926	30,487 \pm 0,336*

Примітка: *різниця між показниками контролю та експерименту значуща, $p \leq 0,05$.

Обговорення

Довготривале надходження до організму статевозрілих щурів комбінацій солей важких металів призводить до морфологічних трансформацій усіх структурних компонентів кіркової речовини наднирників: строми, судинного русла, морфології та секреторної активності спонгіоцитів, переважно пучкової та сітчастої зон. Виявляється потовщення та набряк стромального компонента залози, запустіння капілярів та порушення реологічних властивостей крові. Морфологічні перебудови частини спонгіоцитів стосуються здебільшого їх ядерного апарату (конденсація хроматину та його маргінальне розташування, початкові етапи некробіотичних перебудов). Але, невелика частина ядер мають добре контуровані ядерця, що вказує на активні регенераторні перебудови у клітинах як відповідь на дію пошкоджуючого агента. Морфологічні перебудови у кірковій речовині залози експериментальних тварин підтверджуються біохімічними та імуногістохімічними результатами дослідження. Це виявляється у незначному збільшенні проліферативної активності з боку ендокриноцитів клубочкової та сітчастої зони, при ареактивності клітин пучкової зони. Наведені результати корелюють з результатами біохімічного дослідження, згідно з якими у формуванні адаптивних реакцій в організмі експериментальних тварин при 60-добовому терміні надходження до організму комплексу солей важких металів беруть активну участь гормони сітчастої зони кори наднирників. Результати морфологічних, імуногістохімічних та біохімічних досліджень вказують на послаблення секреторної активності клітин пучкової зони наднирників. Зменшення процесів синтезу кортизолу негативно впливає на розвиток в організмі компенсаторно-приспосувальних процесів та перебіг загального адаптаційного синдрому у відповідь на дію пошкоджуючого агента.

Отже, в результаті довготривалого впливу на організм щурів комбінації солей важких металів у корі наднирників розвиваються пристосувально-компенсаторні процеси з початковими ознаками зниженої функціональної активності.

Список літератури / References

- Грабовський С.С. (2014). Морфометрична характеристика наднирників і нирок щурів за умов передзабійного стресу під час використання біологічно активних речовин. *Біологічні Студії*, 8(2), 43–56. [Grabovsky S.S. (2014). Morphometric characterization of adrenal glands and kidneys under conditions of pre-slaughter stress during the use of biologically active substances. *Studia Biologica*, 8(2), 43–56.]
- Гринцова Н.Б. (2017). Морфологічні перебудови структурних компонентів проміжної частки гіпофіза статевозрілих щурів-самиць в умовах впливу солей важких металів / European Conference on Innovations in Technical and Natural Sciences: 15th International scientific conference. Vienna, Austria. С. 3–8. [Hryntsova N.B. (2017). Morphological rearrangements of the structural components of the intermediate lobe of the pituitary gland of female adult rats under the influence of heavy metal salts. *European Conference on Innovations in Technical and Natural Sciences: 15th International scientific conference*. Vienna, Austria, pp. 3–8.]
- Губар І.В., Козлов К.П., Левченко І.Л. (2007). Вплив низьких доз сполук свинцю, ртуті та марганцю на реографічні показники білих щурів в залежності від віку. *Современные проблемы токсикологии*, 4, 8–10. [Gubar I.V., Kozlov K.P., Levchenko I.L. (2007). The influence of low doses of lead, mercury and manganese on reographic indices of white rats of different age. *Modern Problems of Toxicology*, 4, 8–10.]
- Дмитруха Н.М. (2009). До проблеми імунотоксичності свинцю і кадмію (огляд літератури). *Современные проблемы токсикологии*, 1, 4–9. [Dmitrukha N.M. (2009). To the problem of immunotoxicity lead and cadmium (literature review). *Modern Problems of Toxicology*, 1, 4–9.]
- Луговской С.П. (2005). Морфофункціональна характеристика головного мозку щурів при хронічному впливі на організм малих доз свинцю. *Современные проблемы токсикологии*, 3, 23–28. [Lugovskoy S.P. (2005). Morphological and functional pattern of cerebrum of rats under chronic exposure with small doses of lead. *Modern Problems of Toxicology*, 3, 23–28.]
- Луцик С.О., Ященко А.М. (2018). Імуногістохімічне дослідження надниркових залоз потомства щурів, що розвивалося за умов експериментального гіпо- та гіпертирозу материнського організму. *Світ медицини та біології*, 4(66), 175–180. <https://doi.org/10.26724/2079-8334-2018-4-66-175-180> [Lutsik S.O., Yashchenko A.M. (2018). Immunohistochemical study of adrenal glands in rats progeny grown in the conditions of experimental hypo and hypertension of the maternal body. *World of Medicine and Biology*, 4(66), 175–180. <https://doi.org/10.26724/2079-8334-2018-4-66-175-180>]
- Рогозіна О.В., Озерова Н.Ю., Каширіна Н.К. (2009). Морфологія аденогіпофізу та наднирок під впливом свинцевої інтоксикації та її корекції. *Світ медицини та біології*, 3, 136–140. [Rogozina O.V., Ozerova N.Y., Kashirina N.K. (2009). Morphology of adenohipophysys and adrenal gland under the influence of lead intoxication and its correction. *World of Medicine and Biology*, 3, 136–140.]
- Рожков І.М., Гордієнко В.М. (2005). Деякі аспекти гістофізіологічних змін кортикоцитів пучкової зони надниркових залоз в умовах хронічної нітратної інтоксикації та її корекції плаванням. *Спортивна медицина*, 1, 75–78. [Rozhkov I.M., Hordienko V.M. (2005). Some aspects of histophysiological changes of adrenal corticocytes at chronic nitrate intoxication and its correction by swimming. *Sports Medicine*, 1, 75–78.]
- Скотаренко Т.А. (2015). Сучасні погляди на морфофункціональний стан наднирників в нормі, при гострому запаленні та можливості впливу на них фетоплацентарних тканин. *Актуальні проблеми сучасної медицини*, 15(2), 237–241. [Skotarenko T.A. (2015). Modern views on the morphofunctional state of the adrenal glands in normal, acute inflammation and the possibility of their influence on fetoplacental tissues. *Actual Problems of Modern Medicine*, 15(2), 237–241.]
- Трахтенберг І. (2008). Книга про отрути та отруєння. Тернопіль: ТДМУ, «Укрмедкнига». С. 122–123. [Trakhtenberg I. (2008). *The book about poisons and poisoning*. Ternopil: Ternopil State Medical University, "Ukrmedkniga", pp. 122–123.]
- Harvey P.W., Everett D.J., Springall C.J. (2007). Adrenal toxicology; a strategy for assessment of functional toxicity to the adrenal cortex and steroidogenesis. *J. Appl. Toxicol.*, 27, 103–115. <https://doi.org/10.1002/jat.1221>
- Hinson J.P., Raven P.W. (2006). Effects of endocrine-disrupting chemicals on adrenal function. *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.*, 20, 111–120. <https://doi.org/10.1016/j.beem.2005.09.006>
- Koller L.D. (1980). Immunotoxicology of heavy metals. *Int. J. Immunopharmacol.*, 2, 269–279. [https://doi.org/10.1016/0192-0561\(80\)90027-2](https://doi.org/10.1016/0192-0561(80)90027-2)
- Ng T.B., Liu W.K. (1990). Toxic effect of heavy metals on cells isolated from the rat adrenal and testis. *In Vitro Cellular & Development Biology*, 26(1), 24–28. <https://doi.org/10.1007/BF02624150>

- Rana S.V.S. (2014). Perspectives in endocrine toxicity of heavy metal. *Biological Trace Element Research*, 160(1), 1–14. <https://doi.org/10.1007/s12011-014-0023-7>
- Rastogi R.B., Singhal R.L. (1975). Effect of chronic cadmium treatment on rat adrenal catecholamines. *Endocrine Research Communications*, 2(1), 87–94. <https://doi.org/10.1080/07435807509053840>
- Romanyuk A.M., Hryntsova N.B., Karpenko L.I. et al. (2019). The long-term effect of the complex of heavy metal salts on the morphofunctional changes in the structural components of the intermediate lobe of the mature rat's pituitary gland-the female. *Problems of Endocrine Pathology*, 2, 98–103. <https://doi.org/10.21856/j-PEP.2019.2.14>
- Romaniuk A., Sikora V., Lyndin M. et al. (2017). The features of morphological changes in the urinary bladder under combined effect of heavy metal salts. *Interventional Medicine and Applied Science*, 9(2), 105–111. <https://doi.org/10.1556/1646.9.2017.2.09>

Morphofunctional rearrangements of adrenal cortex of adult rats at the experimental microelementosis

N.B. Hryntsova, A.M. Romanyuk, M.S. Lyndin, T.V. Ryabenko

Xenobiotics, including salts of heavy metals, determine the development of pathology of individual organs and systems of the body. Adrenal hormones occupy a key place in the regulation and maintenance of the organism basic functions. The study of morphological, biochemical and immunohistochemical changes in the adrenal cortex of pubescent male rats at exposure to the complex of heavy metal salts remains an actual aspect of modern morphology. The experiment involved 24 white adult male rats weighing 250–300 g, aged 7–8 months. The animals of the experimental group consumed ordinary drinking water saturated with a combination of heavy metal salts (Zn, Cu, Fe, Mg, Cr) for 60 days. Histological, biochemical (determination of the content of hormones COR – cortisol, DHS – dehydroepiandrosterone sulfate) and immunohistochemical (determination of the expression of proliferation marker Ki-67) methods were used. Long-term consumption of the combination of heavy metals salts by mature rats leads to thickening of the stromal component of the gland, the rupture of capillaries and the violation of rheological properties of blood. Chromatin condensation, its marginal location, and initial stages of necrobiotic changes have been found in the spongicyte nuclear apparatus. For endocrinocytes of the zona glomerulosa and zona reticularis of the gland, a slight increase in proliferative activity has been revealed, while cells of the zona fasciculata were non-reactive. These results correlate with the results of biochemical research, according to which hormones of the zona reticularis – DHS were actively involved in the formation of adaptive reactions in the body of experimental animals at the 60-day period of administration of the complex of heavy metals salts. The results of complex studies indicate a weakening of the secretory activity of cells of the zona fasciculata, which adversely affects the development of compensatory-adaptive processes in the body and the course of the general adaptation syndrome in response to the action of the damaging agent.

Key words: *adrenal cortex, heavy metals, cortisol, dehydroepiandrosterone sulfate, Ki-67, adaptation syndrome.*

About the authors:

N.B. Hryntsova – Sumy State University, Medical Institute, Sanatorna Str., 33, Sumy, Ukraine, 40018, natalia.gryntsova@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0002-6713-7533>
A.M. Romanyuk – Sumy State University, Medical Institute, Sanatorna Str., 33, Sumy, Ukraine, 40018, pathomorph@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0003-2560-1382>
M.S. Lyndin – Sumy State University, Medical Institute, Sanatorna Str., 33, Sumy, Ukraine, 40018, lyndin_nikolay@ukr.net, <http://orcid.org/0000-0003-4385-3903>
T.V. Ryabenko – Sumy State University, Medical Institute, Sanatorna Str., 33, Sumy, Ukraine, 40018, anatomy@med.sumdu.edu.ua, <http://orcid.org/0000-0003-2740-389X>

Морфофункциональные перестройки коры надпочечников половозрелых крыс в условиях экспериментального микроэлементоза

Н.Б. Гринцова, А.М. Романюк, Н.С. Линдін, Т.В. Рябенко

Ксенобиотики, в том числе и соли тяжелых металлов, детерминируют развитие патологии отдельных органов и систем организма. Гормоны надпочечников занимают одно из ключевых мест в регуляции и поддержании основных функций организма. Изучение морфологических, биохимических и иммуногистохимических перестроек в коре надпочечников половозрелых крыс-самцов в условиях воздействия на организм комплекса солей тяжелых металлов остается актуальным аспектом современной морфологии. Эксперимент был проведен на 24 белых половозрелых крысах-самцах массой 250–300 г, в возрасте 7–8 месяцев. Животные экспериментальной группы в течение 60 суток употребляли обычную питьевую воду, насыщенную комбинацией солей тяжелых металлов (Zn, Cu, Fe, Mg, Cr). Применялись гистологические, биохимические (определение содержания гормонов COR – кортизол, DHS – дегидроэпиандростерона сульфат) и иммуногистохимические

(определение экспрессии маркера пролиферации Ki-67) методы исследования. Длительное поступление в организм половозрелых крыс комбинаций солей тяжелых металлов приводит к утолщению стромального компонента железы, запустению капилляров и нарушению реологических свойств крови. В ядерном аппарате спонгиоцитов наблюдается конденсация хроматина, его маргинальное положение, начальные этапы некробиотических перестроек. Со стороны эндокриноцитов клубочковой и сетчатой зон железы наблюдается незначительное увеличение пролиферативной активности, при ареактивности клеток пучковой зоны. Приведенные данные коррелируют с результатами биохимического исследования, согласно которым в формировании адаптивных реакций в организме экспериментальных животных при 60-суточном сроке поступления в организм комплекса солей тяжелых металлов активно участвуют гормоны сетчатой зоны надпочечников – DHS. Результаты комплексных исследований указывают на ослабление секреторной активности клеток пучковой зоны надпочечников, что негативно влияет на развитие в организме компенсаторно-приспособительных процессов и ход общего адаптационного синдрома в ответ на действие повреждающего агента.

Ключевые слова: *кора надпочечников, тяжелые металлы, кортизол, дегидроэпиандростерона сульфат, Ki-67, адаптационный синдром.*

Об авторах:

Н.Б. Гринцова – Сумской государственный университет, медицинский институт, ул. Санаторная, 33, Сумы, Украина, 40018, natalia.gryntsova@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0002-6713-7533>

А.М. Романюк – Сумской государственный университет, медицинский институт, ул. Санаторная, 33, Сумы, Украина, 40018, pathomorph@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0003-2560-1382>

Н.С. Лындин – Сумской государственный университет, медицинский институт, ул. Санаторная, 33, Сумы, Украина, 40018, lyndin_nikolay@ukr.net, <http://orcid.org/0000-0003-4385-3903>

Т.В. Рябенко – Сумской государственный университет, медицинский институт, ул. Санаторная, 33, Сумы, Украина, 40018, anatomy@med.sumdu.edu.ua, <http://orcid.org/0000-0003-2740-389X>

Представлено: I.I.Старченко / Presented by: I.I.Starchenko

Рецензент: Л.В.Коба / Reviewer: L.V.Koba

Подано до редакції / Received: 10.02.2020