

УДК 616-097-0.85

М. Держинський, д-р біол. наук, Л. Пазюк, канд. біол. наук,
Н. Бузинська, канд. біол. наук, Н. Олексієнко, канд. біол. наук,
Н. Рослова, інж.

АДАПТАЦІЙНИЙ ВПЛИВ ОКСИТОЦИНУ ТА МЕЛАТОНІНУ НА РЕАКЦІЮ БУРСИ ФАБРИЦІУСА ПТАХІВ НА ТЛІ ХОЛОДОВОГО СТРЕСУ І ТЕМРЯВИ

Вивчено вплив гормонів окситоцину та мелатоніну на розвиток адаптаційної реакції бурси Фабріціуса птахів під час охолодження та при утриманні тварин у темряві. За умов дії гострого охолодження до -18°C та дії темряви у бурсі Фабріціуса птахів розвиваються морфологічні ознаки інволюції, що проявляються у зменшенні площі перерізу кіркової та мозкової речовини фолікулів. При охолодженні тварин протягом 3-х днів реакція бурси Фабріціуса не змінюється порівняно з 1-м днем охолодження, тоді як на 7-й день відбувається відновлення структури фолікулів бурси. Це можна пояснити посиленням процесів проліферації В-лімфоцитів у більш віддалені терміни охолодження, що є результатом активації компенсаторно-приспосувальних можливостей організму. При вивченні процесів реадaptaції птахів після дії темряви до нормального світлового режиму (14 год світло і 10 год темрява) встановлено, що на 3-й день реадaptaції поглиблюються ознаки інволюції бурси. Далі на 7-й день реадaptaції відбувається відновлення процесів розмноження та диференціації бурсозалежних лімфоцитів. Гормони окситоцин і мелатонін на тлі стресу (охолодження або темрява) пригнічують прояви інволюції бурси Фабріціуса у птахів, тобто мають виражений адаптаційний вплив на розвиток компенсаторно-приспосувальної реакції на стрес.

It was researched influence of melatonin and oxitocine under development of bursa Fabricii adaptation reaction during cool stress and darkness condition. During acute cooling (-18°C) and darkness condition morphological features of bursa Fabricii involution are observed. Morphological changes in bursa of Fabricius were similar both under 3-day cooling and darkness and 1-day cooling. On the contrary after 7-day cooling we observed restoration of bursa folliculi. It was shown that bursa of Fabricius involution features increased after 3-day readaptation period, On the contrary after 7-day readaptation it was observed restoration of B-cell reproduction and differentiation. Oxitocyn and melatonin during stress (cooling or darkness) decreased bursa Fabricii involution features.

Вступ. При дії на організм надзвичайних подразників відбувається формування аферентних сигналів, що активують гіпоталамо-гіпофізарно-нейросекреторну систему і відповідні ендокринні залози, але при цьому стрес має виражений пошкоджуючий вплив на лімфопоетичні органи (тимус, бурса Фабріціуса, селезінка, лімфатичні вузли) та процеси імуногенезу [1-4]. За даними літератури у сумці Фабріціуса птахів на тлі стресу спостерігають втрату як незрілих, так і зрілих В-лімфоцитів, а також збільшення кількості макрофагів, надходження CD4^{+} і CD8^{+} Т-лімфоцитів до бурси, що вказує на їх посередництво у гуморальному імунитеті. Як наслідок різко знижується процес імуногенезу та відповідь організму на різні стресогенні фактори [5].

На сьогодні актуальним є пошук різних біологічно активних речовин, що можуть мати імуностимулюючу або імунопротекторну дію під час дії стресу. Одним з претендентів на цю роль є гормон епіфізу мелатонін, що має онко-, геропротекторний та імуностимулюючий вплив, а також – гіпоталамічний гормон окситоцин, який володіє широким спектром дії на різні органи-мішені [6-8].

Серед різних видів стресу, на нашу думку, найбільш цікавою для вивчення на птахів є модель холодового стресу та темряви, тому що це відображає пристосування і виживаність організмів в процесі еволюції.

Ось тому метою даної роботи є вивчення впливу окситоцину та мелатоніну на реакцію бурси Фабріціуса птахів під час холодового стресу та на тлі утримання тварин у темряві.

Об'єкт та методи досліджень. Досліди проводили на самцях курей (*Gallus domesticus*) кросу HyLine (Голландія) одномісячного віку. В якості стресора використовували охолодження і темряву.

Для моделювання холодового стресу тварин щодово – на 2 год. розміщували в індивідуальних контейнерах у морозильній шафі при температурі -18°C протягом 1, 3, 7 днів, а для впливу темряви тварин утримували у темній кімнаті 1 добу, де вікна були закриті чорними шторами.

Піддослідні птахи на тлі охолодження або темряви (1 доба) отримували препарати окситоцину та мелатоніну.

Окситоцин – це нонапептидний гормон гіпоталамуса, який синтезується у крупноклітинних ядрах СОЯ та ПВЯ. Окрім добре відомого впливу окситоцину на непо-

смуговану мускулатуру та водно-сольовий обмін, існують дані про його дію на імунну систему [6]. Окситоцин вводили внутрішньом'язово в дозі 0,05 МО (міжнародних одиниць) на 100 г маси тіла піддослідної тварини.

Мелатонін – гормон, що продукується пінеалоцитами епіфіза. Він є похідним амінокислоти триптофану. Синтез мелатоніну відбувається вночі, тоді як серотоніну вдень. Мелатонін має стимулюючий вплив на функцію імунної системи через свої рецептори на імунокомпетентних клітинах тимуса і селезінки та периферичних імунокомпетентних клітинах (лімфоцити, нейтрофіли). Впливаючи одночасно на нейроендокринну та імунну системи мелатонін здійснює захист від стресу [7, 8]. Мелатонін вводили перорально в дозі 50 мкг на 100 г маси тіла піддослідної тварини. Оскільки досліджувані гормони вводили піддослідним птахам у вигляді ін'єкцій та перорально, що є додатковим стресорним фактором, то контролем слугували птахи, які отримували ін'єкції фізіологічного розчину без/з охолодженням або темряви для коректного порівняння результатів дослідів.

Під час проведення експерименту всіх птахів утримували в умовах одного віварію на стандартному харчовому раціоні. Птахів кожної серії досліду утримували в окремій клітці. Піддослідних птахів (за винятком серій з темрявою) утримували при єдиному світловому режимі, який складався з 14 год світлового періоду і 10 год – темного. Температура у віварії становила $22 - 24^{\circ}\text{C}$.

Наприкінці дослідів птахів усіх груп декапітували. Для морфологічних досліджень бурсу Фабріціуса фіксували у 10 % розчині формаліну. Далі обробляли традиційними гістологічними методиками і виготовляли гістологічні препарати. Зрізи бурси Фабріціуса завтовшки 5-6 мкм забарвлювали гематоксиліном Бюмера та еозином.

Про структурно-функціональні зміни у бурсі Фабріціуса свідчили вимірювання площі перерізу кіркової та мозкової речовини фолікулів у мкм^2 .

Одержані гістологічні препарати всіх серій досліду аналізували на світловому мікроскопі. Мікрофотографії робили за допомогою установки System Microscope з відеокамерою Olympus BX 41 hystem, обладнаного цифровою фотокамерою Camedia C-5050 zoom і програмним забезпеченням Olympus DP 80 FT 3.2 на базі комп'ютера Pentium 4 з операційною системою Windows XP. Обробку мікрофотографій гістологічних препаратів

отриманих на цифровому аналізаторі проводили за допомогою програми Medical Image Analyser (Version 1.0 (c) 2000 Powered by Ander).

Вірогідність різниці між морфометричними показниками контрольних та піддослідних груп птахів оцінювали за *t*-критерієм Стьюдента. Статистичну обробку здійснювали за допомогою програмного забезпечення STATISTICA for Windows 5.0.

Результати та їх обговорення. Відомо, що бурса Фабріціуса (фабріцієва сумка, Bursa of Fabricius) і тимус – це лімфоепітеліальні органи птахів. Фабріцієва сумка є у всіх представників класу птахів. Вона розташована біля клоаки. Паренхіма бурси містить фолікули, що нагадують будову часточок тимуса. У складі фолікулів розрізняють кору і мозкову речовину. Кора часточки бурси Фабріціуса представлена в основному щільним скупченням малих лімфоцитів. Ця часточка кори більш темна. Вона утворена В-лімфоцитами. Світліша за забарвленням мозкова речовина включає великі лімфоцити, плазматичні клітини, макрофаги, гранулоцити, ретикулярні клітини, дендритні клітини. Як і тимус бурса Фабріціуса піддається віковій інволюції [9, 10].

Аналіз гістологічних препаратів бурси Фабріціуса одномісячних курей виявив, що за даними морфометричних досліджень площі перерізу кіркової речовини фолікулів, але не мозкової речовини, на 1-й та 3-й дні охолодження вірогідно зменшуються порівняно з інтактним контролем (табл.). Одержані дані можуть свідчать про спустошення кори, що пояснюється виселенням В-клітин до мозкового шару і відповідно зменшення її розмірів. Оскільки площі перерізу мозкової речовини фолікулів бурси не змінювались, можна вважати це продовженням міграції В-лімфоцитів із бурси.

Отже, можна зробити висновок про пошкоджуючий вплив охолодження на гістоструктуру бурси і розвиток морфологічних ознак її інволюції.

Загалом виявлені нами зміни у бурсі при дії низьких температур співпадають з опублікованими даними інших авторів, де відмічали виселення В-клітин з бурси, зменшення її ваги та зниження загального імунітету [5].

Напроти, на 7-й день охолодження тварин вірогідно зростали площі перерізу кіркової зони фолікулів бурси Фабріціуса до $52,71 \pm 0,99$ мкм² порівняно з інтактним контролем $43,15 \pm 0,77$ мкм². При цьому площі перерізу мозкового шару фолікулів не змінюється, а отже свідчить про міграцію із бурси.

Таким чином, нами зроблено висновок про посилення процесів проліферації В-лімфоцитів у більш віддалені терміни охолодження. Одержані результати можна пояснити адаптацією птахів до охолодження на 7-й

день досліду, що є результатом активації компенсаторно-приспосувальних можливостей організму.

Якщо в якості стресора використовували утримання тварин 1 добу у темряві, характер реакції бурси Фабріціуса птахів не змінювався порівняно з охолодженням, що узгоджується з положенням про стрес як неспецифічної реакції організму на дію надзвичайно сильних подразників. При цьому нами встановлено виражене зменшення площі перерізу кіркової зони фолікулів і подальше виселення В-лімфоцитів з бурси, оскільки у мозковій речовині фолікулів не відбувається їхнього депонування (табл.).

При вивченні процесів реадaptaції птахів до нормального світлового режиму, який складався з 14 год світлового періоду і 10 год – темного нами одержано дані, згідно яких на 3-й день реадaptaції відбувається поглиблення морфологічних змін інволюції у бурсі. Площа перерізу кіркової зони фолікулів достовірно зменшувалась до $26,02 \pm 0,85$ мкм² порівняно з контрольними показниками $43,15 \pm 0,77$ мкм², але площа перерізу мозкової зони фолікулів навпаки зростала $189,74 \pm 9,54$ мкм² проти $150,52 \pm 3,45$ мкм² у контролі. Отримані дані можуть вказувати на гальмування розмноження В-лімфоцитів у корі фолікулів та їхню міграцію і депонування у мозковому шарі.

У подальшому на 7-й день реадaptaції птахів до нормального освітлення можна констатувати повну компенсацію морфології фолікулів бурси Фабріціуса птахів. Всі досліджувані показники фолікулів досягають значень контрольної серії досліду (табл.), а значить можна значити відновлення процесів розмноження та диференціації бурсозалежних лімфоцитів та загалом імунітету.

У наступних серіях досліду згідно мети даної роботи вивчали вплив гормонів на характер реакції бурси Фабріціуса птахів під час охолодження та впливу темряви.

Зокрема встановлено, що при одноразовому введенні одномісячним півням окситоцину або в іншій серії – мелатоніну на тлі охолодження вірогідно збільшуються площі перерізу кіркової речовини фолікулів бурси Фабріціуса (табл.). Якщо при охолодження ці показники дорівнюють вимірам: $39,13 \pm 0,62$ мкм², тоді при введенні як окситоцину, так і мелатоніну ми констатуємо посилення процесів проліферації В-лімфоцитів і як результат збільшення площі перерізу кіркової речовини фолікулів відповідно до $49,89 \pm 0,77$ мкм² і $46,44 \pm 0,94$ мкм². Разом з тим площа мозкової речовини фолікулів бурси при введенні окситоцину не змінюється, що можна пояснити лише міграцією В-лімфоцитів із бурси. Але при введенні мелатоніну площа перерізу мозкової зони фолікулів також вірогідно зростає, що вказує на депонування лімфоцитів у бурсі.

Таблиця 1. Морфологічні показники бурси Фабріціуса птахів у різних серіях досліду при стресі

Серії досліду	Площа перерізу фолікулів бурси (мкм ²)	
	Кіркова речовина	Мозкова речовина
Інтактний контроль + фізрозчин	$43,15 \pm 0,77$	$150,52 \pm 3,45$
Охолодження 1 день + фізрозчин	$39,13 \pm 0,62$	$159,54 \pm 3,83$
Охолодження 1 день + окситоцин	$49,89 \pm 0,77$ *	$147,78 \pm 3,21$
Охолодження 1 день + мелатонін	$46,44 \pm 0,94$ *	$161,33 \pm 3,28$ *
Охолодження 3 дні + фізрозчин	$38,79 \pm 0,78$	$158,66 \pm 4,04$
Охолодження 7 днів + фізрозчин	$52,71 \pm 0,99$	$157,64 \pm 3,48$
Темрява 1 день + фізрозчин	$36,49 \pm 0,62$	$142,44 \pm 3,55$
Темрява 1 день + мелатонін	$47,89 \pm 0,69$ **	$146,93 \pm 2,97$
Темрява 1 день + окситоцин	$47,62 \pm 0,65$ **	$160,47 \pm 3,96$
3 дні реадaptaції після темряви	$26,02 \pm 0,85$	$189,74 \pm 9,54$
7 днів реадaptaції після темряви	$41,22 \pm 0,99$	$144,66 \pm 4,56$

Примітка: * – різниця між інтактним контролем і серіями досліду вірогідна при $p \leq 0,05$;

* – різниця між охолодження 1 день + фізрозчин і серіями досліду вірогідна при $p \leq 0,05$;

** – різниця між темрява 1 день + фізрозчин і серіями досліду вірогідна при $p \leq 0,05$

Аналіз отриманих даних дозволяє констатувати, що на тлі охолодження одноразове введення окситоцину і мелатоніну сприяє пригніченню проявів інволюції бурси Фабріціуса у птахів порівняно з птахами, що піддавались охолодженню. Це проявляється розмноженням бурсозалежних лімфоцитів і збільшенням площі фолікулів бурси, тоді як холодний стрес викликає спустошення паренхіми фолікулів бурси і відповідно зменшення їхніх розмірів.

Коли птахам на тлі утримання у повній темряві вводили окситоцин або мелатонін, спостерігали аналогічний ефект як у попередніх серіях досліду на тлі охолодження, тобто нами також зроблено висновки про пригнічення морфологічних ознак інволюції у бурсі Фабріціуса під впливом окситоцину та мелатоніну за умов дії темряви.

Наведені вище дані узгоджуються з даними інших авторів про стимулюючий вплив мелатоніну на лімфоїдні органи [7, 8] та регулюючий вплив нонапептидів гіпоталамуса на функції імунної системи [6].

Таким чином, у підсумку можна зазначити, що окситоцин і мелатонін здійснювали адаптаційний ефект на прояви інволюції бурси Фабріціуса птахів при охолодженні та темряві.

Висновки. Досліджені види стресу (охолодження та темряви) мають пошкоджуючий вплив на бурсу Фабріціуса у птахів. Про це свідчить розвиток морфологічних ознак інволюції (зменшення площі перерізу кіркової та мозкової речовини фолікулів бурси). При охолодженні тварин протягом 3-х днів морфологічні показники інволюції бурси Фабріціуса не змінюються порівняно з 1-м днем охолодження, тоді як на 7-й день відбувається відновлення структури фолікулів бурси. Це можна пояснити посиленням процесів проліферації В-лімфоцитів у більш віддалені терміни охолодження, що є результатом активації компенсаторно-приспосувальних можливостей організму. При вивченні процесів реадaptaції

птахів після дії темряви до нормального світлового режиму (14 год світло і 10 год темряви) встановлено, що на 3-й день реадaptaції відбувається поглиблення інволюції у бурсі. Далі на 7-й день реадaptaції відбувається відновлення процесів розмноження та диференціації бурсозалежних лімфоцитів. Гормони окситоцину і мелатоніну на тлі стресу (охолодження або темряви) пригнічують прояви інволюції бурси Фабріціуса, тобто мають виражений адаптаційний вплив на розвиток компенсаторно-приспосувальної реакції птахів на стрес.

1. Акмаев И.Г., Гриневич В.В. От нейроэндокринологии к нейроиммуноэндокринологии // Бюллетень экспериментальной биологии. – 2001. – Т. 131. – N. 1 – С. 22 – 31.
2. Футорный С.М., Позур В.К. Состояние иммунной системы под влиянием стресса // Иммунология та алергология. – 2005. – N 1. – С. 48 – 52.
3. Elizabeth A. Koutsos, Kirk C. Klasing Factors modulating the avian immune system // Avian Immunology, Edited by: Fred Davison, Bernd Kaspers and Karel A. Schat. – Elsevier Ltd., 2008. – P. 323-338.
4. Sushil K. Mahata, Monisha De, Dhananjay Pal Asok Ghosh Effect of stress on the catecholamine content of the adrenal gland of intact and bursectomized chicks // Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology. – 2007. – Vol. 17, N 11. – P. 805 – 808.
5. Williams A.E., Davison T.F. Enhanced immunopathology induced by very virulent infectious bursal disease virus // Avian Pathol. – 2005. – Vol. 34, N 1. P. 4 – 14.
6. Кузник Б.И., Патеюк А.В., Джулай М.А., Данилишин Б.Ю., Чипизубова Н.С. Влияние цитомединов из передней и задней долей гипофиза на иммунитет и гемостаз у гипопизэктомированных цыплят // Иммунология. – 2005. – Т. 26. – С. 287 – 292.
7. Moore C. B., Siopes T. D., Steele C. T., Underwood H. Pineal melatonin secretion, but not ocular melatonin secretion, is sufficient to maintain normal immune responses in Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*) // General and Comparative Endocrinology. – 2002. – Vol. 126, N 3. – P. 352 – 358.
8. Siopes T.D., Underwood H.A. Diurnal variation in the cellular and humoral immune responses of Japanese quail: Role of melatonin // General and Comparative Endocrinology. – 2008. – Vol. 158, N 15. – P. 245 – 249.
9. Nurhaya Gülmez, Sahin Aslan. Histological and histometrical investigations on bursa of Fabricius and thymus of native geese // Tr. J. of Veterinary and Animal Sciences. – 1999. – Vol. 23. – P. 163 – 171.
10. Nagy N., Magyar A., Toth M., Olah I. Quail as the chimeric counterpart of the chicken: morphology and ontogeny of the bursa of Fabricius // J Morphol. – 2004. – Vol. 259, N 3. – P. 328 – 339.

Надійшла до редколегії 15.10.09

УДК 577.32(34)

К. Богуцька, канд. біол. наук,
П. Мінченко, канд. біол. наук

ВПЛИВ ІОНІВ КАДМІЮ НА СУПЕРПРЕЦИПІТАЦІЮ АКТОМІОЗИНУ СЕРЦЕВОГО ТА СКЕЛЕТНИХ М'ЯЗІВ

У представленій роботі досліджено вплив іонів кадмію на реакцію суперпреципітації актоміозину серцевого м'яза бика та скелетних м'язів кроля. Результати проведених досліджень свідчать, що іони кадмію за своєю дією виявляють інгібуючий вплив на реакцію суперпреципітації актоміозину серцевого та скелетних м'язів.

In the represented work the influence of cadmium ions on the reaction of superprecipitation of the both bull cardiac and rabbit skeletal muscles actomyosin has been investigated. The results of the conducted investigations testify that cadmium ions on their action on the cardiac and skeletal muscles actomyosin are inhibiting of the reaction of superprecipitation.

Вступ. В останні десятиліття спостерігається зростання техногенного навантаження на довкілля, у результаті якого в ньому збільшується кількість різних токсичних речовин, їхніх метаболітів, у тому числі і важких металів. Призводячи до різних патологій, ці фактори значною мірою впливають на життєдіяльність людини. Особлива роль належить важким металам, зокрема і іонам кадмію [1, 6, 9]. Кадмій є одним з продуктів радіоактивного розпаду, що накопичується в організмі людини та тварин, це токсичний елемент та антиметаболіт деяких есенціальних елементів. Основні шляхи надходження кадмію в організм – це шлунково-кишковий тракт та органи дихання. Обмін кадмію характеризується такими основними особливостями: 1) відсутністю ефективного механізму гомеостатичного контролю; 2) тривалим утриманням зі значним періодом напіввиведення, що становить для людини в середньому до 25 років; 3) інтенсивною взаємодією з іншими двовалентними металами як у процесі всмоктування, так і на тканинному рівні, тобто кадмій спричиняє виражену дію на обмін в

організмі деяких мікроелементів (цинк, кальцій, мідь, залізо, селен) та ін. [1]. Хронічна кадмієва інтоксикація, відома під назвою "ітай-ітай", вперше була виявлена в Японії. На сьогодні відомі та описані кадміози у людини (гостре і хронічне отруєння цим мікроелементом): 1) кадмієвий риніт; 2) кадмієва нефропатія з типовою протеїнурією; 3) кадмієва остеомаляція; 4) нейротоксичний синдром [1, 6]. Кадмієва кардіоміопатія, гіпертонія, емфізема легень та ураження печінки ще потребують додаткових експериментальних досліджень.

За останні роки вивчався вплив кадмію на організм у широкому аспекті: від його розподілу в тканинах до впливу на окремі структури (мембрани, білки, мітохондрії). Встановлено, що кадмій здатний до значного рівня кумуляції в організмі, є дослідження щодо впливу кадмію на різні процеси: він ініціює вільнорадикальне окислення ліпідів, є причиною пошкодження мембранних ліпопротеїнів, інактивації ферментів, пригнічення поділу клітин та ін. [5-8, 10]. Деякі сполуки кадмію відносять до шкідливих хімічних речовин, що мають прямий

© Богуцька К., Мінченко П., 2010