

УДК [57.084.1+616-08-039.71]:612.45

DOI <https://doi.org/10.35220/2078-8916-2024-54-4.6>**С.А. Шнайдер,**

доктор медичних наук, професор,

Державна установа «Інститут стоматології
та щелепно-лицевої хірургії Національної академії

медичних наук України»,

вул. Рішельєвська, 11, м. Одеса, Україна, індекс 65026

К.І. Ковешніков,

аспірант,

Державна установа «Інститут стоматології
та щелепно-лицевої хірургії Національної академії

медичних наук України»,

вул. Рішельєвська, 11, м. Одеса, Україна, індекс 65026

Ж.О. Новікова,

кандидат медичних наук, доцент,

Одеський національний медичний університет,

Валіховський провулок, 2, м. Одеса, Україна,

індекс 65082

Д.О. Якименко,

кандидат медичних наук, доцент,

Одеський національний медичний університет,

Валіховський провулок, 2, м. Одеса, Україна,

індекс 65082

І.Г. Топов,

кандидат медичних наук,

Одеський національний медичний університет,

Валіховський провулок, 2, м. Одеса, Україна,

індекс 65082

І.О. Цушко,

кандидат медичних наук,

Одеський національний медичний університет,

Валіховський провулок, 2, м. Одеса, Україна,

індекс 65082

Т.О. Лисенко,

асистент,

Одеський національний медичний університет,

Валіховський провулок, 2, м. Одеса, Україна,

індекс 65082

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ОЦІНКА ОРГАННОГО ІНДЕКСУ ІМУНОКОМПЕТЕНТНИХ ОРГАНІВ І НАДНИРКОВИХ ЗАЛОЗ ЩУРІВ НА ТЛІ МОДЕЛЮВАННЯ СТРЕСУ ТА ЛІКУВАЛЬНО-ПРОФІЛАКТИЧНИХ ЗАХОДІВ

Проблема формування та корекції хронічних стресових реакцій продовжує залишатися однією з найактуальніших у сучасній медицині через значний вплив стресу

на функціонування імунної та ендокринної систем. Систематична дія стресорних факторів спричиняє атрофічні зміни у лімфоїдних органах, гіперпродукцію глюкокортикоїдів і призводить до дисбалансу в гіпоталамо-гіпофізарно-наднирковій системі. У зв'язку з цим актуальним постає розроблення ефективних лікувально-профілактичних комплексів, здатних запобігати згубним наслідкам стресу та оптимізувати показники органного індексу імунокомпетентних органів і надниркових залоз. **Метою дослідження було** вплив лікувального комплексу препаратів на органний індекс імунокомпетентних органів і надниркових залоз щурів на тлі моделювання хронічного стресу. **Матеріали та методи.** У дослідженні використано 27 білих щурів-самців лінії Wistar (2-місячного віку), розподілених на три групи (по 9 тварин у кожній): інтактну (1-ша група), із моделлю звукового стресу (2-га група) та із моделлю звукового стресу й додатковим застосуванням лікувально-профілактичного комплексу (3-тя група). Тривалість експерименту становила 49 діб. Стрес моделювали за допомогою ультразвукового відлякувача (30–65 кГц), щоденно по 6 годин, з комбінованим додаванням звуку чутного діапазону. Тварини 3-ї групи отримували лікувально-профілактичні препарати перорально. Після закінчення експерименту визначали масу щурів, а також масу тимусу, селезінки та надниркових залоз для розрахунку органного індексу (у мг/100 г маси тіла). Статистичний аналіз результатів проводили за допомогою t-критерію Стьюдента ($p < 0,01$). **Результати дослідження.** У тварин, яким моделювали хронічний стрес, спостерігалось суттєве зменшення маси тимусу (на 47,9 %) та селезінки (на 26,5 %) порівняно з інтактною групою, що свідчить про виражену стрес-індуковану атрофію імунокомпетентних органів. Одночасно відзначено стрес-залежну гіпертрофію надниркових залоз (збільшення на 88,7 %). Тварини, які отримували комплекс препаратів, характеризувалися відновленням показників маси тимусу та селезінки, а також зменшенням гіпертрофії надниркових залоз майже до рівня інтактних щурів. **Висновки.** Застосування розробленого лікувально-профілактичного комплексу у тварин на тлі моделювання хронічного стресу сприяє ефективній корекції стрес-індукованих порушень, нормалізує роботу імунокомпетентних органів і зменшує ознаки гіпертрофії надниркових залоз. Отримані дані можуть стати підґрунтям для розробки сучасних стратегій профілактики й лікування захворювань, пов'язаних із хронічним стресом.

Ключові слова: хронічний стрес, імунокомпетентні органи, надниркові залози, органний індекс, лікувально-профілактичний комплекс, щури.

S.A. Shneider,

Doctor of Medical Sciences, Professor,

State Establishment "The Institute of Stomatology

and Maxillo-facial Surgery National Academy

of Medical Sciences of Ukraine",

11 Risheliyevska street, Odesa, Ukraine, postal code 65026

K.I. Koveshnikov,

post-graduate student,

State Establishment "The Institute of Stomatology

and Maxillo-facial Surgery National Academy

of Medical Sciences of Ukraine",

11 Risheliyevska street, Odesa, Ukraine, postal code 65026

Zh.O. Novikova,

Candidate of Medical Sciences, associate professor,
Odesa National Medical University,
2 Valikhovskiy lane, Odesa, Ukraine,
postal code 65082

D.O. Yakimenko,

Candidate of Medical Sciences, associate professor,
Odesa National Medical University,
2 Valikhovskiy lane, Odesa, Ukraine,
postal code 65082

I.H. Topov,

Candidate of Medical Sciences,
Odesa National Medical University,
2 Valikhovskiy lane, Odesa, Ukraine,
postal code 65082

I.O. Tsushko,

Candidate of Medical Sciences,
Odesa National Medical University,
2 Valikhovskiy lane, Odesa, Ukraine,
postal code 65082

T.O. Lysenko,

Assistant,
Odesa National Medical University,
2 Valikhovskiy lane, Odesa, Ukraine,
postal code 65082

**EXPERIMENTAL EVALUATION
OF THE ORGAN INDEX
OF IMMUNOCOMPETENT ORGANS
AND ADRENAL GLANDS IN RATS UNDER
STRESS MODELING AND THERAPEUTIC
AND PREVENTIVE MEASURES**

*The problem of the formation and correction of chronic stress reactions remains one of the most pressing issues in modern medicine due to the significant impact of stress on the functioning of the immune and endocrine systems. The systematic action of stress factors induces atrophic changes in lymphoid organs, hyperproduction of glucocorticoids, and leads to an imbalance in the hypothalamic-pituitary-adrenal system. In this regard, the development of effective therapeutic-prophylactic complexes capable of preventing the detrimental effects of stress and optimizing the organ index of immunocompetent organs and adrenal glands is a matter of high priority. **Aim of the study.** To evaluate the effect of a therapeutic drug complex on the organ index of immunocompetent organs and adrenal glands in rats under chronic stress modeling. **Materials and methods.** The study included 27 male Wistar rats (2 months old), divided into three groups (9 animals in each): an intact group (Group 1), a group exposed to acoustic stress (Group 2), and a group with acoustic stress plus additional administration of a therapeutic-prophylactic complex (Group 3). The experiment lasted for 49 days. Stress was modeled using an ultrasonic repeller (30–65 kHz), operated 6 hours daily, with the combined addition of*

*sound in the audible range. Animals in Group 3 received the therapeutic-prophylactic agents orally. At the end of the experiment, the body weight of the rats, as well as the weights of the thymus, spleen, and adrenal glands, were measured to calculate the organ index (mg/100 g of body weight). Statistical analysis was performed using Student's t-test ($p < 0.01$). **Results.** In animals subjected to chronic stress, there was a significant reduction in thymus mass (by 47.9 %) and spleen mass (by 26.5 %) compared to the intact group, indicating a pronounced stress-induced atrophy of immunocompetent organs. At the same time, stress-related hypertrophy of the adrenal glands was observed (an 88.7% increase). In the group receiving the therapeutic drug complex, thymus and spleen mass values were restored, and adrenal gland hypertrophy was reduced nearly to the level of intact rats. **Conclusions.** The use of the developed therapeutic-prophylactic complex in rats under chronic stress modeling effectively corrects stress-induced disorders, normalizes the function of immunocompetent organs, and reduces signs of adrenal gland hypertrophy. These findings can provide a basis for developing modern strategies for the prevention and treatment of diseases associated with chronic stress.*

Key words: chronic stress, immunocompetent organs, adrenal glands, organ index, therapeutic-prophylactic complex, rats.

Проблема формування та корекції хронічних стресових реакцій продовжує бути однією з актуальних у сучасній медицині через значний вплив стресу на імунну систему й ендокринну регуляцію організму [1, с. 138; 2, с. 537]. Систематична дія стресорних факторів здатна спричинити структурно-функціональні зміни у лімфоїдних органах, порушення проліферативної активності імунокомпетентних клітин, гіперпродукцію глюкокортикоїдів, що, своєю чергою, призводить до дисбалансу в роботі гіпоталамо-гіпофізарно-надниркової системи та розвитку низки патологічних процесів [1, 3]. За даними останніх досліджень, хронічний стрес асоціюється із системним запаленням, надмірним утворенням специфічних і натуральних антитіл, а також атрофічними змінами в органах імунної системи [2, 3].

Незважаючи на наявні експериментальні дані, питання комплексної профілактики та лікування стрес-індукованих порушень залишається недостатньо вивченим. У наукових публікаціях переважають дослідження, що зосереджені переважно на окремих аспектах патогенезу або монотерапії окремими препаратами [2]. Водночас впровадження багатокомпонентних лікувально-профілактичних комплексів, спрямованих на оптимізацію як імунної, так і ендокринної систем, потребує подальшого глибокого аналізу. Саме тому наше дослідження присвячене встановленню впливу лікувально-профілактичного комплексу препаратів на органний індекс імунокомпетентних

органів і надниркових залоз в умовах моделювання стресу, що, на нашу думку, сприятиме розробці більш ефективних стратегій профілактики та корекції стрес-асоційованих порушень.

Метою даного дослідження була оцінка впливу лікувального комплексу препаратів на органний індекс імунокомпетентних органів і надниркових залоз щурів на тлі моделювання стресу.

Матеріал та методи дослідження. Були проведені експериментальні дослідження, в процесі яких було використано 27 щурів-самців лінії Wistar стадного розведення, 2-х місячного віку. Тварин утримували у звичайних умовах віварію при природному освітленні та з вільним доступом до води та їжі. На протязі всього періоду проведення експерименту були дотримані чітко мікрокліматичні умови навколишнього середовища віварію: температура – (19-23°C) та вологість – (50–75 %). Експериментальні дослідження проводили в лабораторії біохімії та віварію ДУ «Інститут стоматології та щелепно-лицьової хірургії Національної академії медичних наук України» (ДУ «ІСЦЛХ НАМН»). Усі експерименти на щурах проводилися за затвердженими в ДУ «ІСЦЛХ НАМН» стандартними операційними процедурами, розробленими відповідно до Методичних вказівок Фармакологічного Комітету МОЗ України та Міжнародних правил роботи з лабораторними тваринами [4, 5].

Тварин розподілили на три групи, по 9 тварин в кожній:

1 – інтактна (стандартний раціон віварію), n=9;

2 – модель звукового стресу, n=9;

3 – модель звукового стресу + комплекс препаратів, n=9.

Тривалість моделювання патології склала два місяці.

Для моделювання стресу використовували ультразвуковий відлякувач шкідників LS-912 (виробник «Leaven Enterprise», Тайвань), який діє у чутному та ультразвуковому діапазонах і має частоту від 30 до 65 кГц, звуковий тиск 130 дБ, потужність 1,5 Вт на площі до 232 м². За рекомендацією виробника пристрій є ефективний для знищення диких щурів, мишей та комах.

Звуковий стрес ультразвуком у щурів 2 і 3 груп здійснювали 5 днів, за виключенням вихідних, по 6 годин на день за схемою: 2 дні – використовували ультразвук з частотою 30 кГц, наступні 2 дні – 40 кГц, наступні 2 дні – 50 кГц, наступні 2 дні – 60 кГц. Далі схему повторювали. Кожного дня до ультразвуку додавали чутний звук по 1 годині за допомогою фіксації кнопки контролю

звуку на відлякувачі. Пристрій встановлювали на одному рівні з клітинами зі тваринами на відстані 3 м від них.

Профілактику препаратами 3-ї групи щурів проводили кожен день зранку шляхом перорального введення комплексу.

Тривалість експерименту склала 49 днів. Перед етаназією, яку здійснювали під тіопенталовим наркозом (40 мг/кг), тварин позбавляли корму проти ночі, залишаючи вільний доступ до води. Визначали масу тіла безпосередньо перед некропією, після якої виділяли тимус, селезінку та надниркові залози для визначення маси, органного індексу (ОІ). Визначення ОІ (як співвідношення маси органу до маси тіла) дозволяє виявити ендокринно- та імунопов'язані ефекти стресової реакції [6].

При статистичній обробці отриманих результатів використовувалася комп'ютерна програма STATISTICA 6.1. для оцінки їхньої достовірності та похибок вимірювань. Статистично значущу відмінність між альтернативними кількісними ознаками з розподілом, відповідним нормальному закону, оцінювали за допомогою t-критерію Стюдента. Різницю вважали статистично значущою при $p < 0,01$ [7].

Результати та їх обговорення. Як показано у таблиці 1, хронічний звуковий стрес викликав у щурів достовірне зменшення органного індексу імунокомпетентних органів, а саме тимусу – на 47,9 %, селезінки – на 26,5 %. Стрес-індукована атрофія тимусу та селезінки є відомим фактом, але ці дані підтверджують наявність тривалої стресової реакції у щурів під впливом дії ультразвуку у комбінації зі звуком чутного діапазону. Тимус виконує центральну роль в імунному захисті та кровотворення – відбувається диференціація Т-лімфоцитів, які потрапляють з кісткового мозку. Селезінка контролює гуморальний і клітинний імунітет – здійснюється розмноження і антигензалежна диференціація лімфоцитів, а також утворення антитіл.

Навпаки, органний індекс надниркових залоз у щурів, яким моделювали хронічний звуковий стрес, збільшився на 88,7 %, що можна розглядати як стрес-залежну гіпертрофію надниркових залоз і є доказом наявності хронічного стресу у тварин 2-ої групи. Причина цього – активація гіпоталамо-гіпофізарно-надниркової системи, яка виконує основну нейроендокринну реакцією на стрес.

Так, в гіпоталамусі стрес активно індукує вироблення кортикотропін-релізінг-гормону та вазопресину, які через портальний кровотік

Таблиця 1

Органний індекс імунокомпетентних органів і надниркових залоз щурів при хронічному стресі та після його профілактики, М±m

Групи щурів	Показники	Органний індекс органів, мг/100 г маси		
		Тимус	Селезінка	Надниркові залози
Інтактна група, n=9		30,5±2,8	421,3±25,7	15,1±1,2
Хронічний стрес, n=9		15,9±1,3	309,7±17,6	28,5±1,9
		p<0,001	p<0,001	p<0,001
Хронічний стрес+ЛПК, n=9		26,4±1,9	375,2±24,1	17,3±1,1
		p>0,05 p ₁ <0,001	p>0,1 p ₁ <0,001	p>0,1 p ₁ <0,001

Примітка: p – достовірність відмінностей від показників в інтактній групі; p₁ – достовірність відмінностей від показників у групі «хронічний стрес».

гіпофіза стимулюють секрецію адренокортико-тропного гормону, який, своєю чергою, стимулює у надниркових залозах секрецію глюкокортикоїдів, що при хронічному стресі викликає гіпертрофію залоз. Одночасно зі стрес-залежною гіпертрофією надниркових залоз надлишок глюкокортикоїдів модулює синтез низки гормонів, які пригнічують імунну систему, що виражається у зменшенні органного індексу імунокомпетентних органів тимусу та селезінки. Крім того, підвищені рівні адреналіну, норадреналіну, кортизолу у крові при тривалому стресі можуть бути фактором пошкодження кровоносних судин та сприяти розвитку запалення.

Результати свідчать про те, що в умовах тривалого впливу ультразвуку змінної частоти у комбінації зі звуком чутного діапазону у тварин реалізуються характерні для формування стресу порушення з боку надниркових залоз, які пов’язані з гіперпродукцією глюкокортикоїдів, а також з боку імунокомпетентних органів, що виявляються у зменшенні маси тимусу та селезінки щурів.

Профілактика комплексом препаратів попереджувала порушення органного індексу тимусу, селезінки та надниркових залоз, які були викликані хронічним стресом. Так, регулярне введення профілактичних засобів на тлі моделювання стресу у щурів сприяло достовірному збільшенню органного індексу тимусу на 66,0 %, селезінки – на 21,1 % на тлі зниження на 39,3 % органного індексу надниркових залоз. Досліджувані показники у всіх випадках відповідали значенням у інтактних тварин.

Висновки:

1. У тварин, яким моделювали хронічний звуковий стрес, встановлено достовірне зменшення органного індексу імунокомпетентних органів (тимусу та селезінки) й суттєве збільшення

маси надниркових залоз порівняно з інтактними щурами, що свідчить про виражену стресову дію ультразвуку у комбінації зі звуком чутного діапазону.

2. Тривале використання лікувально-профілактичного комплексу препаратів у щурів на тлі моделювання хронічного стресу сприяє суттєвій нормалізації показників маси тимусу та селезінки, а також зменшенню гіпертрофії надниркових залоз, наближаючи досліджувані параметри до значень інтактних тварин.

3. Отримані дані підтверджують доцільність і ефективність застосування лікувально-профілактичного комплексу для корекції стрес-індукованих змін в імунній і ендокринній системах, що може стати основою для розробки сучасних стратегій профілактики й лікування хронічного стресу.

Література:

1. Divyashree S., Sarjan H., Yajurvedi H. Effects of long-term chronic stress on the lymphoid organs and blood leukocytes of the rat (*Rattus norvegicus*). *Can J Zool*. 2016. №94. P. 137-43. DOI: 10.1139/CJZ-2015-0150.
2. Cuervo P., Beldomenico P., Sánchez A., Pietrobon E., Valdez S., Racca A. Chronic exposure to environmental stressors enhances production of natural and specific antibodies in rats. *J Exp Zool A Ecol Integr Physiol*. 2018. №329. P. 536-46. DOI: 10.1002/jez.2218.
3. Wei L., Li Y., Tang W., Sun Q., Chen L., Wang X., Liu Q., Yu S., Yu S., Liu C., Ma X. Chronic unpredictable mild stress in rats induces colonic inflammation. *Front Physiol*. 2019. №10. P. 1228. DOI: 10.3389/fphys.2019.01228.
4. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. – Strasburg, Council of Europe, 1986. №123. P. 51.
5. Наказ України «Про затвердження Порядку проведення науковими установами дослідів, експе-

риментів на тваринах» // Міністерство освіти і науки України. 2012. № 249.

6. Експериментальні методи дослідження стимуляторів остеогенезу / А.П. Левицький та ін. : методичні рекомендації. Київ : ГФЦ, 2005. 50 с.

7. Рогач І. М., Керецман А. О., Сіткар А. Д. Правильно вибраний метод статистичного аналізу – шлях до якісної інтерпретації даних медичних досліджень. *Науковий вісник Ужгородського університету*. 2017. Вип. 2. С. 124-28.

References:

1. Divyashree, S., Sarjan, H., & Yajurvedi, H. (2016). Effects of long-term chronic stress on the lymphoid organs and blood leukocytes of the rat (*Rattus norvegicus*). *Canadian Journal of Zoology*, 94, 137-143. DOI: 10.1139/CJZ-2015-0150.

2. Cuervo, P., Beldomenico, P., Sánchez, A., Pietrobon, E., Valdez, S., & Racca, A. (2018). Chronic exposure to environmental stressors enhances production of natural and specific antibodies in rats. *Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological and Integrative Physiology*, 329, 536-546. DOI: 10.1002/jez.2218.

3. Wei, L., Li, Y., Tang, W., Sun, Q., Chen, L., Wang, X., Liu, Q., Yu, S., Yu, S., Liu, C., & Ma, X. (2019). Chronic unpredictable mild stress in rats induces colonic

inflammation. *Frontiers in Physiology*, 10, 1228. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphys.2019.01228>.

4. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes (1986). Strasbourg: Council of Europe. Retrieved from: <https://rm.coe.int/168007a67b>.

5. Nakaz Ukrainy «Pro zatverdzhennya Poryadku provedennya naukovymy ustanovamy doslidiv, eksperimentiv na tvarynakh» [Order of Ukraine «On Approval of the Procedure for Conducting Experiments and Experiments on Animals by Scientific Institutions»]. *Ministerstvo osvity i nauky Ukrainy – Ministry of Education and Science of Ukraine*. zakon.rada.gov.ua. Retrieved from: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z0416-12#Text> [in Ukrainian].

6. Levyc'kyj, A.P., Makarenko, O.A., Den'ga, O.V. & ta in. (2005). *Eksperymental'ni metody doslidzhennja stymuljatoriv osteogenezu : Metodychni rekomendacii' [Experimental methods for studying osteogenesis stimulators : methodological recommendations]*. Kyi'v : GFC.

7. Rohach, I.M., Keretsman, A.O., & Sitkar, A.D. (2017). Pravylno vybranyy metod statystychnoho analizu – shlyakh do yakisnoyi interpretatsiyi danykh medychnykh doslidzhen [Correct choice of statistical analysis method is the key way to high-quality interpretation of data of medical research]. *Visnyk stomatolohiyi – Bulletin of Dentistry*, 2(56), 124-28 [in Ukrainian].