

Г. І. Степанюк, О. Ю. Тозюк, А. П. Король, О. В. Кривов'яз

Вплив натрію 2-(тетразоло[1,5-с]хіназолін-5-ілтіо)ацетату на гістоструктуру наднирників щурів за умов хронічного іммобілізаційного стресу

Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова

Ключові слова: натрію 2-(тетразоло[1,5-с]хіназолін-5-ілтіо)ацетат, гістоструктура наднирників, 2-етилтіобензімідазолу гідробромід, хронічний іммобілізаційний стрес

Питання адаптації людини набуває сьогодні особливої актуальності в зв'язку з впливом великої кількості негативних соціальних, економічних та техногенних факторів. При цьому будь-який стресор викликає в організмі низку неспецифічних змін, відомих як загальний адаптаційний синдром (ЗАС) [1–3]. Результат адаптації залежить від рівня активності пристосувальних реакцій організму людини та призводить до формування резистентності або до дезадаптації та виникнення захворювання. Медицина об'єднує подібні патологічні стани загальним терміном «хвороби цивілізації», який включає захворювання, викликані зниженням захисних сил організму на фоні дії шкідливих антропо-екологічних факторів [3–5]. Тому актуальним завданням сучасної фармакології є пошук речовин, здатних підвищувати резистентність організму до різних негативних впливів.

Головною ознакою ЗАС є активація гіпоталамо-гіпофізарної системи. Під впливом адренкортикотропного гормону гіпофізу наднирники виробляють гормони, які відіграють важливу роль у реакції організму на стрес. Саме тому надниркові залози вважають стресчутливим органом, що відповідає за адаптацію до нових умов [1, 2]. У попередніх дослідженнях [6] нами встановлено, що натрію 2-(тетразоло[1,5-с]хіназолін-5-ілтіо)ацетат (сполука КВ-28) значно прискорював адаптацію щурів за умов

хронічного іммобілізаційного стресу (ХІС), що проявилось зростанням показників фізичної працездатності порівняно з тваринами контрольної групи.

Мета дослідження – охарактеризувати вплив натрію 2-(тетразоло[1,5-с]хіназолін-5-ілтіо)ацетату (сполуки КВ-28) на гістоструктуру наднирників за умов ХІС як одного з можливих аспектів його актопротекторної дії.

Матеріали та методи. ХІС моделювали шляхом утримування щурів у індивідуальних дерев'яних пеналах по 16 год/добу протягом 18 діб [7–9]. З метою усунення коливань гормонального фону експерименти проводили на білих нелінійних статевозрілих щурах-самцях масою 170–180 г. Усі дослідження проводили відповідно до міжнародних правил поводження з тваринами (Директива 86/309 Європейської спільноти від 24 грудня 1986 р.). Тварин було розподілено на 4 групи по 6 особин у кожній: I – інтактні тварини; II – щури за умов ХІС без корекції (контроль); III і IV – тварини, яким щоденно одноразово внутрішньоочередивно (в/о) протягом 18 діб на тлі ХІС вводили відповідно КВ-28 (1,7 мг/кг) та 2-етилтіобензімідазолу гідробромід (2-ЕТБІ, 32 мг/кг) у дозах, які дорівнювали їх ЕД₅₀ за плавальним тестом [6]. Тваринам інтактної та контрольної груп вводили еквівалентну кількість ізотонічного розчину натрію хлориду. Досліджувану сполуку, референс-речовину та чистий розчинник вводили щурам перед розміщенням у пенали.

Видалення наднирників щурів для дослідження змін їхньої морфологічної картини проводили під тіопенталовим наркозом на 18 добу експерименту, що відповідає стадії виснаження ЗАС [1, 2, 7]. Масовий коефіцієнт органа визначали

за формулою [10]. Зразки органів фіксували в 10 % розчині нейтрального формаліну, промивали в проточній воді, зневоднювали в спиртах зростаючої міцності та виготовляли парафінові блоки за загальноприйнятою методикою. Для гістологічного дослідження виготовляли серії зрізів товщиною 3–5 мкм. Депарафіновані препарати забарвлювали гематоксиліном та еозином і досліджували за допомогою світлової мікроскопії (мікроскоп Olympus BH-2).

Результати та їх обговорення. Розрахунок та аналіз показників масових коефіцієнтів наднирників тварин контрольної групи після впливу ХІС засвідчив значну гіпертрофію органа (масовий коефіцієнт зріс на 57,0 %). Це є наслідком стресорного впливу та характеризується морфологічною тріадою Сельє [1, 2]. Фармакологічна корекція ХІС сполукою КВ-28 та 2-ЕТБІ призводила до зменшення масового коефіцієнта надниркових залоз відповідно на 27,3 та 18,2 % порівняно з групою контрольної патології.

При мікроскопічному дослідженні надниркових залоз інтактних щурів встановлено, що вони мали притаманну цьому органу гістоструктуру (рис. 1) та були покриті сполучнотканинною капсулою, в якій розташовані кровоносні судини. У кірковій речовині добре ідентифікувалися клубочкова, пучкова та сітчаста зони. На межі кіркової та мозкової речовини розташовувалися венозні синуси, які впадали в центральну вену мозкової речовини. Мозкова речовина побудована з епінефроцитів та

норепінефроцитів, які мають овальну форму та розташовані навколо кровоносних судин.

При мікроскопічному дослідженні наднирників щурів з ХІС без фармакологічної корекції (контроль) були виявлені зміни в їхній структурі порівняно з інтактними тваринами (рис. 2). Сполучнотканинна капсула була потовщеною, з ознаками набряку. У клубочковій зоні загальна структура збережена, клітини полігональної форми утворювали клубочки. Поряд з клітинами, які за будовою були подібними до таких в інтактних тварин, виявлено вогнища некротизованих клітин, а також клітини з ознаками вакуольної дистрофії. Такі вогнища були інфільтровані лейкоцитами (рис. 2Б). Це призводило до порушення цитоархітектоники, клітини в таких ділянках не утворювали клубочків.

На відміну від інтактних щурів, у щурів контрольної групи на межі між клубочковою та пучковою зонами не виявляли малодиференційовані клітини полігональної форми з темною цитоплазмою, що вказує на виснаження регенераторних процесів (рис. 2А). Пучкова зона була представлена тяжами гіпертрофованих ендокриноцитів. Більшість ендокриноцитів мали світлу цитоплазму, яка містила чисельні вакуолі. Деякі клітини були в стані вакуольної дистрофії. Значна кількість клітин була некротизованою (рис. 2Б). Клітини сітчастої зони – кубічної форми, їхні розміри дещо менші, ніж у клітин пучкової зони.

Кровоносні судини в усіх зонах кіркової речовини були повнокровними.

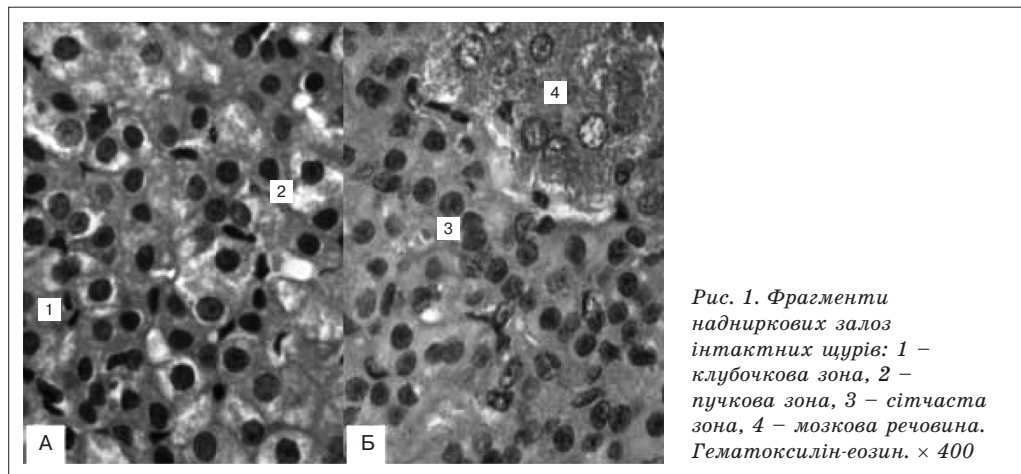


Рис. 1. Фрагменти надниркових залоз інтактних щурів: 1 – клубочкова зона, 2 – пучкова зона, 3 – сітчаста зона, 4 – мозкова речовина. Гематоксилін-еозин. $\times 400$

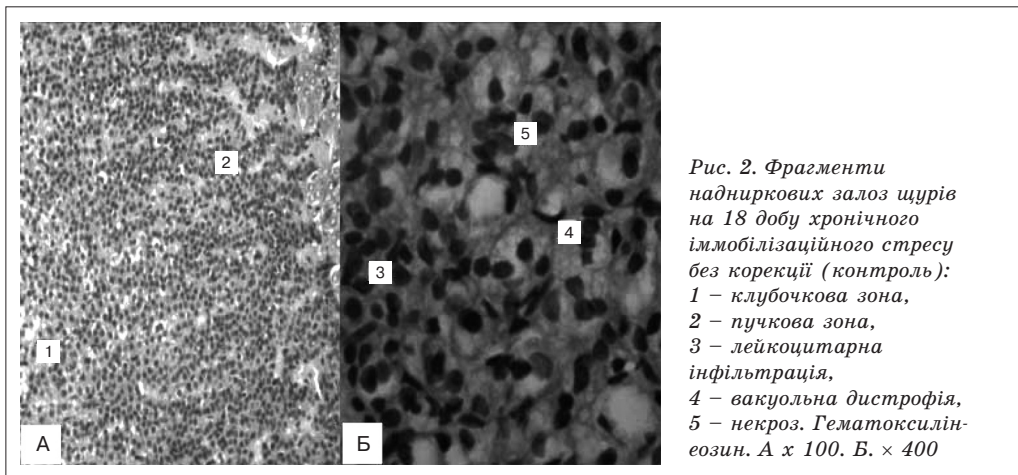


Рис. 2. Фрагменти надниркових залоз щурів на 18 добу хронічного іммобілізаційного стресу без корекції (контроль): 1 – клубочкова зона, 2 – пучкова зона, 3 – лейкоцитарна інфільтрація, 4 – вакуольна дистрофія, 5 – некроз. Гематоксилін-еозин. А x 100. Б. x 400

Стінки артеріол потовщені, ендотеліальна вистилка не суцільна, з ділянками десквамації та регенерації ендотеліоцитів. Просвіти венул розширені, у них виражена агрегація еритроцитів, а також підвищені адгезія та діapedез лейкоцитів через стінки венул. Просвіти капілярів кіркової речовини наднирників розширені, у багатьох виявляли складні еритроцитів. Базальна мембрана в стінці капілярів не однорідна, місцями розпушена. Навколо капілярів виявляли діapedезні крововиливи, набряк інтерстицію.

При мікроскопічному дослідженні наднирників щурів, які перебували за умов ХІС з корекцією 2-ЕТБІ, встановлено, що їхня загальна структура подібна до такої в інтактних тварин. Під капсулою чітко виявляли кіркову та мозкову речовини, між якими були розташовані малодиференційовані клітини (рис. 3).

При цьому в кірковій речовині відзначено гіпертрофію клубочкової та пучкової зони (рис. 3 А). Клітини клубочкової зони гіпертрофовані, їхня цитоплазма світла, вакуолізована, ядра збільшені в розмірах, нормохромні. Вогнищево виявляли незначну кількість некротизованих ендокриноцитів. Однак їхня чисельність значно менша, ніж у групі тварин з ХІС без корекції. Пучкова зона наднирників розширена, з великими кубічними та призматичними клітинами, які утворювали радіально направлені тяжі, орієнтовані перпендикулярно до поверхні наднирників. Цитоплазма більшої частини клітин містила чисельні дрібні вакуолі. Ядра клітин світлі, збільшені в розмірах з добре вираженими ядерцями.

Клітини сітчастої зони утворювали тяжі, які анастомозували між собою. У просторах між тяжами ендокриноцитів розташовані прошарки сполучної

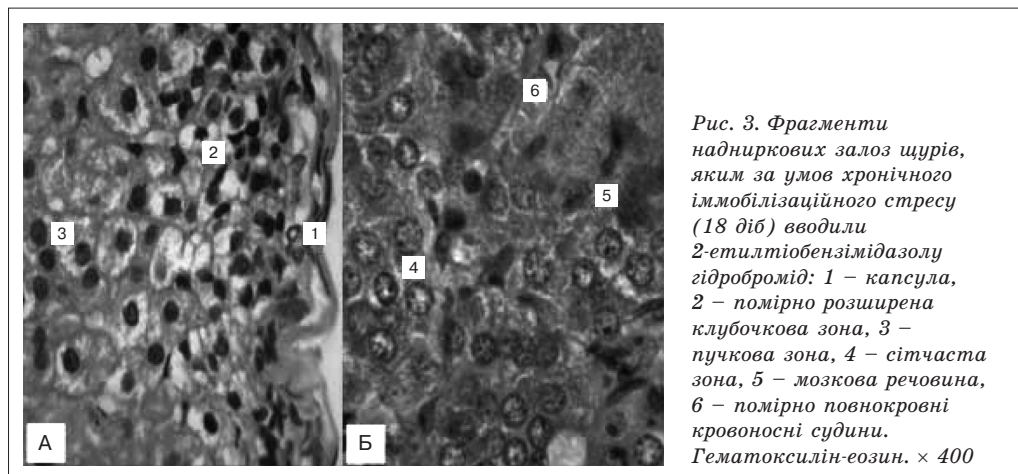


Рис. 3. Фрагменти надниркових залоз щурів, яким за умов хронічного іммобілізаційного стресу (18 дб) вводили 2-етилтіобензімідазолу гідробромід: 1 – капсула, 2 – помірно розширена клубочкова зона, 3 – пучкова зона, 4 – сітчаста зона, 5 – мозкова речовина, 6 – помірно повнокровні кровоносні судини. Гематоксилін-еозин. x 400

тканини з кровоносними капілярами. Кровоносні судини мікроциркуляторного русла помірно повнокровні, просвіти венул та капілярів – незначно розширені (рис. 3 Б). Однак на відміну від тварин з ХІС без корекції ендотеліальна вистилка в судинах – суцільна. Ендотеліоцити за будовою не відрізнялися від таких у інтактних тварин. Адгезія та діapedез лейкоцитів крізь стінки венул значно менше виражені. Мозкова речовина побудована з великих округлої та полігональної форми гіпертрофованих клітин. набряк інтерстицію в периваскулярних просторах не виражений. Діapedезні крововиливи відсутні.

У наднирниках тварин, яким вводили сполуку КВ-28 для корекції впливу ХІС, на 18 добу експерименту в переважній більшості спостережень були відсутні деструктивні зміни. Клітини клубочкової зони не відрізнялися від таких у тварин, які отримували 2-ЕТБІ. Клітини гіпертрофовані, ядра збільшені у розмірах, світлі з добре вираженими ядерцями. Ендокриноцити пучкової зони були гіпертрофованими, призматичної форми (рис. 4).

У сітчастій зоні переважна частина клітин зі світлою цитоплазмою та великими світлими ядрами. Клітини з темною цитоплазмою та гіперхромними ядрами зустрічалися значно рідше, ніж у групі тварин, яким проводили корекцію 2-ЕТБІ.

Просвіти кровоносних судин мікроциркуляторного русла помірно розширені, повнокровні, однак з цілісною ендотеліальною вистилкою. Відсутні

ділянки десквамації ендотеліоцитів, діapedез лейкоцитів та просочування плазми через стінки венул та капілярів. набряк інтерстицію в периваскулярних просторах та лейкоцитарна інфільтрація не виражені на відміну від щурів з ХІС без корекції.

Зміни в мозковій речовині наднирників були подібні до змін у групі тварин, яким вводили 2-ЕТБІ. Разом з цим на тлі дії КВ-28 відмічено гіпертрофію норепінефроцитів та епінефроцитів, збільшення розмірів ядер та відсутність вакуолей у цитоплазмі (рис. 4 Б). Ендотеліоцити та базальна мембрана за будовою подібні до таких у інтактних тварин.

Таким чином, на підставі отриманих даних можна констатувати, що ХІС (18 діб) викликав значні негативні зміни в морфологічній структурі наднирників щурів контрольної групи. Це проявилось дистрофічними та некробіотичними змінами ендокриноцитів, що вказує на виснаження адаптаційний процесів. Фармакологічна корекція ХІС сприяла попередженню гіпертрофії (зменшення масового коефіцієнта надниркових залоз) та збереженню цитоархітектоніки органа: зменшення деструктивних змін як у ендокриноцитах, так і в мікроциркуляторному руслі. Також при застосуванні КВ-28, як і 2-ЕТБІ, виявлено гіпертрофовані клітини клубочкової та пучкової зон та ділянки з підвищеною проліферацією клітин, що можна розцінювати як активацію адаптаційних механізмів. За ефективністю сполука КВ-28 у дозі 1,7 мг/кг не

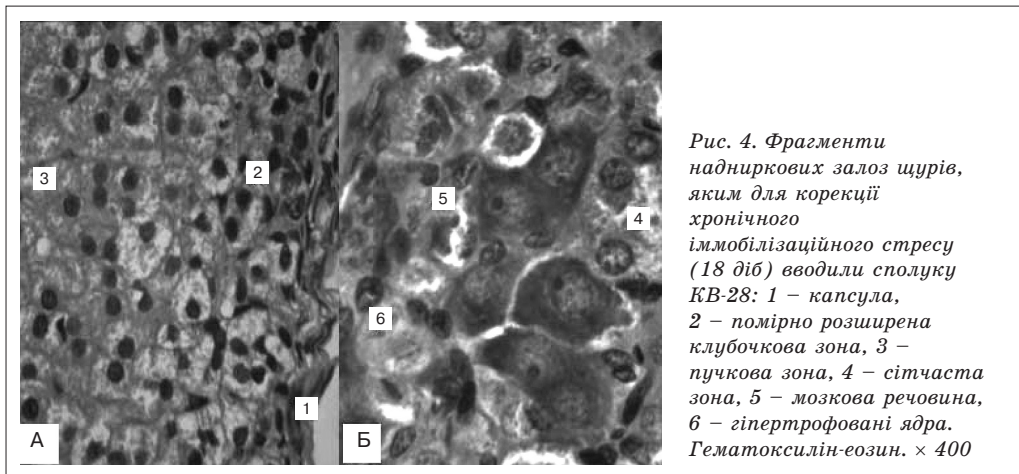


Рис. 4. Фрагменти надниркових залоз щурів, яким для корекції хронічного іммобілізаційного стресу (18 діб) вводили сполуку КВ-28: 1 – капсула, 2 – помірно розширена клубочкова зона, 3 – пучкова зона, 4 – сітчаста зона, 5 – мозкова речовина, 6 – гіпертрофовані ядра. Гематоксилін-еозин. $\times 400$

поступалася референс-речовині – 2-ЕТБІ (32 мг/кг).

Висновки

1. Застосування сполуки КВ-28 (1,7 мг/кг), як і 2-ЕТБІ (32 мг/кг), за умов ХІС (18 діб) сприяє збереженню гістоструктури наднирників, що проявляється менш вираженими некробіотичними змінами в ендокриноцитах, адгезії та діapedезу лейкоцитів і про-

сочування плазми крізь стінки судин порівняно з такими у контрольних щурів.

2. Вказані зміни на тлі введення КВ-28 та 2-ЕТБІ свідчать про активацію адаптаційних процесів у організмі щурів за умов ХІС.

3. Вплив натрію 2-(тетразолол[1,5-с]хіназолін-5-ілтіо)ацетату (сполука КВ-28) на гістоструктуру наднирників за умов ХІС може бути одним з аспектів реалізації його актопротекторної дії.

1. *Меерсон Ф. З.* Адаптация к стрессорным ситуациям и физическим нагрузкам / Ф. З. Меерсон, М. Г. Пшеникова. – Москва : Медицина, 1988. – 256 с.
2. *Селье Г.* Стресс без дистресса / под общ. ред. Е. М. Крепса; пер. с англ. – Москва : Прогресс, 1982. – 124 с.
3. *Chrousos G.* Stress and disorders of the stress system / G. Chrousos // *Nature Reviews Endocrinology*. – 2009. – V. 5, № 7. – P. 374–381.
4. *Банникова Р. А.* Синдром хронической профессиональной перегрузки: факторы риска, механизмы развития, стратегия профилактики / Р. А. Банникова, А. А. Погребняк, В. А. Куценко // *Спортивная медицина*. – 2013. – № 2. – С. 3–11.
5. *Каплан Е. Я.* Оптимизация адаптивных процессов организма / Е. Я. Каплан, О. Д. Цыренжапова, Л. Н. Шантанова. – Москва : Наука, 1990. – 94 с.
6. *Тозюк Е. Ю.* Сравнительная характеристика влияния натрия 2-(тетразолол[1,5-с]хиназолін-5-илтіо)ацетата и бемитила на физическую выносливость крыс в условиях длительной гипокнезии / Е. Ю. Тозюк, Г. И. Степанюк, Н. Г. Черноиван // *Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье»*. – 2013. – № 4. – С. 46–49.
7. Доклінічні дослідження лікарських засобів : [метод. рекомендації]; за ред. чл.-кор. АМН України О. В. Стефанова. – Київ : Авіцена, 2001. – 528 с.
8. Експериментальне вивчення нових адаптогенних засобів: Методичні рекомендації / Л. В. Яковлева, О. Я. Міщенко, Ю. Б. Лар'яновська [та ін.]. – Київ, 2009. – 35 с.
9. *Kojic Z.* Immobilization stress reduces oxygen consumption of the isolated interstitial rats testes cells / Z. Kojic, L. J. Scepanovic, T. Kostic // *Acta Physiol. Hung.* – 2011. – V. 98, № 1. – P. 45–50.
10. Доклінічне дослідження стреспротективної дії фармакологічних засобів: Методичні рекомендації / Т. О. Дев'яткіна, О. М. Важнича, Р. В. Луценко. – Київ, 2001. – 24 с.

О. Ю. Тозюк, Г. І. Степанюк, А. П. Король, О. В. Кривов'яз

Вплив натрію 2-(тетразолол[1,5-с]хіназолін-5-ілтіо)ацетату на гістоструктуру наднирників щурів за умов хронічного іммобілізаційного стресу

Пошук нових безпечних речовин, здатних підвищувати фізичну витривалість організму та сприяти адаптації до впливу різних негативних чинників, є актуальною задачею сучасної фармакології.

Мета дослідження – охарактеризувати вплив натрію 2-(тетразолол[1,5-с]хіназолін-5-ілтіо)ацетату (сполуки КВ-28) на гістоструктуру наднирників за умов хронічного іммобілізаційного стресу як одного з можливих аспектів його актопротекторної дії.

Препарати досліджували за допомогою світлової мікроскопії.

За даними гістологічних досліджень встановлено, що хронічний іммобілізаційний стрес (18 діб) викликав значні негативні зміни в морфологічній структурі наднирників щурів контрольної групи. Це проявилось дистрофічними та некробіотичними змінами ендокриноцитів, що вказує на виснаження адаптаційний процесів. Введення сполуки КВ-28 та референс-речовини 2-етилтіобензімідазолу гідроброміду сприяло збереженню цитоархітектоніки наднирників та значному зменшенню деструктивних змін як у ендокриноцитах, так і в мікроциркуляторному руслі порівняно з контролем. При мікроскопічному дослідженні наднирників щурів, яким проводили фармакологічну корекцію сполукою КВ-28 (1,7 мг/кг) та 2-етилтіобензімідазолу гідробромідом (32 мг/кг), виявлено гіпертрофовані клітини клубочкової та пучкової зони, а також ділянки з підвищеною проліферацією клітин, що можна розцінювати як активацію адаптаційних механізмів. Проте за ефективністю сполука КВ-28 у дозі 1,7 мг/кг не поступалася референс-речовині 2-етилтіобензімідазолу гідроброміду (32 мг/кг). Отримані дані вказують на здатність сполуки КВ-28 оптимізувати адаптаційні процеси в організмі тварин за умов експерименту.

Захисний вплив сполуки КВ-28 на гістоструктуру наднирників за умов хронічного іммобілізаційного стресу може бути одним з аспектів реалізації його актопротекторної дії.

Ключові слова: натрію 2-(тетразолол[1,5-с]хіназолін-5-ілтіо)ацетат, гістоструктура наднирників, 2-етилтіобензімідазолу гідробромід, хронічний іммобілізаційний стрес

Е. Ю. Тозюк, Г. И. Степанюк, А. П. Король, Е. В. Кривовяз
Влияние натрия 2-(тетразоло[1,5-с]хиназолин-5-илтио)ацетата на гистоструктуру надпочечников крыс в условиях хронического иммобилизационного стресса

Поиск новых безопасных веществ, повышающих физическую выносливость организма и способствующих адаптации к воздействию различных негативных факторов, является актуальной задачей современной фармакологии.

Цель исследования – охарактеризовать влияние натрия 2-(тетразоло[1,5-с]хиназолин-5-илтио)ацетата (соединения KB-28) на гистоструктуру надпочечников в условиях хронического иммобилизационного стресса как одного из возможных аспектов его актопротекторного действия.

Препараты исследовали с помощью световой микроскопии.

По данным гистологических исследований установлено, что хронический иммобилизационный стресс (18 суток) вызывает значительные негативные изменения в морфологической структуре надпочечников крыс контрольной группы. Это проявилось дистрофическими и некробиотическими изменениями эндокриноцитов, что свидетельствует об истощении адаптационных процессов. Введение соединения KB-28 и референс-вещества 2-этилтиобензимидазола гидробромида способствовало сохранению цитоархитектоники надпочечников и значительному уменьшению деструктивных изменений как в эндокриноцитах, так и в микроциркуляторном русле. При микроскопическом исследовании надпочечников крыс, которым проводили фармакологическую коррекцию соединением KB-28 (1,7 мг/кг) и 2-этилтиобензимидазола гидробромидом (32 мг/кг), выявлены гипертрофированные клетки клубочковой и пучковой зоны, а также участки с повышенной пролиферацией клеток, что можно расценивать как активацию адаптационных механизмов. При этом соединение KB-28 в дозе 1,7 мг/кг не уступало по эффективности референс-веществу 2-этилтиобензимидазола гидробромиду в дозе 32 мг/кг.

Полученные данные свидетельствуют о способности соединения KB-28 оптимизировать адаптационные процессы в организме животных в условиях эксперимента. Защитное влияние соединения KB-28 на гистоструктуру надпочечников в условиях хронического иммобилизационного стресса может быть одним из аспектов реализации его актопротекторного действия.

Ключевые слова: натрия 2-(тетразоло[1,5-с]хиназолин-5-илтио)ацетат, гистоструктура надпочечников, 2-этилтиобензимидазола гидробромид, хронический иммобилизационный стресс

O. Yu. Toziuk, G. I. Stepanyuk, A. P. Korol, O. V. Kryvoviaz
Effect of sodium 2-(tetrazol[1,5-c]quinazolin-5-ylthio)acetate on histological structure of the rats adrenals under chronic immobilization stress

An urgent task of modern pharmacology is to find new safe substances that can increase the physical endurance of the organism.

The purpose of the study is to characterize the influence of sodium 2-(tetrazol[1,5-c]quinazolin-5-ylthio)acetate (compound KB-28) on the histological structure of adrenals in chronic immobilization stress as one of the possible aspects of its actoprotective action.

The preparations were examined by light microscopy.

According to histological studies it was found that chronic immobilization stress (18 days) causes adverse changes in the morphological structure of adrenals in the control group of rats. This was manifested by degenerative and necrobiotic changes in endocrinocytes that indicates exhaustion of adaptation processes. Administration of the compound KB-28 and reference substance 2-ethylthiobenzimidazolium hydrobromide helped to preserve adrenal cytoarchitectonics. Also it was recorded a significant reduction of destructive changes in endocrine cells and in the microvasculature. A microscopic study of rat's adrenal glands, which in conditions of chronic immobilization stress were administrated compound KB-28 (1,7 mg/kg) and 2-ethylthiobenzimidazolium hydrobromide (32 mg/kg) showed hypertrophied cells of glomerular and beam area, as well as areas with increased cells proliferation. This can be regarded as the activation of adaptive mechanisms in animals. While, compound KB-28 at a dose of 1,7 mg/kg was not less effective comparing to the reference substance 2-ethylthiobenzimidazolium hydrobromide at a dose of 32 mg/kg.

The data obtained show the ability of the compound KB-28 to optimize the adaptation processes in animals under chronic immobilization stress. The protective effect of compound KB-28 on the histological structure of adrenals in chronic immobilization stress may be an aspect of the realization of its actoprotective action.

Key words: sodium 2-(tetrazol[1,5-c]quinazolin-5-ylthio)-acetate, histological structure of adrenals, 2-ethylthiobenzimidazolium hydrobromide, chronic immobilization stress

Надійшла: 2 листопада 2016 р.

Контактна особа: Тозюк Олена Юріївна, кандидат фарм. наук, кафедра фармації, Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова, буд. 56, вул. Пирогова, м. Вінниця, 21018. Тел.: + 38 0 97 448 74 19. Електронна пошта: elena.tozyuk@mail.ru