

3000 мг/кг и 5000 мг/кг) установлено, что гибели экспериментальных животных не происходило. ГЭФ относится к V классу токсичности веществ – практически нетоксичные вещества, по классификации токсичности веществ К.К. Сидорова. ГЭФ не проявляет ulcerогенного действия в дозах 20 мг/кг и 40 мг/кг. Незначительное ulcerогенное действие ГЭФ на слизистую оболочку желудка крыс выявлено только лишь в дозе 100 мг/кг. На модели этаноловых язв желудка ГЭФ не потенцировал ulcerогенного действия этилового спирта. ГЭФ не проявляет местнораздражающего действия на слизистую конъюнктивы глаза кроликов. ГЭФ является перспективным для дальнейших фармакологических исследований с целью изучения влияния на состояние коагуляционного гомеостаза при экспериментальном инсулиннезависимом сахарном диабете 2-го типа для предупреждения риска развития ангиопатий.

**Ключевые слова:** острая токсичность, ulcerогенное и местнораздражающее действие, метформин, густой экстракт фасоли.

mg/kg, 100 mg/kg, 1000 mg/kg, 3000 mg/kg and 5000 mg/kg) we have established that the death of the experimental animals have not occurred. The TBE refers to the V toxicity class of the substances i.e. practically non-toxic ones, according to the toxicity classification of substances by Sidorov K.K. The TBE shows no ulcerogenic effect at doses of 20 mg/kg and 40 mg/kg. A minor ulcerogenic action of the TBE has been revealed only at a dose of 100 mg/kg on the gastric mucosa of the rats. The TBE has not potentiated ulcerogenic activity of ethanol on the model of ethanol gastric ulcers. The TBE has not shown a local irritating action on the mucous conjunctiva eyes of the rabbits. The TBE is a promising medicine for the further pharmacological studies to investigate the effect on the state of coagulation homeostasis in experimental insulin-dependent type 2 diabetes in order to prevent the risk of angiopathy.

**Key words:** acute toxicity, ulcerogenic and local irritating effect, metformin, thick bean extract.

Стаття надійшла 20.05.2015 р.

Рецензент Бобирьов В.М.

УДК 616.37 – 002:613.86

Н. М. Слоболянник, К. С. Непорада, Д. Є. Ніколенко  
ВДНЗ України "Українська медична стоматологічна академія" м. Полтава

### МОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ В ПІДШЛУНКОВІЙ ЗАЛОЗІ В УМОВАХ ГОСТРОГО СТРЕСУ В ЗАЛЕЖНОСТІ ВІД СТРЕСОСТІЙКОСТІ ТВАРИН ТА НА ТЛІ ПРЕВЕНТИВНОГО ВВЕДЕННЯ МЕЛАНІНУ

На моделі гострого іммобілізаційного стресу на підставі светооптичного гістологічного дослідження доведено стресспротекторне дію меланіну у щурів, що виявляється високою регенераторної і секреторної активністю клітин, поліпшенням гемодинаміки і зменшенням проявів некробіоза підшлункової залози.

**Ключові слова:** стрес, стресостійкість, підшлункова залоза, меланін.

*Робота являється фрагментом НДР «Механізми розвитку патологічних змін в органах порожнини рота за різних умов та їх корекція» номер державної реєстрації 0113U005913.*

Всупереч розвитку і удосконаленню методів інтенсивної терапії гострого панкреатиту за останні декілька десятиліть, смертність суттєво не знизилась [8]. В Україні гострий панкреатит на третьому місці серед гострих захворювань органів черевної порожнини, захворюваність на гострий панкреатит за останні 20 років зросла удвічі і не має тенденції до зниження [3].

Хоча провідну роль у розвитку гострого панкреатиту відіграють жовчнокам'яна хвороба та вживання алкоголю [2, 7], гострий стрес також має суттєвий вплив на розвиток цього важкого захворювання. Враховуючи соціально-економічне, політичне напруження останнього часу, зростає увага до ролі гострого стресу, як важливого етіологічного чинника гострого панкреатиту [1]. На цьому тлі актуальним є питання пошуку та дослідження механізмів дії адаптогенів, в тому числі і рослинного походження, для профілактики стресорних ушкоджень підшлункової залози.

**Метою** роботи було довести на світлооптичному гістологічному рівні цитопротекторну дію меланіну на підшлункову залозу в умовах гострого іммобілізаційного стресу.

**Матеріал та методи дослідження.** Експерименти виконано на 43 щурах-самцях лінії Вістар, вагою 180-220 г з врахуванням біотичних норм згідно Європейської конвенції. Гострий іммобілізаційний стрес моделювали шляхом фіксації тварин на спині протягом 3 годин [5]. Визначення стресостійкості тварин проводили за допомогою нейроетологічного тесту «Відкрите поле» [4]. За 30 хвилин до моделювання гострого стресу щурам інтрагастрально через зонд вводили меланін фірми "Sigma" (США) в дозі 5 мг/кг. Забій проводили під гексеналовим наркозом (50 мг/кг) шляхом кровопускання. Об'єктом дослідження була підшлункова залоза тварин.

Для гістологічного та патоморфологічного дослідження підшлункову залозу фіксували у 10% розчині нейтрального формаліну. Після фіксації матеріал промивали через хлороформ та хлороформ-парафінову суміш і заливали у парафінові блоки. Після цього готували серійні зрізи

товщиною 5-6 мкм. Оглядові препарати, забарвлені гематоксилином та еозином, використовували для загальної оцінки стану досліджуваних тканин [6]. Вивчення забарвлених мікропрепаратів проводилось за допомогою світлового мікроскопу фірми «Olympus BX 41», а фотозйомка – на цифрову фотокамеру фірми «Olympus C 3040-A DUP» з використанням програми «Олімпус ДП Софт».

**Результати дослідження та їх обговорення.** На гістологічних препаратах тканини підшлункової залози щурів стресонестійкого типу, яким моделювали гострий іммобілізаційний стрес (мал. 1), винайдені некробіотичні зміни дифузного характеру. Так, серед клітин острівкового апарату залози виявляються клітини зі зморшкуватим темно-базофільним ядром, що знаходиться у цитоплазмі з оптично порожніми вакуолями. Дані морфологічні зміни демонструють явища фокального коліквационного некрозу клітин з неповним руйнуванням їх зовнішньої мембрани. Дані клітини знаходяться в периферійній частині острівка Лангерганса. Також зустрічаються клітини з частково лізованим ядром. Отже, дані зміни морфологічної будови клітин, що входять до складу острівкового апарату залози, свідчать про частково зворотні та незворотні деструктивні зміни в тканині підшлункової залози щурів, які підлягали впливу гострого експериментального стресу. В патогенезі даних змін, за даними літератури, підвищення секреторної активності підшлункової залози, порушення мікроциркуляції, захисних властивостей клітин з передчасною активацією ферментів безпосередньо в клітинах залози, що завершується некрозом клітин.

Також, в стані незворотної деструкції перебувають і клітини ацинусів підшлункової залози дослідних тварин (Рис. 1). На гістологічних препаратах це проявляється порушенням контурування стінок ацинарних структур. Ядра клітин темно-базофільні за рахунок конденсації хроматину, зморшкуватого вигляду. Цитоплазма клітин містить еозинофільні гранули, але у більшій кількості вона гомогенізованого вигляду з розповсюдженням базофілії по всій її площі. Також, зустрічаються клітини з повністю лізованим ядром. Проте, серед пошкоджених ацинарних структур залози також зустрічаються фігури мітозів, що свідчить про її регенераторну активність. Реактивні зміни на гострий стрес також виявлені і в стромі залози. Це проявилось набряканням міжацинарних прошарків сполучної тканини внаслідок підвищення судинної проникності, дрібно-вогнищевими діapedезними крововиливами з паретично-розширених судин. Ядра фібробластів мають світло-базофільний вигляд, що вказує на активацію їх функції.

При гістологічному дослідженні підшлункової залози стресонестійких щурів, яким до моделювання гострого іммобілізаційного стресу було попередньо введено меланін, виявлені деструктивні зміни дрібно-вогнищевого характеру (Рис. 2). Гістологічні зрізи тканини залози, зафарбовані гематоксилином та еозином, демонструють, що більша частина ацинусів залози знаходиться в стані секреторної активності. Клітини, що їх вистеляють, мають базофільне ядро, що розташоване переважно в базальних відділах цитоплазми, апікальна її частина заповнена еозинофільними гранулами секрету. Просвіт непошкоджених ацинусів повністю заповнений секреторними масами і не визначається. Міжацинарна строма набрякла, містить активовані фібробласти, артеріоли паретично розширені.

В ділянках некрозу підшлункової залози частина ацинусів має стертість контуру клітин, ядра їх в стані лізису, цитоплазма гомогенізованого вигляду з відсутністю розподілу на секреторні відділи, що відповідають базофільним і еозинофільним ділянкам. На межі між некротизованою тканиною залози і інтактними ацинусами визначена підвищена кількість мітозів, що демонструє активацію репаративної регенерації тканини органу.

Таким чином, превентивне застосування меланіну в групі стресонестійких тварин має захисні властивості, що проявляється підвищеною регенераційною активністю клітин тканини підшлункової залози і дрібно-вогнищевим характером її пошкодження внаслідок впливу стресорного фактору.

На гістологічних зрізах тканини підшлункової залози, вилученої у щурів зі стресостійкої групи після впливу гострого стресу (Рис. 3), виявлена майже непорушена будова ацинарних структур, острівкового апарату. Так, більша частина клітин, що вистеляє термінальні відділи проток екскреторної частини залози, знаходиться у фазі секреції. Ядра ацинарних клітин з переважанням еухроматину і чітко контурованим ядром відтиснені до базального краю цитоплазми еозинофільними секреторними гранулами. Базофільна зона навколо ядер виражена дуже слабо. Просвіти ацинусів не виявляються внаслідок заповнення їх секретом. Також, виявлені поодинокі клітини в ацинусах залози, що мають ознаки деструктивних змін. Останні проявляються в погіршенні контурування ацинарної клітини, гомогенізацією еозинофільної

цитоплазми, повним зникненням ядра, відсутністю поділу полюсів цитоплазми на базофільну і еозинофільну ділянки. Дані морфологічні і тінкторіальні зміни вищеописаних клітин, на нашу думку, пов'язані з передчасною активацією екзокринних ферментів і лізисом власних ультраструктурних елементів. Але, на відміну від значно розповсюджених некробіотичних змін тканини залози щурів із стресонестійкої групи за умов гострого стресу, у стресостійких щурів при моделюванні іммобілізаційного гострого стресу не відбулося розповсюдженого руйнування тканини підшлункової залози. Також, не були виявлені деструктивні зміни і в острівковому апараті. Його клітини мають світло-базофільне ядро з одним ядерцем, розташоване в центральній частині цитоплазми. Остання містить рихлі світло-базофільні включення. Острівок містить чисельні повнокровні капіляри.

В стромі залози виявлені артеріоли з гофрованого вигляду ендотеліальними клітинами, як наслідок вазоспазму під час експериментального стресу. Але еритроцити розташовані переважно в центральній частині просвіту судини і не виявляють ознак сладж-феномену. Тобто погіршення кровотоку в тканині підшлункової залози під час експериментального стресу в даній групі щурів виявлено мінімальним.

Гістологічні зрізи тканини підшлункової залози стресостійких щурів, яким до моделювання гострого стресу вводили меланін (Рис. 4), демонструють підвищену синтетичну активність ацинарних клітин та місцями їх проліферацію. Так, більшість ацинарних клітин містить темно-базофільне ядро, розміщене в парабазальній частині цитоплазми. Цитоплазма навколо останнього має світло-базофільний вигляд, що відповідає добре розвиненому гранулярному ендоплазматичному ретикулу. Апікальна частина клітин заповнена еозинофільними секреторними гранулами. Серед ацинарних клітин, що знаходяться в стані активного синтезу секрету, виявляються й такі, що мають по два темно-базофільних ядра, оточених вузьким обідком світло-базофільної цитоплазми, дані мітотичні фігури демонструють підвищення проліферативної активності секреторного епітелію залози.

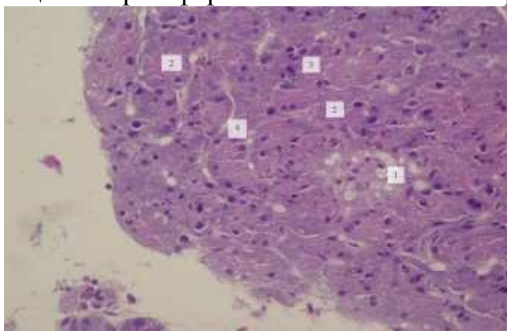


Рис. 1. Гістологічна будова підшлункової залози щура з групи стресонестійких тварин внаслідок дії гострого стресу. Заб. гематоксиліном та еозином. Зб.х400: 1-коліквацийний некроз клітин острівка Лангерганса; 2- некроз ацинарних клітин; 3- мітотичні фігури; 4- міжацинарний набряк.

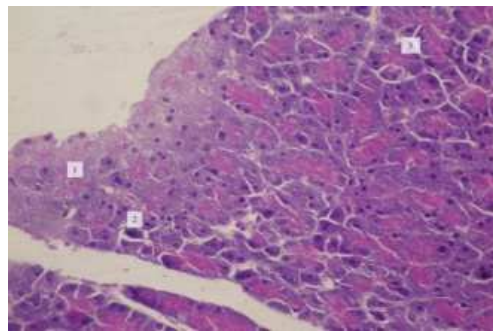


Рис. 2. Зміни в тканині підшлункової залози щура з групи стресонестійких тварин внаслідок дії гострого стресу за умов попереднього введення меланіну. Заб. гематоксиліном та еозином. Зб. х400: 1-ділянка некрозу; 2- фігури мітозів; 3- ацинуса в стадії секретії.

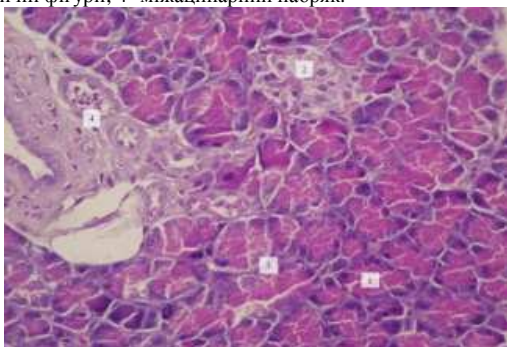


Рис. 3. Тканина підшлункової залози щура з групи стресостійких тварин під впливом гострого стресу. Заб. гематоксиліном та еозином. Зб. х400: 1. секрет в просвіті ацинуса; 2. острівець Лангерганса; 3. ацинарна клітина с каріолізисом; 4. повнокровна артеріола з гофрованою стінкою.

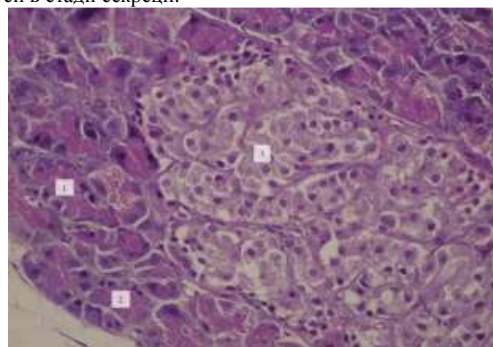


Рис. 4. Тканина підшлункової залози стресостійкого щура під впливом гострого стресу за умов попереднього введення меланіну. Заб. гематоксиліном та еозином. Зб. х400: 1. секреторні гранули в просвіті ацинуса; 2. мітотичні фігури; 3. острівець Лангерганса.

Острівковий апарат у даному випадку не виявив деструктивних змін. До його складу входять клітини з темно-базофільним та світло-базофільним ядром, що містить ядерце. У першому випадку клітини розташовані здебільш в периферійних відділах острівків Лангерганса.

Між групами клітин в тонких прошарках сполучної тканини не виявлено порушення гемодинаміки. Судини мікроциркуляторного русла повнокровні.

#### Насумок

Таким чином, у стресостійких тварин явища некрозу тканини, порушення мікроциркуляції підшлункової залози були більш вираженими, ніж у стресостійких тварин за умов гострого іммобілізаційного стресу. Застосування меланіну до моделювання гострого стресу має стреспротективні властивості, що проявляється високою регенераторною та секреторною активністю клітин, покращенням гемодинаміки та зменшенням проявів некробіозу тканини підшлункової залози.

*Перспективи подальших розробок у даному напрямку. В подальшому планується дослідити та обґрунтувати панкреопротекторну властивість меланіну у щурів за умов гострого стресу в залежності від стресостійкості тварин.*

#### Список літератури

1. Губергіц Н. Б. Деякі аспекти стресового панкреатиту / Н.Б. Губергіц, О. Д. Зубов, П. Г. Фоменко [та ін.] // Сучасна гастроентерологія. – 2015. - №1 (81). – С.81-84.
2. Дегтярева И. И. Заболевания органов пищеварения / И. И. Дегтярева // – К.: Демос, - 1999. – 312 с.
3. Дронов О.І. Гострий панкреатит: визначення, принципи діагностики та лікування / О.І. Дронов, І.О. Ковальська // Здоров'я України. – 2010. - №3. – С.28-29.
4. Майоров О. Ю. Нейродинамическая структура системных механизмов устойчивости к эмоциональному стрессу: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня доктора мед. наук / О. Ю. Майоров // – М., - 1988. – 45 с.
5. Селье Г. Очерки об адаптационном синдроме / Г. Селье // – М.: Медицина, - 1960. – 254 с.
6. Саркисов Д. С. Микроскопическая техника / Д.С. Саркисов, Ю.Л. Перова // – М.: Медицина, - 1996. – 362с.
7. Sekimoto M. JPN Guidelines for the management of acute pancreatitis: epidemiology, etiology, natural history, and outcome predictors in acute pancreatitis / M. Sekimoto, T. Takada, Y. Kawarada [et al.] // J. Hepatobiliary Pancreat. Surg. - 2006, 13(1), P. 10–24.
8. Whitcomb D. C. Clinical practice. Acute pancreatitis / D. C. Whitcomb // N. Engl. J. Med. May 18 - 2006, 354(20), P. 2142-2150.

#### Реферати

##### **МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЕ В УСЛОВИЯХ ОСТРОГО СТРЕССА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СТРЕССОУСТОЙЧИВОСТИ ЖИВОТНЫХ И НА ФОНЕ ПРЕВЕНТИВНОГО ВВЕДЕНИЯ МЕЛАНИНА**

**Слободяник Н.М., Непорада К.С., Николенко Д.Е.**

На модели острого иммобилизационного стресса на основании светооптического гистологического исследования доказано стресспротекторное действие меланина у крыс, проявляющееся высокой регенераторной и секреторной активностью клеток, улучшением гемодинамики и уменьшением проявлений некробиоза поджелудочной железы.

**Ключевые слова:** стресс, стрессоустойчивость, поджелудочная железа, меланин.

##### **MORPHOLOGICAL CHANGES IN THE PANCREAS IN ACUTE STRESS DEPENDING ON THE STRESS RESISTANCE OF ANIMALS AND UNDER PREVENTIVE MELANIN INTRODUCTION**

**Slobodanyk N. M., Neporada K.S., Nikolenko D.Ye.**

This research based on the simulation of acute immobilization stress in rats and using light optic histological study has proved stress-protective property of melanin. This property is manifested by high regenerative and secretory activity of the cells, hemodynamics improvement and decrease in signs of pancreatic necrobiosis.

**Key words:** stress, stress resistance, pancreas, melanin.

Стаття надійшла 24.05.2015 р.

Рецензент Старченко І.І.