

© Дзевульська І.В.

УДК: 611.814.3:611-018]:616-001.17-092.4-08

Дзевульська І.В.

Національний медичний університет імені О.О.Богомольця (бул. Т.Шевченка, 13, м. Київ, 01601, Україна)

МІКРОСКОПІЧНА КАРТИНА НАДНИРКОВИХ ЗАЛОЗ ПРОТЯГОМ МІСЯЦЯ У ЩУРІВ, КОТРИМ ПЕРШИХ СІМ ДІБ ВВОДИЛИ РОЗЧИН НАЕС-LX-5%

Резюме. Протягом місяця при мікроскопічному дослідженні у щурів, яким перші сім діб вводили розчин НАЕС-LX-5% у дозі 10 мл на кг загальний план будови надниркових залоз подібний до такого у тварин контрольної групи, яким перші сім діб вводили 0,9% розчин NaCl в аналогічній дозі. Виявлені повнокров'я, крайове стояння та підвищена адгезія лейкоцитів до ендотеліоцитів в посткапілярних венулах, а також збільшена чисельність макрофагоцитів в періваскулярних просторах у щурів, яким вводили розчин НАЕС-LX-5% були менш вираженими, ніж при використанні розчину Лактопротеїну із сорбітолом.

Ключові слова: морфологія, наднирникові залози, щури, розчин НАЕС-LX-5%, 0,9% NaCl, Лактопротеїн з сорбітолом.

Вступ

Широке застосування в клінічній практиці колоїдно-гіперосмолярних розчинів ставить нове завдання пошуку експериментальних моделей, які розроблені на науковій базі, підтвердженій точними взаємодоповнюючими методичними прийомами та з значною часткою ймовірності співставлені з аналогічним станом людини [Черешнев и др., 2011; Cook, Sackett, 1995].

Зміни, що виникають в наднирниках на тлі важкої патології є її морфологічним маркером і можуть бути представлені у вигляді безперервного ланцюга - від факторів ризику до розвитку термінальної надниркової недостатності і загибелі досліджуваного організму [Федотов, Косинец, 2012]. Доцільним є попереднє вивчення морфо-функціональних особливостей надниркових залоз під впливом препаратів саме у інтактних тварин, що дає можливість поглибити дослідження, розширити уявлення про те, що відбувається на живій моделі за відсутності дії патологічних чинників. На підставі отриманих фактів будуються теоретичне обґрунтування і уявлення стосовно процесів, що перебігають в організмі, приймаються робочі гіпотези і складаються прогнози щодо їх розвитку в умовах патології при застосуванні різних груп препаратів [Петров, Недогада, 2009; Черешнев и др., 2011].

Мета роботи - вивчити протягом місяця морфологічний стан надниркових залоз на тканинному і клітинному рівнях структурної організації у щурів при застосуванні перші сім діб експерименту розчину НАЕС-LX-5% у порівнянні з аналогічним введенням 0,9% розчину NaCl і Лактопротеїну з сорбітолом.

Матеріали та методи

У рамках наукового співробітництва між ДУ "Інститут патології крові та трансфузійної медицини АМН України" (м. Львів) і Вінницьким національним медичним університетом імені М.І. Пирогова та між Національним медичним університетом імені О.О. Богомольця і Вінницьким національним медичним університетом імені М.І. Пирогова, експериментальні дослідження дії інфузійних препаратів - 0,9% розчину NaCl, референс-препарату Лактопротеїну з сорбітолом та досліджуваного препарату НАЕС-LX-5% були виконані на 135 білих щурах-сам-

цях масою 160-180 г, отриманих із віварію Інституту фармакології та токсикології АМН України. Тварин утримували в умовах віварію ВНМУ ім.М.І.Пирогова на стандартному водно-харчовому раціоні, при вільному доступі до води та їжі у вигляді збалансованого комбікорму за встановленими нормами. Температуру у приміщенні, де утримували тварин, підтримували на рівні 24-25°C. Утримання та маніпуляції з тваринами проводили у відповідності до "Загальних етичних принципів експериментів на тваринах", ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001), також керувалися рекомендаціями "Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей" (Страсбург, 1985) і положеннями "Правил доклінічної оцінки безпеки фармакологічних засобів (GLP)". Під час роботи з лабораторними тваринами дотримувалися: правил гуманного відношення до експериментальних тварин та затвержені комітетом з біоетики Вінницького національного медичного університету (протокол № 1 від 14.01.2010 р.); Міжнародних вимог про гуманне поводження з тваринами, дотримуючись правил "Європейської конвенції захисту хребетних тварин, яких використовують з експериментальною та іншою науковою метою" (1984); методичних рекомендацій ДФЦ МОЗ України про "Доклінічні дослідження лікарських засобів" [Стефанов, 2001].

Тварини були розподілені на 3 групи: група № 1 - щури, яким проводили внутрішньовенну інфузію протягом 5-6 хв. у дозі 10 мл/кг у нижню порожнисту вену 0,9% розчину NaCl; група № 2 - щури, яким проводили внутрішньовенну інфузію протягом 5-6 хв. у дозі 10 мл/кг Лактопротеїну з сорбітолом; група № 3 - щури, яким проводили внутрішньовенну інфузію протягом 5-6 хв. у дозі 10 мл/кг препарат НАЕС-LX-5%. Колоїдно-гіперосмолярний розчин НАЕС-LX-5% розроблений в ДУ "Інститут патології крові та трансфузійної медицини АМН України" (м. Львів). Препарат містить в якості колоїдної основи полі(0-2-гідроксietил)крохмалю (середня молекулярна маса 130000 Дальтон, ступінь молекулярного заміщення 0,4) - 5%, а також багатоатомний спирт ксилітол - 5%, залужнювальний компонент натрію лактат - 1,5%, натрію хлорид - 0,8%, калію хлорид

- 0,03%, кальцію хлорид - 0,02%, магнію хлорид - 0,01%. Іонний склад препарату: Na^+ - 270,7 ммоль/л, K^+ - 4,0 ммоль/л, Ca^{++} - 1,8 ммоль/л, Mg^{++} - 1,1 ммоль/л, Cl^- - 146,6 ммоль/л, $\text{CH}_3\text{CH}(\text{OH})\text{COO}^-$ - 133,8 ммоль/л. Теоретична осмолярність препарату - 890 мосмоль/л [Патент 93776]. Осмолярність препарату складає 890 мосмоль/л, що у 3 рази перевищує осмолярність ізотонічного розчину натрію хлориду та осмолярність плазми крові.

Інфузію розчинів проводили у нижню порожнисту вену після її катетеризації в асептичних умовах через стегнову вену. Катетер підшивали під шкіру, його просвіт по всій довжині заповнювали титрованим розчином гепарину (0,1мл гепарину на 10 мл 0,9% розчину NaCl) після кожного ведення речовин. Інфузії виконували раз на добу на протязі перших 7 днів. Бриття тварин, катетеризацію магістральних судин та декапітацію тварин здійснювали в умовах прополового наркозу 60 мг/кг в/в.

Вилучення матеріала для гістологічного дослідження проводили на 1, 3, 7, 14, 21 та 30 добу експерименту. Надниркові залози фіксували в 10% розчині нейтрального формаліну. Після фіксації матеріал промивали, зневоднювали в серії спиртів зростаючої концентрації, проводили через хлороформ та заливали в парапласт [Волкова, Елецкий, 1982]. Зрізи тканини товщиною 7-8 мкм готували на ротаційному мікротомі, розміщували на склі, фарбували гематоксилін-еозином та заливали в канадський бальзам. Гістологічне дослідження надниркових залоз здійснювали на мікроскопі Олуптрих ВХ51 при збільшеннях: $\times 4$, $\times 10$, $\times 20$, $\times 40$, $\times 100$.

Результати. Обговорення

Вивчення гістологічної будови надниркових залоз у щурів, яким протягом 1-ї та 3-х днів вводили розчин HAES-LX-5\% у дозі 10 мл на кг, показало, що загальний план будови залоз подібний до такої у тварин контрольної групи яким протягом даних термінів вводили 0,9% розчин NaCl в аналогічній дозі.

Через 7, 14, 21 та 30 днів у щурів, яким протягом перших семи днів проводили інфузію розчину HAES-LX-5\% гістологічна структура надниркових залоз мала притаманну цьому органу будову і була подібна до такої у щурів контрольної групи, яким вводили 0,9% розчин NaCl в аналогічні терміни спостереження. Розташовані в сполучнотканинній капсулі судини кровоносного мікроциркуляторного русла були помірно повнокровними. В кірковій речовині надниркових залоз добре виражені клубочкова, пучкова та сітчаста зони. Між капсулою та клубочковою зоною розташовані тонкі прошарки малодиференційованих клітин. В клубочковій зоні ендокриноцити мали циліндричну форму. На межі між клубочковою та пучковою зонами розташована проміжна зона, яка містить малодиференційовані клітини. В пучковій зоні ендокриноцити мали полігональну форму, великі ядра та світлу вакуолізовану цитоплазму. В розташованій на межі кіркової та мозкової речовини надниркових залоз сітчастій зоні клітини були кубічної та

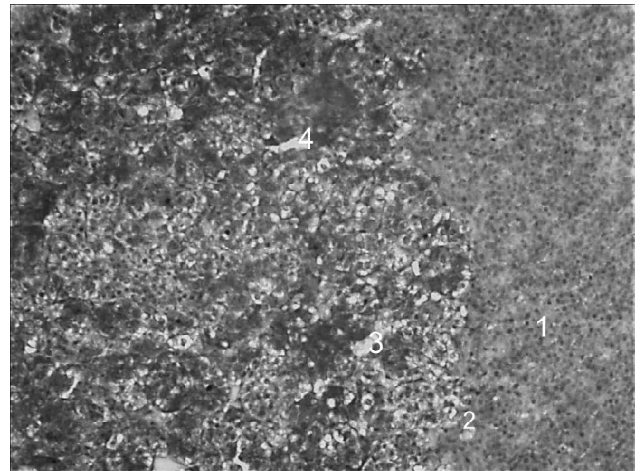


Рис. 1. Фрагмент кіркової та мозкової речовини надниркових залоз через 14 днів у щурів, яким протягом перших семи днів проводили інфузію розчину HAES-LX-5\% у дозі 10 мл на кг. Гематоксилін-еозин. Об'єктив $\times 10$. Окуляр $\times 10$. 1 - сітчаста зона кіркової речовини надниркових залоз; 2 - просвіт венули; 3 - мозкова речовина надниркових залоз; 4 - просвіт синусоїдного капіляра мозкової речовини надниркових залоз.

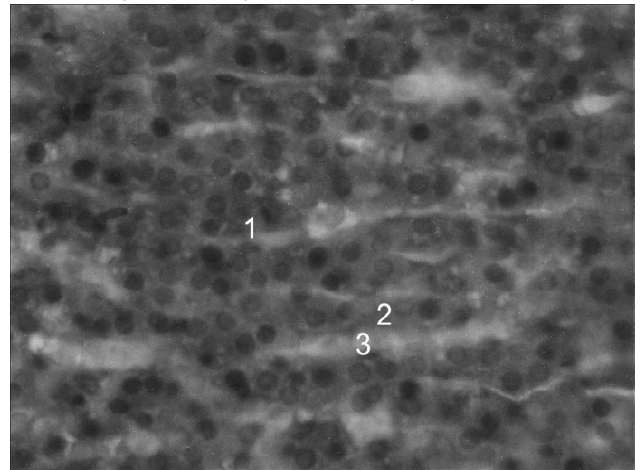


Рис. 2. Фрагмент кіркової речовини надниркових залоз через 21 добу у щурів, яким протягом перших семи днів проводили інфузію розчину HAES-LX-5\% у дозі 10 мл на кг. Гематоксилін-еозин. Об'єктив $\times 40$. Окуляр $\times 10$. 1 - пучкова зона кіркової речовини надниркових залоз; 2 - цитоплазма спонгіоцитів; 3 - розширені просвіти судин кровоносного мікроциркуляторного русла.

призматичної форми. Просвіти кровоносних капілярів розташованих в прошарках пухкої сполучної тканини кіркової речовини надниркових залоз були помірно повнокровними. Морфологічна будова мозкової речовини була подібна до такої у щурів контрольної групи в той же термін дослідження (рис. 1).

Таким чином, у щурів, котрим протягом перших семи днів проводили інфузію розчину HAES-LX-5\% у дозі 10 мл на кг на протязі 30 днів, гістологічна структура надниркової залози була аналогічною до щурів, котрі отримували 0,9% розчин NaCl .

Для досягнення більшого успіху при використанні

біологічних моделей ідеальним є вивчення морфофункціональних особливостей органів на молекулярному і клітинному рівнях. При вивченні механізмів дії та порівняння ефективності препаратів необхідно враховувати зміни, що відбуваються в тромбоцитах та інших клітинах крові, зміни поверхні їх мембран, ендотелію судин, порушення в складі крові та стан мікроциркуляції [Петров, Недогода, 2009; Cook, Sackett, 1995].

Порівнюючи гістологічну будову надниркових залоз у щурів, яким протягом перших семи днів вводили інфузію розчину HAES-LX-5% у дозі 10 мл на кг з тваринами, які перші сім днів експерименту отримували розчин Лактопротеїну з сорбітолом в аналогічній дозі [Дзевульська, 2015], встановлено, що повнокров'я кровоносних судин, крайове стояння та підвищена адгезія лейкоцитів до ендотеліоцитів в посткапілярних венулах, а також інфільтрація лейкоцитів в периваскулярних просторах у тварин, яким вводили розчин HAES-LX-5% були менш виражені, ніж в аналогічні терміни при використанні розчину Лактопротеїну з сорбітолом (рис. 2).

Таким чином, отримані відмінності свідчать, що при застосуванні розчину Лактопротеїну з сорбітолом по-

рівняно з HAES-LX-5% відмічається більша реакція клітин імунного захисту і більш інтенсивна активація процесів, спрямованих на усунення продуктів пошкодження і подразників, що приводить до максимального за даних умов відновлення в зоні ураження.

Висновки та перспективи подальших розробок

1. У щурів, яким перші сім днів вводили розчин HAES-LX-5% у дозі 10 мл на кг гістологічна картина надниркових залоз протягом місяця подібна до такої у тварин контрольної групи, яким перші сім днів вводили 0,9% розчин NaCl в аналогічній дозі.

2. Повнокров'я, крайове стояння та підвищена адгезія лейкоцитів до ендотеліоцитів в посткапілярних венулах, а також збільшена чисельність макрофагоцитів в периваскулярних просторах у тварин, яким вводили розчин HAES-LX-5% менш виражені, ніж при використанні розчину Лактопротеїну з сорбітолом.

В подальших дослідженнях планується вивчити корегуючий вплив даних інфузійних препаратів на структуру надниркових залоз після опіку шкіри.

Список літератури

- Волкова О.В. Основы гистологии и гистологической техники. Учебник / О.В.Волкова, Ю.К.Елецкий. - М.: Медицина, 1982. - 304с.
- Дзевульська І.В. Гістологічна будова надниркових залоз через 1, 3, 7, 14, 21 і 30 днів у щурів, яким протягом перших семи днів вводили розчин Лактопротеїну з сорбітолом /І.В.Дзевульська //Вісник Вінницького нац. мед. університету.- 2015.- Т.19, №1.- С.51-54.
- Патент 93776, Україна, МПК А 61К 9/08. Комплексний колоїдно-гіперосмолярний інфузійний препарат / Кондрацький Б.О., Новак В.Л., Кондрацький Я.Б. //Заявка № а 2009 08880; заявл. 25.08.99; опубл. 10.03.2011, Бюл. № 5.- 12 с.
- Петров В.И. Медицина, основанная на доказательствах /В.И.Петров, С.В.Недогода.- М.: Гэотар-медиа, 2009.- 142с.
- Стефанов О.В. Доклінічні дослідження лікарських засобів. Метод. реком. / ред. О.В.Стефанов.- Київ: Авіцена, 2001.- 528с.
- Федотов Д.Н. Становление компонентов надпочечников у человека и животных (гистофизиологические, фундаментальные и экспериментальные аспекты) /Д.Н.Федотов, В.А.Косинец.- Витебск: Витебский гос. мед. унив., 2012.- 129с.
- Экспериментальные модели в патологии: учебник /В.А.Черешнев, Ю.И.Шилов, М.В.Черешнева и др.- Перм. гос. ун-т.: Пермь, 2011.- 267с.
- Cook R.J. The number needed to treat: a clinically useful measure of treatment effect /R.J.Cook, D.L.Sackett //BMJ.- 1995.- №310.- С.452-454.

Дзевульська І.В.

МИКРОСКОПИЧЕСКАЯ КАРТИНА НАДПОЧЕЧНИКОВ В ТЕЧЕНИИ МЕСЯЦА У КРЫС, КОТОРЫМ ПЕРВЫЕ СЕМЬ ДНЕЙ ВВОДИЛИ РАСТВОР HAES-LX-5

Резюме. На протяжении месяца при микроскопическом исследовании у крыс, которым первые семь дней вводили раствор HAES-LX-5% в дозировке 10 мл на кг, общий план строения надпочечников был подобным животным контрольной группы, которым первые семь дней вводили 0,9% раствор NaCl в аналогичной дозе. Выявленные полнокровие, краевое стояние и повышенная адгезия лейкоцитов к эндотелиоцитам в посткапиллярных венулах, а также увеличенная численность макрофагоцитов в периваскулярных пространствах у крыс, которым вводили раствор HAES-LX-5%, были менее выражены, нежели при использовании раствора Лактопротеина с сорбитолом.

Ключевые слова: морфология, надпочечники, крысы, раствор HAES-LX-5%, 0,9% NaCl, Лактопротеин с сорбитолом.

Dzevulska I.V.

MICROSCOPIC PICTURE OF THE ADRENAL GLANDS DURING THE MONTH IN RATS, WHICH THE FIRST SEVEN DAYS WERE INJECTED SOLUTION OF HAES-LX-5%

Summary. During the month, by microscopic study in rats in which the first seven days injected solution of HAES-LX-5% at a dose of 10 ml per kg total plan structure of adrenal glands similar to that in the control group of animals which were injected the first seven days 0.9% NaCl solution in a similar dose. Discovered plethora, regional standing and increased adhesion of leukocytes to endothelial cells in postcapillary venules, and increased number of macrophages around vascular spaces in rats which were injected a solution of HAES-LX-5% were less pronounced than when using Lactoproteinum with sorbitol solution.

Key words: morphology, adrenal gland, rats, solution HAES-LX-5%, 0.9% solution of NaCl, Lactoproteinum with sorbitol.

Стаття надійшла до редакції 28.10.2014

Дзевульська Ірина Вікторівна - к.мед.н., доц., доцент кафедри анатомії людини Національного медичного університету імені О.О. Богомольця; +38 097 423-26-25