



В.Г. Ковешников, К.А. Фомина, В.Н. Волошин, Ю.А. Рыкова, И.А. Белик, А.Н. Гладкова, Д.А. Луговсков, Е.Ю. Шутов

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ТИОТРИАЗОЛИНА НА ОРГАНЫ И СИСТЕМЫ ОРГАНИЗМА

Луганский государственный медицинский университет

Ключові слова: тиотриазолін, толуол, корекція, ендокринна система, імунна система, кісткова система.

Ключевые слова: тиотриазолин, толуол, коррекция, эндокринная система, иммунная система, костная система.

Key words: thiotriazolin, toluene, correction, endocrine system, immune system, bone system.

В експерименті на 120 білих лабораторних щурах-самцях вивчено органи різних систем організму після двохмісячного внутрішньоочеревинного впливу тиотриазоліном у дозі 117,4 мг/кг. Встановлено, що його довготривале введення призводить до змін регуляторних систем організму, інтенсивних морфологічних змін. Інгаляційне надходження в організм парів толуолу в комбінації з тиотриазоліном призводить до менш виражених морфологічних перебудов з боку ендокринної, імунної та кісткової систем організму, в порівнянні з ізольованим впливом толуолу. При цьому, деяке підвищення функціональної активності досліджуваних органів указує на ефективність застосування тиотриазоліну в якості корегуючого фармакологічного засобу в умовах загальної інтоксикації організму.

В експерименте на 120 белых лабораторных крысах-самцах изучены органы различных систем организма после двухмесячного внутрибрюшинного воздействия тиотриазолином в дозе 117,4 мг/кг. Установлено, что его длительное введение приводит к изменениям регуляторных систем организма, интенсивным морфологическим изменениям. Ингаляционное поступление в организм паров толуола в комбинации с тиотриазолином приводит к менее выраженным морфофункциональным перестройкам со стороны эндокринной, иммунной и костной систем организма, по сравнению с изолированным воздействием толуола. При этом, некоторое повышение функциональной активности исследуемых органов указывает на эффективность применения тиотриазолина в качестве корректирующего фармакологического средства в условиях общей интоксикации организма.

In experiment on 120 white laboratory rats-males the organs of different systems of organism after two-month of intraperitoneal influence of thiotriazolin in a dose 117,4 mg/kg were studied. It was set, that it's protracted introduction causes the changes of the regulatory systems of organism, intensive morphological changes. The inhalation entering organism of steams of toluene in combination with thiotriazolin results in the less expressed morphofunctional alterations of endocrine, immune and bone systems of organism as compared to the isolated influence of toluene. Thus some increase of functional activity of the investigated organs specifies on efficacy of application of thiotriazolin as a correcting pharmacological medicine in the conditions of general intoxication of organism.

Загрязнение окружающей среды в Украине достигло уровня, превышающего таковой во многих развитых странах мира, что негативно отражается на состоянии здоровья населения. Украина занимает 5 место по количеству отравлений промышленными поллютантами [13]. Поэтому поиски улучшения состояния окружающей среды и улучшения условий труда рабочих, ежедневно подвергающихся воздействию экологически опасных факторов, в настоящее время выступают на первый план. Одно из условий поддержания здоровья – своевременное выведение из организма накопившихся вредных веществ (токсинов), вызывающих интоксикацию организма [2]. Наше внимание привлек тиотриазолин – оригинальный отечественный препарат, синтезированный в 1982 году на кафедре фармацевтической химии Запорожского ГМУ под руководством проф. И.А. Мазура. В настоящее время научные исследования многих авторов [1,6–9] направлены на всестороннее изучение фармакодинамики, в том числе и молекулярных аспектов механизмов действия тиотриазолина при различных заболеваниях и патологических состояниях. Наряду с выраженными антирадикальными свойствами препарата, в специальной литературе имеются данные [4,12] и о его способности модифицировать активность ферментов антиоксидантной системы организма. Так, доказана значительная реактивация антирадикальных (супероксиддисмутазы, каталазы) и перекисных (глутатионпероксидазы) ферментов, о чем свидетельствуют результаты экспериментальных и клинических исследований, посвященных фармакокоррекции различных

патологических состояний при применении тиотриазолина [10,15]. Выявленная И.Ф. Беленичевым с соавторами [1] на экспериментальной модели острой ишемии головного мозга способность тиотриазолина ингибировать процессы генерации активных форм кислорода также свидетельствует в пользу наличия у препарата антиоксидантных свойств. Медикамент, обладая многопрофильностью фармакодинамики, высокой фармакотерапевтической эффективностью и безопасностью, является весьма перспективным в плане его дальнейшего изучения в части экспериментальной и клинической фармакологии [1]. Наличие благоприятных (в плане создания различных лекарственных форм) физико-химических свойств тиотриазолина, высокая устойчивость при хранении, технологичность производства, а также относительная дешевизна, вследствие достаточной сырьевой базы для синтеза препарата, послужили еще одним убедительным аргументом в пользу перспективности внедрения этого фармакотерапевтического средства в медицинскую практику [5].

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Установить в эксперименте на белых лабораторных крысах, как реагируют органы и системы организма на хроническое введение тиотриазолина; определить, способен ли последний корректировать токсическое влияние на организм летучих компонентов эпоксидных смол. Данная работа выполнена в соответствии с планом научных исследований Луганского ГМУ и является частью кафедральной темы «Особенности морфогенеза костной, иммунной и эндо-



кринной систем под влиянием экологических факторов» (регистрационный №0103U006652).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Экспериментальное исследование проведено на 120 белых лабораторных половозрелых крысах-самцах (в возрасте 2,5 месяца с исходной массой 130–150 г), полученных из вивария ЛугГМУ. Содержание и манипуляции над животными выполнялись в соответствии с положением «Общих этических принципов экспериментов на животных», утвержденных первым национальным конгрессом по биоэтике (Киев, 2001 г.). Животных разделили на пять групп, по 24 особи в каждой. Первую составили крысы, которые в течение 2 месяцев получали ампулярный 2,5% раствор тиотриазолина (производства АТ «Галичфарм», г. Львов, разработка НВО «Фарматрон», г. Запорожье, утвержденный приказом МОЗ Украины №641 от 18.10.2007 г., регистрационный №UA/2931/01/02), который вводился ежедневно внутривентриально в течение 60 дней в дозе 117,4 мг/кг [3]. Вторую группу составили контрольные животные, которым внутривентриально вводили эквивалентное по объему количество изотонического физиологического раствора также в течение 2 месяцев. Третью группу составили животные, которые ежедневно в течение 4 ч (с 8.00 до 12.00) в сконструированной сотрудниками кафедры анатомии специальной затравочной камере подвергались ингаляционному воздействию парами толуола (одного из компонентов эпоксидных смол) в концентрации 10 ПДК. Четвертую группу составили крысы, которые после неблагоприятного токсического влияния ежедневно получали тиотриазолин по вышеизложенной схеме введения. Пятую группу составили интактные крысы, служившие в качестве контроля и находившиеся в стандартных условиях вивария в течение всего эксперимента. Через 2 месяца ежедневных манипуляций животных выводили из эксперимента на 1, 7, 15 и 30 сутки с целью изучения процессов реадaptации организма. Забой животных проводили в одно и то же время суток. Непосредственно после эфирного наркоза крыс взвешивали на лабораторных весах и декапировали. Объектом исследования являлись органы нейроэндокринной системы: гипоталамус, гипофиз, щитовидная железа, надпочечники; органы иммунной системы: тимус, селезенка, подмышечные и брыжеечные лимфатические узлы; дыхательной системы: легкие, легочной ствол; половой системы: яички, семенные пузырьки, предстательная железа; мышечной системы: сердечная, икроножная мышцы и гладкая мускулатура эпителия тонкой кишки; костной системы: плечевые, большеберцовые, теменные кости и обе челюсти. Головной мозг извлекали из полости черепа и взвешивали на электронных весах для мелких объектов. Далее из ямки турецкого седла аккуратно извлекали гипофиз. Щитовидную железу выделяли вместе с трахеогортанным комплексом и препарировали. Надпочечники, тимус и лимфатические узлы для сохранения капсулы и афферентных лимфатических сосудов забирали с окружающей жировой тканью и тщательно очищали. Единым комплексом извлекали легкие, сердце и главные сосуды. Кости скелета также чистили непосредственно во время забоя. Далее все органы визуально оценивали, взвешивали на аналитических весах ВЛР-200 с

точностью до 0,25 мг, измеряли длину, ширину, толщину с помощью штангенциркуля и фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина. Фиксацию материала, изготовление парафиновых блоков проводили с помощью общепринятых методик. По стандартной схеме изготавливали парафиновые топографические срезы толщиной 3–4 мкм, используя окраски гематоксилин-эозином, по Ван-Гизону и способом Маллори. Готовые гистологические препараты исследовали и фотографировали на цифровом морфометрическом комплексе, в состав которого входят: бинокулярный микроскоп Olympus VX-41, цифровой фотоаппарат Olympus C5050Z с пятимегапиксельной матрицей и персональный компьютер на базе процессора Athlon XP. С помощью комплекса получали высококачественные цифровые фотографии при объективе 4× и 10× для исследования макро-микроструктуры и при объективе 40× – для исследования микроструктуры органов с последующим проведением гистоморфометрии. Для электронно-микроскопического исследования кусочки органов размером 1 мм³ погружали в глутаральдегидный фиксатор по Тарновскому на 24 ч, а затем материал перекладывали в 1% тетраоксид осмия по Палладе на 1 ч. После дегидратации в этаноле нарастающей концентрации и абсолютом ацетоне материал заливали смесью эпоксидных смол (эпон-аралдит). Полимеризацию проводили в течение 36 ч при температуре 60°C. Ультратонкие срезы толщиной 0,5–1,5 мкм изготавливали на ультратоме ЛКБ-460. Срезы окрашивали метиленовым синим и пиронином. После исследования полутонких срезов проводили прицельную заточку пирамид блоков. Ультратонкие срезы изготавливали на ультрамикротоме УМТП-4 Сумского ВО «Электрон» (Украина), контрастировали в растворе уранилацетата и цитрата свинца по Рейнольдсу и просматривали в электронном микроскопе EM-125 того же производства, а далее документировали в виде негативных и позитивных фотоснимков.

Пробы крови брали у животных непосредственно перед забоем из подвздошных сосудов, затем центрифугировали с добавлением гепарина в течение 15 мин со скоростью 1500 об./мин. В лаборатории проводили общий анализ крови, определяли уровень тиреотропного гормона, трийодтиронина и тироксина, общее количество лимфоцитов, количество Т- и В-лимфоцитов, концентрацию иммуноглобулинов G, А, М. Первичную статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью пакета статистических программ для Windows и Excel, используя корреляционный и регрессионный методы анализа; достоверной считали вероятность ошибки менее 5% ($p \leq 0,05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Динамика массы тела крыс, получавших тиотриазолин, отличается от таковой в контрольной группе. Так, масса животных контрольной группы интенсивно возрастает в течение всех периодов наблюдения. За 2 месяца масса крыс увеличилась на 100,12% и составила 283,5±14,42 г (1 сутки наблюдения), по сравнению с исходными данными (141,67±4,4 г). В течение следующего месяца прирост массы происходит медленнее – на 7,88% за месяц (30 сутки наблюдения). Масса крыс, получавших антиоксидантный препарат тиотриазолин, за 2 месяца возросла на 68,24%



и составила $238,33 \pm 13,09$ г (1 сутки наблюдения), что на 15,93 % ($p \leq 0,05$) ниже, чем в группе контроля. В течение следующего месяца (при прекращении воздействия препарата), животные, наоборот, начали интенсивно набирать массу – 25,17% за месяц (30 сутки наблюдения), что всего на 2,45% ниже, чем в контроле.

Таким образом, масса тела крыс с возрастом увеличивается. Однако, в группе животных, подвергавшихся 60-дневному воздействию тиотриазолина, прирост массы тела менее выражен, нежели в контрольной группе, достигая максимума различий на 1 сутки наблюдения. После прекращения введения тиотриазолина в течение следующего месяца темп прироста массы повышается, и к 30 дню масса крыс практически не отличается от контроля. Следовательно, можно предположить, что длительное введение тиотриазолина приводит к изменениям регуляторных систем организма, что проявляется в отставании набора массы тела.

Органы основных интегрирующих систем организма (эндокринной, иммунной и нервной) очень чувствительно реагируют на 60-дневное введение тиотриазолина. На макроскопическом уровне в органах данных систем возникают структурные изменения, степень выраженности которых зависит от сроков, прошедших после воздействия [11,14]. Размерно-весовые показатели большинства органов достоверно отличаются, по сравнению с контрольными значениями, достигая максимума различий на 1 сутки наблюдения. В результате микроскопического, ультрамикроскопического исследований и анализа крови установлено, что применение тиотриазолина на фоне хронического ингаляционного поступления в организм паров толуола приводит к значительному улучшению морфофункционального состояния гипофиза, щитовидной железы, надпочечников, селезенки. В органах эндокринной системы установлено усиление пролиферативной активности гипофиза и щитовидной железы на фоне равномерного протекания процессов синтеза, депонирования и секреции гормональных продуктов. Отмечается активизация пролиферативных процессов и в лимфоидной ткани. Поэтому медикаментозная коррекция тиотриазолином адекватна при лечении больных с нарушениями эндокринного и иммунологического статуса. Со стороны костной системы установлено повышение ростовой активности костей и процессов их минерализации, улучшение их химического состава и механических свойств.

ВЫВОДЫ

На хроническое ежедневное внутрибрюшинное введение животным тиотриазолина в дозе 117,4 мг/кг реагируют практически все системы организма. Вследствие этого, эндокринная, нервная и иммунная системы активно участвуют в координации остальных систем организма, благодаря чему последний адекватно реагирует на измененные условия окружающей среды (в данном случае, на влияние экологически неблагоприятных летучих компонентов эпоксидных смол). Ингаляционное поступление в организм паров толуола в комбинации с тиотриазолином приводит к менее выраженным морфофункциональным перестройкам со стороны различных систем организма, по сравнению с изолированным воздействием толуола. При этом, некото-

рое повышение функциональной активности исследуемых органов указывает на эффективность применения тиотриазолина в качестве корректирующего фармакологического средства в условиях общей интоксикации организма. В дальнейшем планируется исследование по определению эффективности тиотриазолина в условиях хронического влияния эпихлоргидрина с помощью комплекса современных методов исследования.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Бленічев І.Ф.* Порівняльна оцінка антиоксидантної і протиішемної активності тіотриазоліну і пірацетаму за умов експериментальної ішемії головного мозку / *І.Ф. Бленічев* // Одеський медичний журнал. – 1999. – №4 (54). – С. 29–31.
2. *Бибик Е.Ю.* Тиотриазолин – потенциальное лекарственное средство с детоксикационной активностью / *Е.Ю. Бибик, К.А. Фомина, М.В. Ющак* // Український медичний альманах. – 2009. – Т. 12, №1. – С. 213–217.
3. *Болгов Д.М.* Лікувально-профілактична ефективність тіотриазоліну при синдромі тривалого роздавлювання: автореф. дис. ... канд. мед. наук: спец. 14.03.05 «Фармакологія» / *Д. М. Болгов*. – К., 2003. – 20 с.
4. *Волошин Н.А.* Тиотриазолин, тиоцетам, тиодарон в практике врача / *Н.А. Волошин, В.А. Визир, И.Н. Волошина*. – Запорожье: ЗГМУ, 2008. – 224 с.
5. *Георгієвський Г.В.* Аналіз і стандартизація препарату «Тіотриазолін» та його лікарських форм / *Г.В. Георгієвський, О.І. Гризодуб, І.А. Мазур* // Фармацевтичний журнал. – 1995. – №2. – С. 86–88.
6. *Дрогвоз С.М.* Порівняльна ефективність вітчизняних гепатопротекторів за умов ураження печінки тетрацикліном / *С.М. Дрогвоз, Н.В. Харченко, Т.В. Бородіна* // Ліки. – 1999. – №5–6. – С. 79–82.
7. *Дрогвоз С.М.* Механізм гепатозахисної дії тіотриазоліну / *С.М. Дрогвоз, С.І. Сальнікова* // Вісник фармакології. – 1995. – №2. – С. 73–76.
8. Експериментальна терапія тетрахлорметанового гепатиту тіотриазоліном / [*Стець В.Р., Мазур І.А., Книш Є.Г., Стець О.В.*] – Ліки. – 1995. – №1. – С. 80–82.
9. *Лысенко Е.А.* Биохемиллюминисцентный анализ фармакодинамики потенциальных церебропротекторных средств in vitro / *Е.А. Лысенко, Е.Ю. Бибик* // Мат. IV Конгресу студентів та молодих вчених. – Тернопіль, 2000. – С. 336–337.
10. *Нейко С.М.* Тіотриазолін як засіб патогенетичної терапії хронічного гепатиту / *С.М. Нейко, І.М. Шевчук* // Журн. АМН України. – 1998. – Т. 4, №4. – С. 735–743.
11. Органометрические показатели щитовидной железы после двухмесячного воздействия тиотриазолина / [*Фомина К.А., Сикора В.В., Стрига А.С., Стутин В.А.*] // Український морфологічний альманах. – 2010. – Т. 8, №1. – С. 108–109.
12. *Савченкова Л.В.* Прооксидантно-антиоксидантний гомеостаз у больных с химическим ожогом пищевода на фоне фармакотерапии тиотриазолином / *Л.В. Савченкова, Д.А. Филатов* // Український журнал екстремальної медицини ім. Г.О. Можая. – 2009. – Т. 10, №2. – С. 129–132.
13. *Фомина К.О.* Екологічна загроза населенню Донбасу / *К.О. Фомина* // Мат. IV міжнар. наук.-практ. конф. «Актуальні питання щодо аналізу стану здоров'я», 23 квітня 2010 р. – Перспективи медицини та біології. – 2010. – Т. 2, №1 (додаток). – С. 76.
14. *Фомина К.О.* Кореляційний зв'язок між органометричними показниками гіпофізу щурів контрольної групи та після впливу тіотриазоліну / *Фомина К.О.* // Мат. Ювілейного X з'їзду ВУЛТ. – Українські медичні вісті. – 2009. – Т. 8, Число 1–4 (68–71). – С. 244.
15. Функціональні і патобіохімічні зміни мозкової тканини за умов експериментальної ішемії та їх корекція сумішшю тіотриазоліну та пірацетаму / [*Бленічев І.Ф., Мазур І.А., Стець В.Р. та ін.*] // Фізіологіч. журн. – 1998. – Т. 44, №3. – С. 16.