УДК: 616-092.18-008.9:661.177

ВПЛИВ СУБТОКСИЧНИХ ДОЗ СКЛАДНИХ ОРГАНІЧНИХ СУМІШЕЙ НА ОСНОВІ ПОЛІОЛІВ НА МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ТКАНИН ОРГАНІВ БІЛИХ ЩУРІВ

О.В. Сіренко
Харківська медична академія післядипломної освіти, Україна

Визначено здатність субтоксичних доз складних органічних сумішей пригнічувати активність флавін- і піридинзалежних дегідрогеназ, наслідком чого є інгібіція ОВП і відновлювальних синтезів в організмі щурів, розвиток дистрофічних і атрофічних змін у тканинах печінки, нирок, головного мозку, надниркників, що може супроводжувати незворотню деструкцію тканин даних органів. Тривалий вплив 1/100 DL_{50} досліджуваних речовин призводить до виснаження адаптаційних механізмів, порушення гомеостазу, внутрішньоклітинного метаболізму, білкового та вуглеводного обміну.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: поліоли, дегідрогенази, детоксикація

ВЛИЯНИЕ СУБТОКСИЧЕСКИХ ДОЗ СЛОЖНЫХ ОРГАНИЧЕСКИХ СМЕСЕЙ НА ОСНОВЕ ПОЛИОЛОВ НА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ТКАНЕЙ ОРГАНОВ БЕЛЫХ КРЫС

Е.В. Сиренко
Харьковская медицинская академия последипломного образования, Украина

Установлена способность субтоксических доз сложных органических смесей угнетать активность флавин- и пиридинзависимых дегидрогеназ, что сопровождается ингибицией ОВП и восстановительных ситезов в организме крыс, развитием дистрофических и атрофических изменений ткани печени, почек, головного мозга, надпочечников, соответствующих необратимой деструкции тканей данных органов. Длительное воздействие 1/100 DL_{50} иссдедуемых веществ приводит к истощению адаптационных механизмов, нарушениям гомеостаза, внутриклеточного метаболизма, белкового и углеводного обменов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: полиолы, дегидрогеназы, детоксикация

THE MORPHOLOFANCTIONAL DESTROYS IN THE ORGANS TISSUE OF WHITE RATS, TAKEN A SUBTOXIC DOZES OF ORGANIC MIXES, BASED ON THE POLIOLES

E.V. Sirenko
Kharkov medical academy of postgraduate education, Ukraine

The ability of subtoxic dozes of organic mixes to ingibit activity of flavin- and piridin dehydrogenases, the disorders of ORP and synthesis processes was presented. It was registered the morphologic disoders in the tissue of liver, had brain, kidney, adrenal glands: the degenerative atrophy, caused toxic action of organic substances, which negatively influences tissues of organs. Influence of ksenobiotics caused some changes of a functional adaptive pressure of a homeostasis, endocellular metabolism, albuminous and exchanges.

KEY WORDS: polioles, dehydrogenases, detoxication

Однією з важливих проблем сучасної медичної науки і практики є постійно зростаюче антропогенне навантаження на організм великої кількості хімічних речовин, які використовуються у побуті та народному господарстві [1, 2]. Визначення впливу ксенобіотику на морфофункціональний стан і метаболічні процеси у тканинах внутрішніх органів експериментальних тварин є важливим етапом оцінки змін гомеостазу, здатності організму до адаптації шляхом обгрунтування механізмів біологічної дії хімічної речовини [3]. Дані наукової літератури свідчать, що провідним органом детоксикації є печінка, однією з функцій якої є катаболізм ксеногенних агентів, тому дезинтеграція обмінних процесів у цьому органі призводить до порушень гомеостатичної рівноваги, накопичення токсичних метаболітів в організмі, зниження адаптаційних резервів організму [4]. Важливу роль у детоксикації та елімінації ксенобіотиків відіграють нирки, а оптимальне функціонування цього органу забезпечує такі енергоємні процеси як фільтрація

та реабсорбція, тому ушкодження хімічним патогеном клубочко-канальцевого апарату нирок призводить до порушення окислювально-відновлювальних процесів (ОВП) у першу чергу [5, 6]. Саме печінка, нирки і надниркики зазнають максимального навантаження в умовах шкідливого впливу хімічних патогенів, як і головний мозок, тканини якого дуже чутливі до дії токсикантів, що і обумовило актуальність оцінки морфофункціонального стану тканин саме цих органів після впливу субтоксичних доз охолоджувальних рідин, синтезованих на основі поліолів.

Метою роботи було визначення характеру морфологічних змін та динаміки ОВП у тканинах печінки, нирок, надниркиків і головного мозку білих щурів в умовах хронічного навантаження субтоксичними дозами органічних сумішей.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Об'єктом дослідження були морфологічні зміни тканин органів щурів популяції Вістар обох статей (8 груп по 12 тварин) під впливом 1/100 DL_{50} охолоджувальної рідини (ОР-40) і охолоджувальної рідини (ОР-65), що склало 0,184 г/кг та 0,191 г/кг маси тіла тварин. Розчини органічних сумішей щоденно протягом 90 діб уводили внутрішньошлунково за допомогою металевого зонду, контролем була група інтактних тварин, які отримували 2,0 мл водопровідної води. Наприкінці експерименту проводили декапітацію під легким ефірним наркозом з урахуванням етичних вимог щодо тварин, які були використані в експерименті [7]. Вилучені органи фіксували 100% нейтральним формаліном, зневоднювали у спиртах, парафінізували, після чого фарбували пікрофуксином і гематоксилін-еозіном [8]. Клітинні ультраструктури досліджували з використанням електронного мікроскопу ПЕМ-100. Вміст ліпідів визначали шляхом забарвлення суданом чорним Б, вуглеводів – шифф-йодною кислотою, нуклеїнових кислот – галлоціаніном за Ейнарсоном. Гістохімічні дослідження проводили після заморожування органів у рідкому азоті, у кріостаті (-18°С) та приготування зрізів товщиною 10 мкм, у яких реєстрували активність лактатдегідрогенази (ЛДГ), малатдегідрогенази (МДГ), сукцинатдегідрогенази (СДГ), глюкозо-6-фосфатдегідрогенази (Г-6-ФДГ), λ-гліцерофосфатдегідрогенази (λ-ГФДГ) та НАД•Н – де гідрогенази [9]. Статистичну обробку отриманих даних проводили за програмою Statistica 4.5, результати визначали у виді середніх арифметичних та їх стандартних помилок, вірогідність різниці між величинами, що порівнювали, визначали з використанням t-критерію Стьюдента [10].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Гістологічним дослідженням встановлено, що вплив субтоксичних доз органічних сумішей обумовлював виникнення деформацій печінкових балок, формування вип'ячувань цитоплазми гепатоцитів, лімфоїдну інфільтрацію та стази у паренхімі печінки. Гепатоцити відзначалися слабо оконтурованою цитоплазмою, наявністю дистрофічних змін ядра у вигляді крупнодисперсної конденсації хроматину, сплощення та поліморфізму ядер, у цитоплазмі реєстрували зменшення кількості гранул, вакуолізацію та незначну базофілію, що може супроводжувати порушення білкового обміну та синтезу нуклеїнових кислот [11]. Електронно-мікроскопічним дослідженням зареєстровано вип'ячування каріолеммі ядер гепатоцитів, велику кількість гомогенізованих нуклеол, фрагментоз цитоплазматичного ретикулуму, розширення його цистерн і часткове зменшення кількості рібосом, в мітохондріях спостерігали редукцію кіст та гомогенізацію ультраструктур. Кількість печінкових макрофагів була значно збільшена, у цитоплазмі гепатоцитів зареєстровано зменшення рівнів РНК, хаотичне розташування гранул глікогену на тлі просвітлень і підвищення рівнів глікозаміногліканів.

Значні атрофічні зміни були визначені у ниркових клубочках, набухання та розрихлення яких призводило до здавлювання капсули нефрону, периваскулярної інфільтрації та витончення судин, а у деяких канальцях – некрозу епітеліоцитів, у цитоплазмі яких спостерігали дистрофічні зміни у вигляді зернистої (білкової) та гідропічної вакуолізації, пікнозу ядер клітин. Зареєстроване у звужених канальцях накопичення гомогенних еозинофільних мас дозволяє припустити розвиток інфільтрації паренхими органу еозинофілами внаслідок сенсибілізуючої дії органічних сумішей [12]. Електронно-мікроскопічним дослідженням встановлено наявність гострого некрозу гломерулярного фільтру клубочків, дегенеративні зміни у кубічному епітелії, цитоплазматичні вип'ячування, розрихлення і порушення структури базальної мембрани. Цитоплазма подоцитів була змінена внаслідок мілкодисперсної жирової дистрофії, вміст РНК і вуглеводів знижений, що співвідноситься з розвитком незворотніх деструктивних змін тканини нирок.

У головному мозку щурів вплив складних органічних сумішей обумовлював виникнення значних периваскулярних і перицелюлярних набряків, розширення судин, яке су-

проводжувалося ерітростазом, а також дистрофічні і атрофічні зміни ендотелію у вигляді фрагментації та сплощення ендотеліоцитів. У тканині органу виявлені багаточисленні кісти, мікроскопічно-дистрофічні зміни нейроцитів – зменшення клітин у розмірах, утворення порожнин у межуточній тканині, коагуляцію цитоплазми, пікноз та фрагментоз ядра, набряк мітохондрій і зменшення кількості рібосом. Морфологічні прояви ушкодження супроводжувалися зниженням рівнів РНК і відсутністю глікогену у цитоплазмі нейроцитів, що могло бути наслідком значних зсувів тканинного і внутрішньоклітинного метаболізму і супроводжуватися функціональною неповноцінністю тканини [6, 8].

Гістологічно у наднирниках реєстрували зменшення клубочкової зони, зсув ядерно-цитоплазматичного співвідношення ендокриноцитів у бік ядра, зменшення у цитоплазмі клітин вмісту білку та РНК. Електронно-мікроскопічним дослідженням встановлено наявність вип'ячувань цитоплазми ендокриноцитів пучкової зони, пікнозу ядер, конденсації хроматину, ознаки зон просвітлень у матріксі, гомогенізацію та набухлість мітохондрій, суттєве збільшення та неправильну форму ендоплазматичного ретикулуму, що може призводити до незворотніх морфофункціональних змін тканини наднирників.

В усіх випадках вплив субтоксичних доз складних органічних сумішей обумовлював порушення структури і функції клітин і тканин внутрішніх органів щурів, при чому деструктивні зміни супроводжувалися пошкодженням білково-ліпідного шару цитоплазматичної мембрани, дезинтеграцією ядра і клітинних ультраструктур. Визначені дистрофічні та деструктивні зміни тканин органів можуть супроводжуватися розвитком тканинної гіпоксії та інгібіцією біоенергетичних процесів, стан яких непрямо віддзеркалює динаміка активності мембранозалежних ферментів, у тому числі, дегідрогеназ, які забезпечують переміщення електронів і протонів від субстрату окиснення до молекулярного кисню в електронно-транспортному ланцюзі, процеси тканинного дихання і синтезу макроергічних сполучень [2]. Дані щодо динаміки активності дегідрогеназ у тканинах органів щурів, які отримували субтоксичні дози органічних речовин протягом хронічного експерименту, наведені у таблиці.

Таблиця

Вплив 1/100 DL_{50} охолоджувальних рідин на інтенсивність гістохімічних реакцій у тканинах органів білих щурів, (M±m)

Тканини	**Активність ферменту, (бали)**		
	Лактатдегідрогеназа		
	ОР-40	*ОР-65*	*Контроль*
Наднирники, кора	3,51±0,26*	4,35±0,48	4,80±0,30
Наднирники, мозкова речовина	3,78±0,46	3,10±0,57	3,00±0,25
Нирки, тільце	1,82±0,18*	1,98±0,33	2,80±0,03
Нирки, канальці	4,65±0,31	4,72±0,31	4,50±0,23
Печінка	3,32±0,20*	4,83±0,35	4,69±0,23
Головний мозок	3,86±0,45	4,20±0,65	4,80±0,05
	Сукцинатдегідрогеназа		
	ОР-40	*ОР-65*	*Контроль*
Наднирники, кора	3,59±0,32	4,75±0,20	4,65±0,30
Наднирники, мозкова речовина	3,60±0,35	4,57±0,33*	3,20±0,40
Нирки, тільце	2,75±0,24*	3,29±0,42*	1,50±0,10
Нирки, канальці	4,56±0,21	4,82±0,55	4,60±0,30
Печінка	3,48±0,26	3,00±0,23*	3,80±0,30
Головний мозок	1,86±0,32*	2,81±0,16*	3,4±0,20
	Малатдегідрогеназа		
	ОР-40	*ОР-65*	*Контроль*
Наднирники, кора	3,75±0,29	5,23±0,48	4,72±0,30
Наднирники, мозкова речовина	2,54±0,39	2,95±0,35	2,20±0,15
Нирки, тільце	1,96±0,37	2,54±0,18	2,10±0,17
Нирки, канальці	2,39±0,19*	3,67±0,54	3,50±0,25
Печінка	2,51±0,13*	3,64±0,17	3,30±0,32
Головний мозок	2,56±0,14	2,88±0,16	2,60±0,15
	Глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа		
	ОР-40	*ОР-65*	*Контроль*
Наднирники, кора	4,20±0,42	4,73±0,57	4,45±0,45
Наднирники, мозкова речовина	1,73±0,14*	2,36±0,17	2,53±0,20
Нирки, тільце	1,84±0,16	2,35±0,20	2,00±0,17
Нирки, канальці	2,25±0,46*	3,20±0,53	3,60±0,25
Печінка	2,68±0,42*	3,95±0,45	3,80±0,20
Головний мозок	2,53±0,28	1,34±0,35*	2,40±0,45
	λ-глицерофосфатдегідрогеназа		
	ОР-40	*ОР-65*	*Контроль*
Наднирники, кора	2,28±0,63	3,16±0,61	2,90±0,40

Тканини	Активність ферменту, (бали)		
Наднирники, мозкова речовина	1,95±0,19*	2,36±0,09	2,25±0,16
Нирки, тільце	1,40±0,38	0,86±0,36*	1,70±0,20
Нирки, канальці	2,16±0,22*	2,95±0,42	3,60±0,25
Печінка	2,63±0,20*	3,28±0,27	3,60±0,20
Головний мозок	2,17±0,19	1,72±0,32*	2,43±0,16
	НАД·Н-дегідрогеназа		
	ОР-40	*ОР-65*	*Контроль*
Наднирники, кора	2,40±0,18*	2,85±0,43	3,00±0,30
Наднирники, мозкова речовина	1,14±0,22*	1,53±0,24	1,80±0,14
Нирки, тільце	1,35±0,22*	1,79±0,21*	2,80±0,29
Нирки, канальці	1,16±0,18*	1,94±0,34	1,80±0,23
Печінка	2,47±0,31*	2,35±0,23*	3,80±0,23
Головний мозок	1,56±0,25*	1,39±0,22*	2,60±0,20

Примітка:
різниця показників вірогідна, ($p<0,05$).

Встановлено, що в усіх випадках показники активності піридин- та флавінзалежних дегідрогеназ у тканинах експериментальних тварин були значно нижче, ніж у інтактних, що свідчить про порушення окислювально-відновлювальних процесів та окислювального фосфорилювання під впливом субтоксичних доз органічних сумішей. Результати дослідження активності ферментів ОВП добре співвідносяться з даними щодо структурних порушень у тканинах органів щурів і дозволяють припустити, що під впливом охолоджувальних рідин деструктивні зміни клітинної мембрани та органел супроводжувалися втратою клітиною функціональної повноцінності, зокрема, інгібіцією дегідрогеназ та тканинного дихання, що призводить до порушення енергетики метаболізму у даних органах і їх здатності до екскреції токсичних речовин. Тривале зниження активності дихальних ферментів, які забезпечують отримання клітиною вільної енергії, здатне призвести до виснаження адаптаційних гомеостатичних механізмів, порушення внутрішньоклітинного метаболізму та функціональної неповноцінності клітини. Вищезазначене дозволяє сформувати наступні

ВИСНОВКИ

1. Субтоксичні дози ОР-40 та ОР-65 в умовах хронічного експерименту пригнічують активність як флавін-, так і піридинзалежних дегідрогеназ в організмі щурів, що свідчить про інгібіцію ОВП, внутрішньоклітинного метаболізму і відновлювальних синтезів та може негативно впливати на морфофункціональний стан тканин досліджуваних органів.
2. Вплив 1/100 DL_{50} складних органічних сумішей обумовлює виникнення деструктивних, дистрофічних та атрофічних змін у тканинах печінки, нирок, наднирників і головного мозку щурів, порушує білковий та вуглеводний внутрішньоклітинний обмін, що призводить до зменшення вмісту РНК і глікогену в цитоплазмі клітин досліджуваних тканин.

Перспективою подальшого пошуку у даному напрямку є дослідження стану регуляторних систем організму, у тому числі, гістогормонів, після тривалого впливу субтоксичних доз складних органічних сумішей на основі поліолів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Дейнека С.Є. Концепція використання методу культур клітин при оцінці засобів цитопротекції / С.Є. Дейнека, М.Г. Проданчук // Мат. Науково-практ.конференції «Проблеми діагностики, профілактики та лікування екзогенних та ендогенних інтоксикацій». м. Чернівці, 13-14 жовтня, 2009. – С. 115.
2. Рахманин Ю.А. Донозологическая диагностика в проблеме окружающая среда – здоровье населения / Ю.А. Рахманин, Ю.А. Ревазова // Гигиена и санитария. – М. : Медицина. – 2004. – № 6.– С. 3–5.
3. Роль процесів внутрішньоклітинної взаємодії в механізмах хронізації вірусного гепатиту С / Є.В. Нікітін, К.Л. Сервецький, К.М. Усиченко [та ін.] //Одеський мед.журн. – 2005. – № 3(89). – С. 93–97.
4. Громашевская Л.Л. Нарушение метаболических процессов во внутриклеточном матриксе, их регуляция при развитии фиброза печени: маркеры его в сыворотке крови больных хроническим гепатитом С / Л.Л. Громашевская, Л.Л. Пинский // Лаб. диагностика. – 2004. – № 4. – С. 3–11.
5. Громашевская Л.Л. Метаболическая интоксикация в патогенезе и диагностике патологических процессов /Л.Л. Громашевская // Лабораторная диагностика. – 2006. – № 1(35). – С. 3–12.
6. Apoptosis pathway of liver cells in chronic hepatitis / N.L. Chen, L.Bal, L.Li [et al.] // World J. Gastroenerol. – 2004. – Vol. 10, № 21. – P. 3201–3204.
7. Руднева Е. Хельсинская декларация этических принципов: версия 2008 г. / Е. Руднева // Український медичний часопис. – 2009. – № 1(69) – I/II. – С. 107–112.
8. Шабалова И.П. Основы клинической цитологической диагностики / И.П. Шабалова, Н.Ю. Полонская // Учебное пособие. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 136 с.
9. Методы клинической лабораторной диагностики / Под ред. В.С.Камышникова, 3-е изд., М.:МЕД

пресс-информ, 2009. – 752 с.
10. Антомонов М.Ю. Математическая обработка и анализ медико-биологических данных / М.Ю. Антомонов. – К.: «Фірма Малий Друк», 2006. – С. 381–391.
11. Морозова В.Т. Лимфатические узлы. Цитологическая диагностика / В.Т. Морозова, С.А. Луговская // Пособие для врачей. – М.: Тверь, Триада, 2008. – 78 с..
12. Фаллер Д.М. Молекулярная биология клетки [руководство для врачей] / Д.М. Фаллер, Д. Шилдс, пер. с англ., М.: Бином-Пресс, 2003. – 272 с.

© Сіренко О.В., 2010

УДК: 616.831-005

EXPERIMENTAL HEMORRHAGIC STROKE: SEARCH FOR A BETTER MODEL

Andriy Yabluchanskiy[1], Philip Sawle[1], Shervanthi Homer-Vanniasinkam[1], Colin J. Green[1] and Roberto Motterlini[1,2]
[1]Department of Surgical Research, Northwick Park Institute for Medical Research, Harrow, Middlesex, HA1 3UJ, United Kingdom
[2]Department of Drug Discovery and Development, Italian Institute of Technology, 16146 Genova, Italy

Hemorrhagic stroke is one of the least studied problems in the modern neurology. Development of the treatment leads to examination of the pathophysiology of the process, which mainly can be performed in animal models. Recent years few animal model of the hemorrhagic stroke have been proposed. In this review we discuss the differences and benefits of the existing models in the compliance with the process that take place in human patients with hemorrhagic stroke.

KEY WORDS: hemorrhagic stroke, experimental study, biological model, laboratory animal

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЙ ГЕМОРРАГИЧЕСКИЙ ИНСУЛЬТ: ПОИСК ЛУЧШЕЙ МОДЕЛИ

Андрей Яблучанский[1], Филипп Савле[1], Шерванти Гомер-Ванниасинкам[1], Колин Грин[1], Роберто Мотерлини[1,2]
[1]Отделение хирургических исследований, Нортвик Парк институт медицинских исследований, Великобритания
[2]Отделение открытия и разработки лекарственных препаратов, Итальянский институт технологии, Италия

Геморрагический инсульт является одной из наименее изученных проблем в современной неврологии. Развитие новых подходов к его лечению невозможно без установления тонких механизмов развития, которые возможно установить только на адекватных моделях у экспериментальных животных. В последние годы было предложено несколько моделей геморрагического инсульта у животных. В обзоре обсуждаются различия среди существующих моделей в соответствии с процессами, протекающими у пациентов с геморрагическим инсультом, и обосновывается выбор наиболее адекватных среди них.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: геморрагический инсульт, экспериментальное исследование, биологическая модель, лабораторное животное

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИЙ ГЕМОРАГІЧНИЙ ІНСУЛЬТ: ПОШУК КРАЩОЇ МОДЕЛІ

Андрій Яблучанський[1], Філіп Савла[1], Шерванті Гомер-Ванніасінкам[1], Колін Грін[1], Роберто Мотерліні[1,2]
[1]Відділення хірургічних досліджень, Нортвік Парк інститут медичних досліджень, Великобританія
[2]Відділення відкриття та розробки лікарських препаратів, Італійський інститут технології, Італія

Геморагічний інсульт є однією з найменш вивчених проблем в сучасній неврології. Розвиток нових підходів до його лікування неможливий без встановлення тонких механізмів розвитку, які можливо встановити тільки на адекватних моделях у експериментальних тварин. В останні роки було запропоновано кілька моделей геморагічного інсульту у тварин. В огляді обговорюються відмінності серед існуючих моделей відповідно до процесами, що протікають у пацієнтів з геморагічним інсультом, і обґрунтовується вибір найбільш адекватних серед них.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: геморагічний інсульт, експериментальне дослідження, біологічна модель, лабораторна тварина