

ДОСЛІДЖЕННЯ СТАНУ НАДНИРКОВИХ ЗАЛОЗ ЩУРІВ ХВОРИХ НА КАРЦИНОСАРКОМУ УОКЕРА W-256

У статті розглядаються особливості гістологічних змін в клубочковій, пучковій і сітчастій зонах коркової речовини та мозковій речовині надниркових залоз у щурів з трансплантованою карциносаркомою Уокера W-256 під впливом цитостатичних препаратів. Проведено порівняльний аналіз структур наднирників контрольних тварин та щурів з трансплантованою карциносаркомою Уокера W-256 під впливом цитостатичних препаратів.

Ключові слова: наднирники, клубочкова, пучкова і сітчаста зони коркової речовини, мозкова речовина, карциносаркома Уокера W-256, цитостатичні препарати.

Постановка проблеми. Аналіз останніх публікацій. На сучасному етапі морфологія має багато робіт, які відображають різноманітність будови надниркових залоз при різних патологічних станах [1,2], а також увага приділяється дослідженням цитостатичних препаратів при лікуванні багатьох хвороб, в тому числі і онкологічних патологій [3]. Можна передбачити, що ці протипухлинні препарати можуть призвести до порушення морфології та функції наднирників. Недостатнє висвітлення в літературі питань побічної дії протипухлинних препаратів, їх шкідливого впливу на ендокринну систему, а саме на наднирники, коркова речовина яких - найважливіша ділянка життєзабезпечення людини в звичайних умовах і в умовах адаптації до різноманітних стресів [4] і зумовило вибір напрямку дослідження.

Мета статті з'ясувати морфо-функціональні зміни у надниркових залозах щурів хворих на карциносаркому Уокера W-256 під впливом цитостатичних препаратів.

Матеріал та методи

Об'єктом для вивчення зміни морфофункціонального стану наднирників щурів з перевитою карциносаркомою Уокера W-256 під впливом дії протипухлинних препаратів були білі безпородні лабораторні щури масою 100-120 гр. Всі щури знаходилися у віварії в однакових умовах: (освітлення, температура, годування). Усі тварини були поділені на дві групи:

1. Контрольна група – тварини з перевитою карциносаркомою Уокера W-256.
2. Піддослідна група щурів, хворих на карциносаркому Уокера W-256, що отримувала цитостатичні препарати.

Ця група поділялась на 4 підгрупи:

- 2.1 тварини, що отримували метотрексат (МТ);
- 2.2. тварини, що отримували 5-фторурацил (5-ФУ);
- 2.3. тварини, що отримували циклофосфан (ЦФ);
- 2.4. тварини, що отримували комбіновані препарати: (МТ+5-ФУ+ ЦФ).

Перевивочним матеріалом для трансплантації була пухлина – карциносаркома Уокера W-256. У роботі використовували протипухлинні препарати метотрексат (МТ), 5-фторурацил (5-ФУ) та циклофосфан (ЦФ) [6,7].

Піддослідним щурам вводили препарати за схемами: МТ – 0,013 мг через тиждень (всього три ін'єкції) у м'язи задньої кінцівки, 5-ФУ – по 10-15 мг/кг в день. ЦФ – 0,18 мг через тиждень в черевну порожнину. Дозу ін'єкції розраховували в мг/м² поверхні тіла за формулою: $Дм^2 = Д \text{ мг/кг} \times К$, де $Дм^2$ - доза в міліграмах на 1 метр поверхні тіла;

$Д$ мг/кг – доза в міліграмах на кілограм маси тіла; $К$ – коефіцієнт, для дорослого організму = 37, для молодого = 25 [5,8].

Проводили гістологічні, гістохімічні та морфометричні дослідження гістологічного матеріалу надниркових залоз контрольних і піддослідних тварин. Шматочки досліджуваних органів були зафіксовані в рідині Буена з подальшою заливкою матеріалу в парафін. Серійні фронтальні зрізи товщиною 4-5 мкм готували на ротаційному мікромомі. Для приготування оглядових гістологічних препаратів зрізи залоз фарбували гематоксилином і еозином, залізним гематоксилином і суданом 3.

У надниркових залозах контрольних і піддослідних щурів вимірювали товщину клубочкової, пучкової і сітчастої зон коркової речовини та товщину мозкової речовини. Отримані дані обробляли за допомогою методів варіаційної статистики.

Результати та обговорення

В наднирниках піддослідних щурів, які отримували метотрексат, виявили, що морфофункціональний стан та топографія клітин різних зон цих органів зазнали незначних змін у порівнянні з контрольними тваринами. Висота коркової речовини зменшується і становить 507,2 мкм, замість 623,4 мкм., $p < 0,05$. Висота клубочкової зони наднирників піддослідних щурів становить $49,1 \pm 0,8$ мкм, а у контрольних щурів – $55,7 \pm 1,4$ мкм відповідно, $p < 0,05$. Дослідження виявили, що найбільших змін зазнала пучкова зона. Її висота у контрольних щурів становить $459,0 \pm 2,1$ мкм, а під дією препарату цей показник змінюється до $360,3 \pm 0,2$ мкм., $p < 0,05$. У піддослідних щурів клітини пучкової зони розміщені у пучках без певної послідовності, а кількість ядер в клітинах зменшується. Клітини цієї зони у контрольних щурів утворюють довгі пучки, що орієнтовані перпендикулярно до поверхні, багаті на ядра та кровоносні судини. Судини наднирників піддослідних щурів знаходяться в гіперемірованому стані. У щурів, яких лікували цитостатичним препаратом, ліпідні включення в клітинах пучкової зони майже зникають і тому, можна передбачити, що ця зона синтезує набагато менше глюкокортикоїдів, які впливають на обмін вуглеводів, білків, жирів в організмі, а також на кровотворні органи. У більшості клітин контрольних щурів цитоплазма світла через наявність в ній великої кількості ліпідних включень - зрілих гормонів або їх попередників. Клітини сітчастої зони у наднирниках піддослідних груп тварин менші за розмірами, ніж у сітчастій зоні контрольних щурів. Про це свідчить висота сітчастої зони піддослідних тварин – $97,8 \pm 1,6$ мкм, а висота цієї ж зони контрольних щурів – $108,7 \pm 1,6$ мкм., $p < 0,05$.

У мозковому шарі у піддослідних щурів кількість синусоїдних капілярів зменшується, що можливо впливає на роботу клітин, які синтезують адреналін та норадреналін (гормони стресу), товщина у піддослідних тварин становить $96,7 \pm 1,3$ мкм, у порівнянні з контрольними щурами $111,1 \pm 7,94$ мкм., $p < 0,05$.

Дослідження наднирників піддослідних щурів виявили, що під впливом 5-фторурацилу зони коркової речовини набагато зменшились у порівнянні з контрольними щурами. Висота коркової речовини зменшується і становить 490,4 мкм, замість 623,4 мкм., $p < 0,05$. Під дією 5-фторурацилу висота клубочкової зони піддослідних щурів зменшилась до $45,0 \pm 1,6$ мкм, а в контрольних щурів висота цієї зони становила $55,7 \pm 1,4$ мкм., $p < 0,05$. Висота пучкової зони також суттєво зменшилась і становила $360,3 \pm 4,3$ мкм, а у контрольних щурів – $459,0 \pm 2,1$ мкм відповідно, $p < 0,05$. Клітини цієї зони у піддослідних тварин розташовувались не пучками, а більш хаотично та майже повністю втрачали ядра. Під час фарбування суданом 3, у пучковій зоні піддослідних щурів майже не виявилось ліпідних включень, що свідчить про уповільнений синтез глюкокортикоїдів. Сітчаста зона наднирників під впливом 5-фторурацилу також зазнала значних змін. Висота зони у піддослідних тварин становила $85,1 \pm 1,2$ мкм, а в контрольних щурів – $108,7 \pm 1,6$ мкм., $p < 0,05$.

Кількість судин у кірковій речовині експериментальних тварин суттєво зменшилась. Висота мозкової речовини наднирників піддослідних тварин становила

93,4±2,2 мкм. У контрольних щурів цей показник вищий і становив 111,1±7,94 мкм., $p < 0,05$.

Дослідження наднирників піддослідних щурів виявили, що під впливом циклофосфану також змінилися зони коркової речовини, у порівнянні з контрольними щурами. Висота коркової речовини зменшується і становить 388,6 мкм, замість 623,4 мкм., $p < 0,05$. Під дією циклофосфану висота клубочкової зони піддослідних щурів зменшилась до 36,7±2,3 мкм., а в контрольних щурів висота цієї зони становила 55,7±1,4 мкм., $p < 0,05$. Товщина пучкової зони також суттєво зменшилась і становила 268,1±5,4 мкм, а у контрольних щурів – 459,0±2,1 мкм відповідно., $p < 0,001$. Клітини цієї зони у піддослідних тварин розташовувались не пучками, а більш хаотично та майже повністю втрачали ядра. Під час фарбування суданом 3, в пучковій зоні піддослідних щурів майже не виявилось ліпідних включень, що також свідчить про уповільнений синтез глюкокортикоїдів. Сітчаста зона наднирників під впливом циклофосфану також зазнала значних змін. Висота зони становила 73,8±1,6 мкм, а в контрольних щурів – 108,7±1,6 мкм., $p < 0,05$. Кількість судин у кірковій речовині експериментальних тварин суттєво зменшилась.

Товщина мозкової речовини наднирників піддослідних тварин становила 86,7±3,3 мкм. У контрольних щурів цей показник вищий і становив 111,1±7,94 мкм., $p < 0,05$.

Дослідження наднирників піддослідних щурів, які лікувалися під дією комплексного використання препаратів: метотрексату, 5-фторурацилу та циклофосфану виявили, що морфологічний стан та топографія клітин різних зон цих органів зазнали значних змін у порівнянні з контрольними тваринами. Висота кіркової речовини зменшується і становить 469,9 мкм, замість 623,4 мкм., $p < 0,05$.

Висота клубочкової зони наднирників піддослідних щурів зменшується і становить 42,1±1,8 мкм, а у контрольних щурів – 55,7±1,4 мкм відповідно, $p < 0,05$. Наші дослідження виявили, що пучкова зона також зазнала змін. Її висота у контрольних щурів становить 459,0±2,1 мкм, а під дією комбінованого впливу препарату цей показник змінюється до 347,3±3,8 мкм., $p < 0,05$.

У піддослідних щурів клітини пучкової зони розміщені не пучками, а більш хаотично та майже повністю втрачали ядра. Під час фарбування суданом 3, у пучковій зоні піддослідних щурів майже не виявилось ліпідних включень, що свідчить про уповільнений синтез глюкокортикоїдів.

Судини наднирників піддослідних щурів знаходились в гіперемірованому стані. У щурів, яких лікували цитостатичним препаратом, ліпідні включення в клітинах пучкової зони майже зникають і тому ця зона синтезує набагато менше глюкокортикоїдів, які впливають на обмін вуглеводів, білків, жирів в організмі, а також на кровотворні органи.

Клітини сітчастої зони у наднирниках піддослідних груп тварин суттєво менші за розмірами, ніж у сітчастій зоні контрольних щурів. Про це свідчить висота сітчастої зони піддослідних тварин – 80,5±1,3 мкм, а висота цієї ж зони контрольних щурів – 108,7±1,6 мкм., $p < 0,05$.

У мозковому шарі у піддослідних щурів кількість синусоїдних капілярів зменшується, що впливає на роботу клітин, які синтезують адреналін та норадреналін (гормони стресу).

Товщина мозкової речовини наднирників піддослідних тварин становила 91,3±2,5 мкм. У контрольних щурів цей показник вищий і становив 111,1±7,94 мкм., $p < 0,05$.

Таблиця 1.

Середні показники товщини коркової і мозкової речовин наднирників контрольних щурів і щурів, що лікувалися метотрексатом (МТ), 5-фторурацилом (5-ФУ), циклофосфаном (ЦФ), та їх комбінацією (МТ+5-ФУ+ЦФ)

Група тварин	Товщина кіркової речовини наднирників, Мкм±m						Товщина мозкової речовини, мкм±m	P
	Клубочкова зона	P	Пучкова зона	P	Сітчаста зона	P		
1.Контрольні щури	55,7±1,4	p < 0,05 p < 0,05	459,0±2,1	p < 0,05 p < 0,05	108,7± 1,6	p < 0,05 p < 0,05	111,1±7,94	p < 0,05 pp < 0,05
2.Піддослідні щури, що отримували МТ	49,1±0,8		360,3±0,2		97,8± 1,6		96,7±1,3	
2.Піддослідні щури, що отримували 5-ФУ	45,0±1,6		360,3±4,3		85,1± 1,2		93,4±2,2	
Піддослідні щури, що отримували ЦФ	36,7±2,3		268,1±5,4		73,8± 1,6		86,7±3,3	
Піддослідні щури, що отримували (МТ+ЦФ+5-ФУ)	42,1±1,8		347,3±3,8		80,5± 1,3		91,3±2,5	

Висновки

Наші дослідження виявили, що діяльність наднирників під впливом цитостатичних препаратів знижується: ліпідні включення в клітинах пучкової зони майже зникають, ця зона синтезує менше глюкокортикоїдів, а у мозковій зоні знижується секреція адреналіну та норадреналіну. Найбільші зміни в наднирниках піддослідних щурів спостерігалися у пучковій зоні, найменші – у клубочковій. Всі ці данні дають підставу вважати, що застосування хіміопрепаратів негативно впливає на морфофункціональний стан надниркових залоз і викликає патологічні зміни її функціональної активності.

Література

1. Андибура Н.Ю. Морфофункціональний стан надниркових залоз при накопиченні сполук свинцю в організмі та за умов дії фармакологічних коригуючих засобів 2005 року: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук. / Андибура Н.Ю; Крим. держ. мед. ун-т ім. С. І. Георгієвського. – Сімферополь, 2005. – 21 с.
2. Шакало О. Б. Дослідження змін в ендокринних залозах щурів після хіміотерапії: / О. Б. Шакало, В. Д. Кошелева, О. Б. Спринь, С. В. Кушніренко// Фальцфейнівські читання. Збірник наукових праць. – Херсон: ПП Вишемирський, 2011. – С. 151-152.
3. Шмалько Ю.П. О состоянии мозкового вещества надпочечников при развитии экспериментальных опухолей / Ю.П.Шмалько,М.И.Смелкова, В.Б.Винницкий // Экспериментальная онкология. – 1980. – №5. – С.64-67.
4. Лейкок Дж. Ф. Основы эндокринологии: Пер. с англ. / Дж. Ф. Лейкок, П. Г. Вайс. – М. : Медицина, 2000. – 429 с.
5. Леонтьева О. В. Молекулярные механизмы множественной лекарственной устойчивости опухолей / О. В. Леонтьева // Антибиотики и химиотерапия. – 1995. – №5. – С. 28–60.
6. Булкина З. П. Противоопухолевые препараты: Справочник / З. П. Булкина. – К. : Наукова думка, 1991. – С.118-125, 263-271.

7. Мальцева В. И. Клиническое испытание лекарств/ В. И. Мальцева. – К.: Морион, 2000. – 352 с.
8. Потебня Г. П. Использование лекарственных препаратов в сверхнизких дозах в онкологии / Г. П. Потебня // Український хіміотерапевтичний журнал. – 2000. – №3. – С. 13–19.

References

1. Andybura, NY (2005). Functional state of the adrenal glands in the accumulation of lead compounds in the body and in terms of pharmacological action of adjustment means. Thesis. Dis. for obtaining Sciences. degree candidate. Of Science 21 (in Ukr.)
2. Shakalo, O.B. (2011). The study of changes in the endocrine glands of rats after chemotherapy. *Faltsfeinivski chytannia. Zbirnyk naukovykh prats. (Valzvein reading. Collected Works.). Kherson. PP Vyshemyrskyu* 151-152 (in Ukr.).
3. Shmalko, Yu. P. (1980). About status of brain substance adrenal duarin develop of tumors. *Экспериментална onkolohtya (Experimental Oncology)*.5,64-67. (in Rus.).
4. Laycock, J. F. (2000). Fundamentals endokrynolohtyy 429. (in Rus.).
5. Leontieva, A. V. (1980). Mechanisms of drugs stability of tumors. *Antybyotyky y khymyoterapyya (Antibiotics and chemistryterapy)* 5, 28–60. (in Rus.).
6. Bulkina, Z. P. (1991). Anticancer drugs: dictionary 118-125, 263-271. (in Rus.).
7. Maltsev, V. I. (2000). Clinical trial of drugs. 352. (in Rus.).
8. Potebnya, G. P. (2000). The use of drugs in ultralow doses, in oncologists. *Ukrayinskiy himioterapevtichniy zhurnal (Ukrainian chemotherapeutic magazine)* 3, 13–19. (in Rus.).

Summary. *Shakalo O. B., Sprin O. B. Study of the adrenal of rat with kartsynosarkoma walker W-256*

Introduction. *Inadequate lighting in the literature for side effects of anticancer drugs and their harmful effects on the endocrine system, namely, the adrenal glands, dictated the choice of research direction.*

Purpose. *Find out morpho-functional changes in the adrenal glands of rats wich sick of the Walker carcinosarcoma W-256 under the influence of the influence of cytotoxic drugs.*

Methods. *The object was white laboratory outbred rats weighing 100-120 g. We used cancersarcoma Woker W–256.*

Results. *In the article was considered the features of histological changes in glomerular, beam and reticular zones of cortex and medulla of the adrenal glands in rats with transplantation kartsynosarkoma Walker W-256 under the influence of cytostatic preparations. Authors conducted a comparative analysis of the adrenalsstructures in the control animals and rats with transplantation kartsynosarkoma Walker W-256 under the influence of cytostatic preparations.*

Originality. *For the first time we we proved that the use of the chemical preparations has had a negative impact on the morphofunctional condition of the adrenal glands and cause pathological changes their functional activity.*

Conclusion. *Our research has shown that the activity of the adrenal glands under the influence of cytostatic preparationsdecreases: the inclusion of lipid in the beam zones cells almost disappear, the zone synthesizes less glucocorticoids, and the brain zone decreases secretion of the adrenaline and the noradrenaline. The greatest changes in the adrenal glands of rats were observed in the beam zone and the least changes were observed in the glomerular.*

Keywords: *adrenals, glomerular, beam and reticular cortex area, cancersarcoma Woker W–256*

Херсонський державний університет

Одержано редакцією

05.01.2017

Прийнято до публікації 15.05.2017