

Г.И. Губина-Вакулик
С.А. Денисенко
Т.В. Горбач
Е.М. Зоренко
В.С. Гойдина





Харьковский национальный
медицинский университет,
Харьков, Украина

Надійшла: 14.08.2021
Прийнята: 20.09.2021

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2021.3.76-83>

УДК 616.45-091:616.894-053.9-092.9:546.33'173

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СО- СТОЯНИЕ МОЗГОВОГО ВЕЩЕСТВА И ПУЧКОВОЙ ЗОНЫ НАДПОЧЕЧНИКОВ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА ИЗБЫТОЧНЫМ ВВЕ- ДЕНИЕМ НИТРИТА НАТРИЯ

Gubina-Vakulyck G.I. , Denysenko S.A.  ✉, Gorbach T.V. , Zorenko Ye.M. , Goydina V.S.  Morpho-
functional state of the medulla and the fascicular zone of the adrenal cortex in modeling Alzheimer's disease by exces-
sive administration of sodium nitrite.

Kharkiv National Medical University, Kharkiv, Ukraine.



ABSTRACT. Background. Nitrates and nitrites are found in soil, water, human food, dyes, and medicines. In the literature, both positive and negative effects from the ingestion of nitrates and nitrites into the body are considered. A nitrite model of Alzheimer's type dementia of vascular origin was used in the work. **Objective.** The aim of the study was to study the morphofunctional state of the adrenal glands of experimental animals with prolonged administration of sodium nitrite. The study was carried out on male rats of the WAG population, which were divided into 3 groups: gr. N-14 - received injections of a water solution of sodium nitrite at a dose of 50 mg / kg of body weight daily for 14 days; gr. N-28 - Rats received similar injections for 28 days. Injections are intraperitoneal. Control rats were injected with 0.9% sodium chloride solution. **Results.** In animals of the main groups, the formation of a morphofunctional picture of the development of a stress reaction takes place, which was also confirmed morphometrically, and in group N-28 - with signs of incipient decompensation of the medulla and the fascicular zone of the adrenal cortex. **Conclusion.** When simulating Alzheimer's disease in laboratory rats by the introduction of a water solution of sodium nitrite at a dose of 50 mg / kg of body weight by daily intraperitoneal injection for 14 and 28 days, a picture of their morphofunctional activation is formed in the medulla and fascicular zone of the adrenal cortex. In the group with a 28-day course of administration of sodium nitrite solution, morphofunctional signs of decompensation of the medulla and the fascicular zone of the adrenal glands (especially the medulla) appear, which indicates the development of severe distress in animals and the impossibility of restoring homeostasis.

Key words: Alzheimer's disease, sodium nitrite, adrenal glands, rats.

Citation:

Gubina-Vakulyck GI, Denysenko SA, Gorbach TV, Zorenko YeM, Goydina VS. [Morphofunctional state of the medulla and the fascicular zone of the adrenal cortex in modeling Alzheimer's disease by excessive administration of sodium nitrite]. Morphologia. 2021;15(3):76-83. Russian.

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2021.3.76-83>

 Gubina-Vakulyck G.I. 0000-0003-3816-8530;  Denysenko S.A. 0000-0002-8457-4436

 Gorbach T.V. 0000-0003-4819-7220;  Zorenko Ye.M. 0000-0001-9354-9438

 Goydina V.S. 0000-0002-7062-2003

✉ Svet.Deni@ukr.net

© Dnipro State Medical University, «Morphologia»

Введение

Нитраты и нитриты присутствуют в почве, воде и продуктах питания человека. Как нитраты, так и нитриты широко используются при производстве и консервировании мясных изделий и некоторых рыбных продуктов. Во многих странах это регламентируется законодательством и является чрезвычайно важным для предотвращения ботулизма. Наибольшее количество нит-

ратов накапливается в продуктах растительного происхождения, таких как листовые овощи, салаты, свекла. Нитраты хорошо растворимы в воде и имеют 100% биодоступность. Нитраты превращаются в нитриты комменсальными бактериями во рту и желудочно-кишечном тракте. В литературе рассматриваются как положительные, так и отрицательные эффекты присутствия нитратов и нитритов в рационе питания. И нитрит, и

нитрат могут эндогенно превращаться в оксид азота (NO). NO является фундаментальным модулятором функции эндотелия, ведет к вазодилатации и снижению АД. Уровни циркулирующего NO повышаются после приема нитратов и нитритов либо в виде медикаментозных препаратов, либо в виде пищевых добавок [1]. По мнению авторов [2], нитраты и нитриты можно рассматривать как пулы хранения, поддерживающие передачу сигналов NO во время метаболического стресса, с их биоактивацией, включающей как ферментативные, так и неферментативные реакции в крови и тканях организма. В экспериментальных работах показано, что потребление неорганических нитратов значительно снижает артериальное давление [3,4]. Введение нитратов или нитритов на экспериментальных моделях сердечно-сосудистых заболеваний дает многообещающие результаты, и в настоящее время продолжаются клинические испытания для изучения терапевтического потенциала нитратов и нитритов при артериальной гипертензии, легочной гипертензии, заболеваниях периферических артерий и инфаркте миокарда. В работе, выполненной на физиологическом уровне, показано, что добавление нитратов в рацион улучшает в спорте результаты на выносливость. [5]

Кроме того, было выяснено, что образующийся из нитритов NO в митохондриях связывается с цитохромоксидазой, при этом повышается взаимодействие кислорода с недыхательными субстратами, и происходит генерация активных форм кислорода (АФК) с потенциально повреждающими эффектами [2]. Примерами развивающихся отрицательных последствий при приеме нитритов могут быть следующие: в экспериментальной работе [6] было показано, что крысы, в течение 4 недель получавшие дистиллированную воду, содержащую 50 мг/л NaNO_2 или NaNO_3 , стали пить значительно меньше, наблюдалось снижение уровней кортикостерона и тестостерона в крови. Гистологическое исследование надпочечников показало наличие более крупных липидных капель в цитоплазме спонгиозитов, что является патогномическим признаком снижения стероидогенеза. В работе других авторов [7] у лабораторных крыс при употреблении 0,08 мг/кг нитрита натрия в течение 28 дней наблюдали значительное снижение количества, подвижности и жизнеспособности сперматозоидов, по сравнению с контрольной группой. Также было показано, что однократная нагрузка нитритами (60 мг/кг массы тела внутрибрюшинно) вызывает гепаторенальную дисфункцию [8].

Таким образом, очевидно, что чрезмерное и продолжительное введение нитратов и нитритов в организм может привести к развитию патологического состояния. В Харьковском национальном медицинском университете разработана нитритная модель развития болезни Альцгейме-

ра (БА) с накоплением амилоида в белом веществе и стенке артерий головного мозга [9], основным начальным звеном которой является повреждение эндотелия кровеносных сосудов, в т.ч. капилляров, активными формами кислорода.

Если рассматривать эту ситуацию с моделированием БА как развивающуюся патологию головного мозга с клиническими, биохимическими и морфологическими признаками и постепенным нарушением гомеостаза, то в ответ на это происходит организация адаптационных процессов, обязательным участником которых является надпочечник (НП). В нашем распоряжении оказались НП животных, у которых путем введения раствора нитрита натрия была получена модель БА.

Цель исследования - изучить морфофункциональное состояние надпочечников экспериментальных животных при длительном введении нитрита натрия.

Материал и методы

Исследование проведено на крысах-самцах популяции WAG массой 180–230 г, которые были разделены на 3 группы: гр. N-14 – внутрибрюшинно вводили водный раствор нитрита натрия в дозе 50 мг/кг массы тела в течение 14 дней (8 животных); гр. N-28 - внутрибрюшинно вводили водный раствор нитрита натрия в аналогичной дозе в течение 28 дней (8 животных). Контрольным крысам (n=16) вводили 0,9% раствор натрия хлорида таким же путем и в те же сроки (гр. К). Животные всех исследуемых групп содержались в стандартных условиях вивария на сбалансированном рационе.

Изучение морфофункционального состояния надпочечников проводилось согласно стандартной методике: фиксирование в формалине, спиртовая проводка, заливка в парафин и изготовление срезов. Использовалась окраска срезов гематоксилином-эозином и галлоцианин-хромовыми квасцами по Эйнарсону на суммарные нуклеиновые кислоты. Кроме общего анализа и описания гистологических особенностей (микроскоп «Axiostar-plus» Zeiss, ФРГ), осуществлено морфометрическое исследование (Видео Тест, РФ) мозгового вещества (МВ), продуцирующего стрессорганизирующие гормоны - адреналин и норадреналин, и пучковой зоны коры надпочечников, продуцирующей стресслимитирующий гормон кортикостерон [10]. Измерены площадь ядер нейроэндокриноцитов мозгового вещества и спонгиозитов пучковой зоны НП, их количество на площади 500 μm^2 микропрепарата, оптическая плотность цитоплазмы этих клеток на препаратах, окрашенных галлоцианин-хромовыми квасцами на нуклеиновые кислоты (показатель содержания РНК). Количественные показатели обработаны с использованием метода вариационной статистики и t критерия Стьюдента после доказательства нормального распреде-

ления значений показателей.

Эксперимент проведен в соответствии с требованиями Страсбургской конвенции (1986г.) и VIII Директивы Европейского парламента (2010г.).

Результаты и их обсуждение

МВ интактных животных (гр.К) многоклеточно, хорошо васкуляризовано. Среди нейроэндокриноцитов доминируют клетки с темными небольшими ядрами и эозинфильной, т.е. не вакуолизированной цитоплазмой, скорее всего,

это нейроэндокриноциты, находящиеся в покое, т.к. в их цитоплазме отсутствуют запасы катехоламинов. Меньшая часть нейроэндокриноцитов имеют вакуолизированную цитоплазму; что, как известно, демонстрирует формирование запасов катехоламинов (рис. 1). Данные о средней площади ядер нейроэндокриноцитов, об оптической плотности цитоплазмы при окрасе на суммарные нуклеиновые кислоты и о количестве нейроэндокриноцитов на фиксированной площади микропрепарата представлены в таблице 1.

Таблица 1

Морфометрические показатели эндокриноцитов мозгового вещества и пучковой зоны надпочечников

Исследуемые области	Группы	Количество эндокриноцитов в поле зрения на площади 500 мкм ²	Размеры ядер эндокриноцитов, (M±m, мкм ²).	Оптическая плотность цитоплазмы при окраске по Эйнарсону (усл.ед.опт.пл.)
Пучковая зона коры	гр.К	4,5±0,2	19,7±0,6	0,088±0,006
	гр. N-14	5,9*±0,2	19,5±0,5	0,116*±0,008
	гр. N-28	6,0*±0,3	20,4±0,4	0,143*±0,011
Мозговое вещество	гр.К	7,7±0,3	16,9±0,9	0,270±0,015
	гр. N-14	6,6*±0,3	28,4*±0,5	0,172*±0,012
	гр. N-28	6,1*±0,2	26,3*±0,4	0,102*±0,012

*- достоверность $p < 0,05$ относительно контрольной группы.

В группе N-14 МВ на микропрепарате выглядит также в виде компактного пласта нейроэндокриноцитов. Однако их ядра заметно крупнее и светлее, как при окраске гематоксилином-эозином, так и по Эйнарсону. Цитоплазма более объемная, чем в гр. К, и очень мелко вакуолизирована, т.е. можно предполагать, что в течение курса инъекций нитрита натрия (1 раз в сутки) мозговое вещество НП реагировало выбросом в кровь и синтезом индоламинов, создавая некоторый запас гормонов в виде прозрачных вакуолей. Нейроэндокриноцитов с крупными прозрачными вакуолями нет. Единичные нейроэндокриноциты имеют мелкое гиперхромное (пикнотичное) ядро, возможно находятся в состоянии апоптоза. О повышенной морфофункциональной активности МВ НП в группе N-14 свидетельствуют также морфометрические данные (табл.) об увеличении средней площади ядра нейроэндокриноцитов и увеличении размеров нейроэндокриноцитов (т.к. на фиксированной площади микропрепарата размещается достоверно меньшее количество нейроэндокриноцитов). Достоверное уменьшение средней оптической плотности цитоплазмы нейроэндокриноцитов при использовании окраски по Эйнарсону (это показатель понижения содержания РНК в цитоплазме), на первый взгляд, не сочетается с результатом кариметрии. Однако объяснение этому кажущемуся противоречию есть: причина понижения содержания РНК в цитоплазме – это наличие многочисленных мелких прозрачных вакуолей с запасом катехоламинов.

Таким образом, сравнивая морфологические, в т.ч. морфометрические, особенности мозгового вещества НП животных гр. N-14 с гр. К, можно говорить о повышении морфофункциональной активности МВ с созданием запасов катехоламинов.

У животных гр. N-28 МВ имеет вид трабекул, а не сплошного пласта, т.е. нейроэндокриноциты располагаются более рыхло, поэтому на ограниченной площади микропрепарата располагается еще меньшее количество нейроэндокриноцитов, чем в гр. N-14, средний размер ядер нейроэндокриноцитов – меньше, чем в гр. N-14 (но больше, чем в гр. К) (табл.). Заметная часть нейроэндокриноцитов имеет маленькое, темное пикнотичное ядро, что свойственно апоптозным клеткам (рис. 1). У большинства нейроэндокриноцитов отмечается мало выраженная вакуолизация цитоплазмы, однако оптическая плотность цитоплазмы при окраске микропрепаратов по Эйнарсону - низкая, т.е. имеет место понижение содержания РНК в цитоплазме нейроэндокриноцитов. Очевидно, что курс из 28 инъекций нитрита натрия обусловил развитие вначале такого высокого морфофункционального состояния МВ НП, что к концу эксперимента появились признаки нарастающего апоптоза, атрофии и постепенного понижения морфофункционального состояния нейроэндокриноцитов (дистрофизация).

Пучковая зона у животных в гр. К имеет хорошо выраженные параллельные трабекулы. Ядра спонгиоцитов скорее темные, гетерохромные,

только в отдельных ядрах можно увидеть контуры ядрышка. Цитоплазма пеннистая, но фокально несколько спонгиоцитов имеют крупные прозрачные вакуоли, что характерно для невысокой морфофункциональной активности спонгиоцитов и формирования запасов исходного метабо-

лита – холестерина. Морфометрические показатели пучковой зоны гр. К представлены в таблице. Камбиальный слой, который «поставляет» эндокриноциты в пучковую зону, - широкий, в несколько рядов клеток (рис. 1).

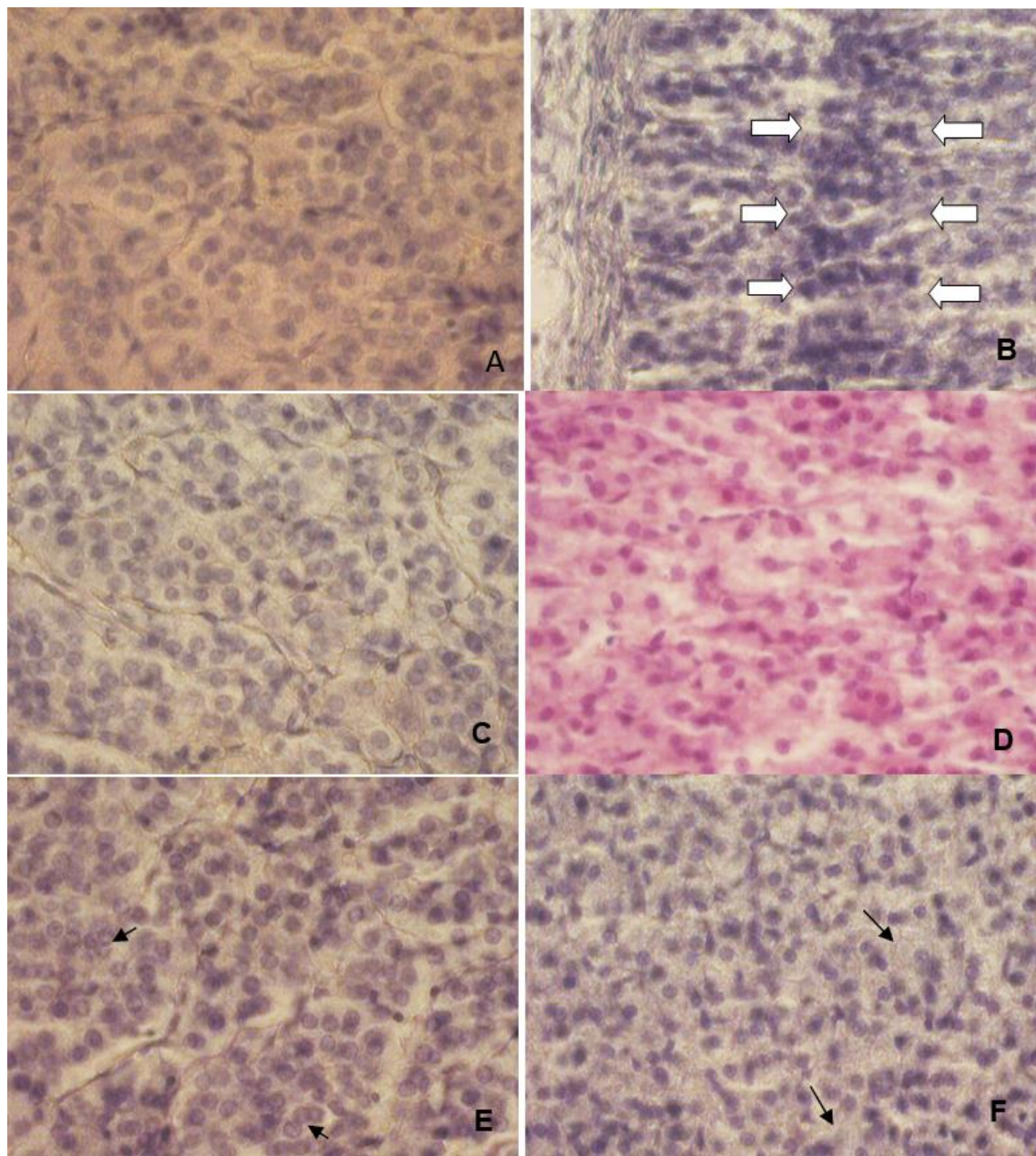


Рис. 1. Результаты микроскопического исследования МВ (А,С,Е) и пучковой зоны НП (В,Д,Ф); А – МВ животного Кгр.; С – МВ животного гр. N 14: ядра более крупные и более светлые; Е – МВ животного гр. N 28: появляются нейроэндокриноциты с крупными светлыми ядрами, с темными мелкими ядрами и маргинацией хроматина (↑); В – кора НП животного Кгр., широкая, многоклеточная камбиальная зона (↑); Д – пучковая зона животного гр. N 14: много спонгиоцитов со светлым, мелкодисперсным хроматином в ядрах, липидные включения в цитоплазме не доминируют; Ф – пучковая зона НП животного гр. N 28: наличие участков цитоллиза (↑), много спонгиоцитов с мелкими, гиперхромными ядрами. Окраска А,В,С,Е,Ф - галлоцианин-хромовыми квасцами по Эйнарсону; Д - гематоксилином-эозином. ×400.

В гр. N-14 четкое трабекулярное строение пучковой зоны нарушено появлением небольших фокусов некроза (или апоптоза нескольких спон-

гиоцитов). Многие спонгиоциты имеют крупные ядра с мелкодисперсным хроматином. Цитоплазма вакуолизирована, вакуоли очень мелкие, в

заметном количестве спонгиоцитов вакуоли отсутствуют. Довольно часто встречаются спонгиоциты с мелкими гиперхромными, пикнотичными ядрами. Средняя площадь ядер спонгиоцитов (табл.) в гр. N-14 не имеет достоверного отличия от таковой в гр. К, возможно, в связи с выраженной «пикнотизацией» ядер большого количества ранее гиперактивных спонгиоцитов. Оптическая плотность цитоплазмы спонгиоцитов в среднем достоверно выше, чем в гр. К, т.е. содержание РНК повышено. На площади микропрепарата площадью 500мкм² «умещается» большее количество спонгиоцитов, чем в гр. К, следовательно, спонгиоциты имеют меньший размер, а это в данной ситуации возможно при уменьшении площади цитоплазмы, что имеет место в связи с уменьшением запасов исходного субстрата (поскольку сразу идет синтез гормона и его инкреция в кровь). Очень интересно, что камбиальный слой выглядит тонким, толщиной в одну-две клетки, т.е. в течение курса инъекций (14 инъекций) нитрита натрия камбиальный слой интенсивно пополнял пучковую зону молодыми эндокриноцитами. В целом у животных гр. N-14 имеется картина активации пучковой зоны коры надпочечников с необходимостью интенсивного обновления клеточного пула.

У животных гр. N-28 наблюдаются еще более выраженные очаги лизиса спонгиоцитов с формированием рыхлого расположения трабекул. Среди спонгиоцитов встречаются полиплоидные и двуядерные, много спонгиоцитов с пикнотичными ядрами и маргинацией хроматина в ядрах (апоптоз), а прозрачные вакуоли в цитоплазме – мелкие (рис. 1). Из морфометрических показателей особо значимым является еще большее по сравнению с гр. К и гр. N-14 увеличение оптической плотности цитоплазмы при окраске по Эйнарсону, что свидетельствует о повышении содержания РНК в цитоплазме спонгиоцитов (табл.). Камбиальный слой очень тонкий, в одну клетку и прерывистый. В целом состояние пучковой зоны НП в гр. N-28 можно оценить, как гиперактивное, на грани декомпенсации.

Выявленные особенности МВ и пучковой зоны НП при 14-тидневном и 28-мидневном курсах нитрита натрия имеет смысл рассмотреть параллельно с ранее изученными поведенческими и метаболическими особенностями тех же экспериментальных животных. У них было выявлено снижение двигательной активности, повышение эмоциональной реактивности, ухудшение исследовательской функции (в тесте «Открытое поле»), причем в гр. N-14 эти изменения были минимальными, а в гр. N-28 - очень выраженными [9,11].

Внешний вид крыс гр. N-14 мало отличался от внешнего вида контрольных животных, тогда как крысы гр. N-28 имели шерсть – неопрятную,

«дыбом», без естественного блеска, глаза – «остекленевшие» с багровым оттенком, ротовая и носовая область лицевой части головы, кожный покров дистальных отделов конечностей и хвоста – с цианотичным оттенком. Такие крысы находились, в основном, в «застывшей», «вялой» позе, не взаимодействовали между собой, наблюдались случаи членовредительства [12].

Следует отметить, что в гр. N-28 в гомогенатах мозга наблюдался самый высокий уровень содержания 2,3-дифосфоглицерата, который повышается при выраженной гипоксии тканей, и самый низкий уровень содержания основного фосфолипида внутренней мембраны митохондрий - кардиолипина, что способствовало нарушению окислительного фосфорилирования и снижению синтеза АТФ. Данное состояние способствовало нарушению синаптической пластичности в нейронах, что, предположительно, и влекло за собой развитие заторможенных реакций, выраженного дистресса у крыс гр. N-28 с последующей высокой вероятностью их гибели. В гр. N-14 также наблюдались сдвиги в энергетическом и прооксидантно-антиоксидантном балансе, однако они были незначительными и частично компенсировались, что сопровождалось легкой степенью дистресса и легкими нарушениями поведенческих реакций и когнитивных функций [13,14].

Итак, у экспериментальных животных наблюдаем развитие патологического состояния (нитритная модель БА), и МВ и пучковая зона НП показывают морфофункциональную картину развития стрессовой реакции. Мозговое вещество НП, продуцирующее стрессорганизирующие гормоны адреналин и норадреналин, имеет признаки морфофункциональной активации нейроэндокриноцитов в обеих основных группах и декомпенсации мозгового вещества при введении раствора нитрита натрия в течение 28 дней. У взрослых животных, как известно, мозговое вещество НП не имеет камбиальных клеток, и продолжительная активация мозгового вещества ведет к его атрофизации. Пучковая зона коры НП, продуцирующая стресслимитирующий гормон кортикостерон, морфофункционально находится в аналогичном состоянии, но поскольку спонгиоциты имеют эпителиальное происхождение, возможна как внутриклеточная, так и клеточная регенерация; в гр. N-28 камбиальный слой коры НП истончен, но еще не исчерпан. Можно назвать такое морфофункциональное состояние пучковой зоны коры НП *на грани декомпенсации*. Очевидно, что развитие патологического состояния (нитритная модель БА) и разрушение гомеостаза «включает» многочисленные звенья его восстановления, в т.ч. МВ и пучковую зону НП, продуцирующих катехоламины и кортикостероиды, т.е. развивается эндогенный стресс. 14-дневный курс нитрита натрия вызвал

состояние эустресса или начального этапа дистресса, а 28-дневный курс – тяжелого дистресса, с очевидным близким летальным исходом экспериментальных животных.

В клинике стресс, в т.ч. эмоциональный стресс, считается фактором риска серьезности и прогрессирования болезни Альцгеймера [9]. Полученные в настоящем исследовании результаты объясняют эту клиническую особенность больных людей с болезнью Альцгеймера. Человек в состоянии хронического стресса имеет соответствующие гиперактивные мозговое вещество и пучковую зону надпочечников, поэтому при развитии болезни Альцгеймера быстро развивается недостаточность этих компонентов надпочечников, восстановление гомеостаза становится невозможным и пациент умирает.

Выводы

1. При моделировании болезни Альцгеймера у лабораторных крыс введением водного раствора нитрита натрия в дозе 50 мг/кг массы тела ежесуточной внутривентрикулярной инъекцией в течение 14 и 28 дней в мозговом веществе и пучковой зоне коры надпочечников формируется

картина их морфофункциональной активации.

2. В группе с 28-дневным курсом введения раствора нитрита натрия появляются морфофункциональные признаки декомпенсации МВ и пучковой зоны НП, (особенно выражено - МВ), что свидетельствует о развитии у животных тяжелого дистресса и невозможности восстановления гомеостаза.

Перспективы дальнейших разработок

В перспективе планируется изучить морфофункциональные особенности клубочковой и сетчатой зон НП, а также сопроводить биохимическим исследованием уровня соответствующих гормонов.

Источники финансирования

Работа выполнена в рамках научно-исследовательской темы «Патогенез повреждающего действия на организм экзогенных факторов в современных условиях» (номер государственной регистрации 0115U000991).

Информация о конфликте интересов

Потенциальных или явных конфликтов интересов, связанных с этой рукописью, на момент публикации не существует и не предвидится.

Литературные источники References

1. Briskey D, Tucker PS, Johnson DW, Coombes JS. Microbiota and the nitrogen cycle: Implications in the development and progression of CVD and CKD. *Nitric Oxide*. 2016;57:64-70. DOI: 10.1016/j.niox.2016.05.002. Epub 2016 May 7. PMID: 27164294.

2. Lundberg JO, Gladwin MT, Ahluwalia A, Benjamin N, Bryan NS, Butler A, Cabrales P, Fago A, Feelisch M, Ford PC, Freeman BA, Frenneaux M, Friedman J, Kelm M, Kevil CG, Kim-Shapiro DB, Kozlov AV, Lancaster JR Jr, Lefer DJ, McColl K, McCurry K, Patel RP, Petersson J, Rassaf T, Reutov VP, Richter-Addo GB, Schechter A, Shiva S, Tsuchiya K, van Faassen EE, Webb AJ, Zuckerman BS, Zweier JL, Weitzberg E. Nitrate and nitrite in biology, nutrition and therapeutics. *Nat Chem Biol*. 2009;5(12):865-869. DOI: 10.1038/nchembio.260. PMID: 19915529; PMCID: PMC4038383.

3. Jackson JK, Patterson AJ, MacDonald-Wicks LK, Oldmeadow C, McEvoy MA. The role of inorganic nitrate and nitrite in cardiovascular disease risk factors: a systematic review and meta-analysis of human evidence. *Nutr Rev*. 2018;76(5):348-371. DOI: 10.1093/nutrit/nuy005. PMID: 29506204.

4. Omar SA, Webb AJ, Lundberg JO, Weitzberg E. Therapeutic effects of inorganic nitrate and nitrite in cardiovascular and metabolic diseases. *J Intern Med*. 2016;279(4):315-336. DOI: 10.1111/joim.12441. Epub 2015 Nov 2. PMID: 26522443.

5. Gao C, Gupta S, Adli T, Hou W, Coolsaet R, Hayes A, Kim K, Pandey A, Gordon J, Chahil G, Belley-Cote EP, Whitlock RP. The effects of dietary nitrate supplementation on endurance exercise performance and cardiorespiratory measures in healthy adults: a systematic review and meta-analysis. *J Int Soc Sports Nutr*. 2021;18(1):55. DOI: 10.1186/s12970-021-00450-4. PMID: 34243756; PMCID: PMC8268374.

6. Panesar NS, Chan KW. Decreased steroid hormone synthesis from inorganic nitrite and nitrate: studies in vitro and in vivo. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2000;169(3):222-230. DOI: 10.1006/taap.2000.9079. PMID: 11133344.

7. Adalakun SA, Ukwenya VO, Ogunlade BS, Aniah AJ, Ibiayo GA. Nitrite-induced testicular toxicity in rats: therapeutic potential of walnut oil. *JBRA Assist Reprod*. 2019;23(1):15-23. DOI: 10.5935/1518-0557.20180062. PMID: 30106544; PMCID: PMC6364280.

8. Soliman MM, Aldhahrani A, Elshazly SA, Shukry M, Abouzed TK. Borate Ameliorates Sodium Nitrite-Induced Oxidative Stress Through Regulation of Oxidant/Antioxidant Status: Involvement of the Nrf2/HO-1 and NF-κB Pathways. *Biol Trace Elem Res*. 2021; DOI: 10.1007/s12011-021-02613-5. Epub ahead of print. PMID: 33559025.

9. Nikolayeva OV, Pavlova OO, Lukyanova YM, Gubina-Vakulik GI, Gorbach TV, inventors; Kharkiv national medical university, assignee. Method for modeling Alzheimer's dementia of vas-

cular origin in rats. Ukrainian patent UA 141759. 2020 Apr 27. Int. Cl. G09B 23/28. Ukrainian.

10. Pshennykova MG. [The phenomenon of stress. Emotional stress and its role in pathology]. Pathological physiology and experimental therapy. 2001;4:28-40. Russian.

11. Luk'yanova YM. [Changes in cognitive functions in rats with dementia of Alzheimer's type of vascular origin on the background of the introduction of stem cells]. In: [Mechanisms of development of pathological processes and diseases and their pharmacological correction: abstracts of reports of the II scientific and practical Internet-conference with international participation; 2019 November 21; Kharkiv, Ukraine]. NFaU; 2019. p. 238. Ukrainian.

12. National Research Council (US) Committee for the Update of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. Veterinary care [Internet]. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. 8th edition. U.S. National Academies Press; 2011 [cited 2021 Sept 8]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK54052/>

13. Zorenko YM, Pavlova OO, Gorbach TV, Martynova SM. [The role of hypoxia and mitochon-

drial dysfunction in the mechanisms of development of experimental dementia of Alzheimer's type of different genesis in rats, evaluation of the possibility of correction of this condition by mesenchymal stem cells]. Bulletin of problems of biology and medicine. 2021;1(159):66-72. Ukrainian.

14. Zorenko YM, Prokhorenkova ZO. [Dynamics of the state of the prooxidant-antioxidant system and the brain of rats with nitrite-induced dementia of the Alzheimer's type on the background of the introduction of mesenchymal stem cells]. In: [Current issues of modern medicine: abstracts of the XVIII International Scientific Conference of students, young scientists and professionals. 2021 April 22-23; Kharkiv, Ukraine]. KhNU im.V.N. Karazina; 2021. p.76-77. Ukrainian.

15. Lesuis SL, Maurin H, Borghgraef P, Lucassen PJ, Van Leuven F, Krugers HJ. Positive and negative early life experiences differentially modulate long term survival and amyloid protein levels in a mouse model of Alzheimer's disease. *Oncotarget*. 2016;7(26):39118-39135. DOI: 10.18632/oncotarget.9776. PMID: 27259247; PMCID: PMC5129918.

Губіна-Вакулик Г.І., Денисенко С.О., Горбач Т.В., Зоренко Є.М., Гойдіна В.С. Морфофункціональний стан мозкової речовини і пучкової зони кори надниркових залоз при моделюванні хвороби Альцгеймера надлишковим введенням нітриту натрію.

РЕФЕРАТ. Актуальність. Нітрати і нітрити присутні в ґрунті, воді, продуктах харчування людини, барвниках і ліках. У літературі розглядаються як позитивні, так і негативні ефекти від попадання нітратів і нітритів в організм. У роботі була використана нітритна модель деменції Альцгеймера судинного походження. **Мета** дослідження - вивчити морфофункціональний стан надниркових залоз експериментальних тварин при тривалому введенні нітриту натрію. Дослідження проведено на щурах-самцях популяції WAG, які були розділені на 3 групи: гр. N-14 - отримували ін'єкції водного розчину нітриту натрію в дозі 50 мг / кг маси тіла щодня протягом 14 днів; гр. N-28 - щури отримували аналогічні ін'єкції протягом 28 днів. Ін'єкції - внутрішньочеревні. Контрольним щурам вводили 0,9% розчин натрію хлориду. **Результати.** У тварин основних груп має місце формування морфофункціональної картини розвитку стресової реакції, що підтверджено також морфометрично, також в групі N-28 - з ознаками початкової декомпенсації мозкової речовини і пучкової зони кори надниркових залоз. **Висновок.** При моделюванні хвороби Альцгеймера у лабораторних щурів введенням водного розчину нітриту натрію в дозі 50 мг / кг маси тіла щодобового внутрішньочеревною ін'єкцією протягом 14 і 28 днів в мозковій речовині і пучковій зоні кори надниркових залоз формується картина їх морфофункціональної активації. У групі з 28-денним курсом введення розчину нітриту натрію з'являються морфофункціональні ознаки декомпенсації мозкової речовини і пучкової зони надниркових залоз (особливо виражено – у мозковій речовині), що свідчить про розвиток у тварин важкого дистресу і неможливості відновлення гомеостазу.

Ключові слова: хвороба Альцгеймера, нітрит натрію, надниркові залози, щури.

Губина-Вакулик Г.И., Денисенко С.А., Горбач Т.В., Зоренко Е.М., Гойдина В.С. Морфофункциональное состояние мозгового вещества и пучковой зоны коры надпочечников при моделировании болезни Альцгеймера избыточным введением нитрита натрия.

РЕФЕРАТ. Актуальность. Нитраты и нитриты присутствуют в почве, воде, продуктах питания человека, красителях и лекарствах. В литературе рассматриваются как положительные, так и отрицательные эффекты от попадания нитратов и нитритов в организм. В работе была использована нитритная модель деменции альцгеймеровского типа сосудистого происхождения. **Цель** исследования – изучить морфофункциональное состояние надпочечников экспериментальных животных при длительном введении нитрита натрия. Исследование проведено на крысах-самцах популяции WAG, которые были разделены на 3 группы: гр. N-14 – получали инъекции водного раствора нитрита натрия в дозе 50 мг/кг массы тела

ежедневно в течение 14 дней; гр. N-28 – крысы получали аналогичные инъекции в течение 28 дней. Инъекции – внутривбрюшинные. Контрольным крысам вводили 0,9% раствор натрия хлорида. **Результаты.** У животных основных групп имеет место формирование морфофункциональной картины развития стрессовой реакции, что подтверждено также морфометрически, причем в группе N-28 – с признаками начинающейся декомпенсации мозгового вещества и пучковой зоны коры надпочечников. **Заключение.** При моделировании болезни Альцгеймера у лабораторных крыс введением водного раствора нитрита натрия в дозе 50 мг/кг массы тела ежесуточной внутривбрюшинной инъекцией в течение 14 и 28 дней в мозговом веществе и пучковой зоне коры надпочечников формируется картина их морфофункциональной активации. В группе с 28-дневным курсом введения раствора нитрита натрия появляются морфофункциональные признаки декомпенсации мозгового вещества и пучковой зоны надпочечников, (особенно выражено – мозговое вещество), что свидетельствует о развитии у животных тяжелого дистресса и невозможности восстановления гомеостаза.

Ключевые слова: Болезнь Альцгеймера, нитрит натрия, надпочечники, крысы.