

**МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВНУТРЕННИХ ОРГАНОВ
И ТКАНЕЙ ЖИВОТНЫХ ПОД ВЛИЯНИЕМ СУБСТАНЦИИ КДЗ
В УСЛОВИЯХ ХРОНИЧЕСКОЙ ТОКСИЧНОСТИ**

Камчибекова Чолпон

*канд. мед. наук, старший научный сотрудник Инновационного центра
фитотехнологий Национальной академии наук Кыргызской Республики,
720071, Кыргызстан, г. Бишкек, Проспект Чуй, 267
E-mail: kamch1950@mail.ru*

**MORPHOLOGICAL EXAMINATION OF INTERNAL PARTS
OF A BODY AND ANIMAL TISSUE UNDER THE INFLUENCE
OF CDZ SUBSTANCES IN CONDITIONS OF CHRONIC TOXICITY**

Cholpon Kamchibekova

*Candidate of medical sciences, the senior research scientist of the Innovative center
of phytotechnologies of National Academy of Sciences of the Kyrgyz Republic,
720071, Kyrgyzstan, Bishkek, Prospectus Chuy, 267*

АННОТАЦИЯ

Создание новых эффективных и безопасных химиотерапевтических (ХТ) средств с целью расширения ассортимента лекарственных препаратов, предназначенных для лечения больных с онкологическими заболеваниями, остается актуальным [1]. Оно предусматривает исследование анатомо-морфологических свойств внутренних органов под действием исследуемого вещества в условиях хронической токсичности. Нашей целью являлось изучение влияния новой субстанции КДЗ на внутренние органы и ткани экспериментальных животных.

Анатомо-морфологическое исследование внутренних органов и тканей экспериментальных животных под действием субстанции КДЗ изучалось



Камчибекова Ч. Морфологическое исследование внутренних органов и тканей животных под влиянием субстанции КДЗ в условиях хронической токсичности // Universum: Медицина и фармакология : электрон. научн. журн. 2016. № 5 (27). URL: <http://7universum.com/ru/med/archive/item/3193>

на 160 белых беспородных мышах и 240 крысах-самцах при внутрибрюшинном (в/б) введении в дозах: 1/5 (390 мг/кг), 1/10 (195 мг/кг) и 1/20 (98 мг/кг) в течение 1, 2 и 3-х месяцев в сравнении с циклофосфамидом. Наблюдение за животными проводилось до опыта, на 7-й, 14-й, 28-й дни и в течение трех месяцев. Определялась масса тела животных по общеизвестной методике [2; 9].

Исследования внутренних органов и тканей экспериментальных животных (мыши и крысы) в условиях хронической токсичности КДЗ проводились в сравнении с циклофосфамидом [5; 7]. Забирались внутренние органы животных, которые фиксировались в 10 % формалине, жидкости Карнуа и 96 % спирте. Микротомировались на санном микротоме. Гистологическая обработка материалов проводилась по общепринятым методикам. Микроскопия тканевых структур внутренних органов проводилась по алгоритмам, разработанным для каждого органа на светооптическом микроскопе МБИ-15-2 по общеизвестным методам [3].

Результаты исследования свидетельствуют о нетоксичности субстанции КДЗ, отсутствии структурных изменений изученных органов.

ABSTRACT

Creation of new effective and safe chemotherapy (CT) sources in order to expand the range of medicines to treat patients with cancer remains relevant [1]. It involves the study of anatomical and morphological properties of the internal organs under the influence of the test substance under the conditions of chronic toxicity. Our aim is to study the effect of new CDZ substance on internal parts of the body and tissues of the experimental animals.

Anatomical and morphological examination of internal organs and tissues of experimental animals by the action of CDZ substance is studied in 160 white mongrel mice and 240 male rats after intraperitoneal (i / p) administration of doses 1/5 (390 mg / kg), 1/10 (195 mg / kg) and 1/20 (98 mg / kg) during 1, 2 and 3

months compared to cyclophosphamide. Watching for the animals is carried out before the experiment on the 7th, 14th, 28th days and during three months. Animals' weight is measured by a well-known technique [2; 9].

Studies of internal organs and tissues of experimental animals (mice and rats) under CDZ chronic toxicity are conducted compared to cyclophosphamide [5; 7]. Animals' internal organs are collected and fixed in 10% formalin, Camoy's fluid and 96% spirit. They make microtoming on sliding microtome. Histological processing of materials is carried out according to conventional techniques. Microscopy of tissue structures of internal organs is made according to algorithms developed for each body in the light-optical microscope MBI-15-2 on the well-known methods [3].

Research results show non-toxic CDZ substance, the absence of structural changes of studied organs.

Ключевые слова: анатомо-морфологическое, хроническая токсичность, субстанция КДЗ, циклофосфамид, экспериментальные животные, внутрибрюшинное и внутривенное введение, внутренние органы и ткани, формалин, жидкость Карнуа, гистологическая обработка, микротом, микроскопия.

Keywords: anatomic and morphological, chronic toxicity; CDZ substance; cyclophosphamide; experimental animals; intraperitoneal and intravenous introduction; internal organs and tissues; formali; Camoy's fluid; histological processing; microtome; microscopy.

Введение. Для создания новых лекарственных веществ важное значение имеет анатомо-морфологическое исследование внутренних органов и тканей экспериментальных животных. В связи с этим цель нашей работы - проведение гистоморфологических исследований внутренних органов и тканей животных под действием субстанции КДЗ в соответствии с

Методическими рекомендациями ФК МЗ РФ, ДЛО и МТ МЗ КР в сравнении с циклофосфамидом [6; 8; 10].

Материалы и методы исследования. В ходе эксперимента учитывались интегральные показатели: внешний вид, состояние кожи, шерстного покрова, ректальная температура, поведение, симптомы интоксикации, прирост массы тела, потребление пищи и воды за сутки. В течение срока наблюдения общее состояние экспериментальных животных было удовлетворительным. При наружном осмотре кожные покровы, слизистые - чистые, костный скелет не поврежден.

В конце эксперимента вскрытие животных проводилось под хлороформным наркозом, методом декапитации через 1, 2 и 3 месяца. Из каждой группы забивалось по 3 животных. Погибшие животные вскрывались согласно общепринятым методам.

У экспериментальных животных для гистологического исследования забирались внутренние органы. Образцы ткани для гистологического исследования фиксировались в 10 % нейтральном формалине и жидкости Карнуа. Микротомировались на санном микротоме. Гистологическая обработка материалов проводилась по общепринятым методикам.

Микроскопия тканевых структур внутренних органов проводилась по алгоритмам, разработанным для каждого органа на светооптическом микроскопе МБИ-15-2 по общеизвестным методам [3].

Результаты исследования и их обсуждение. При вскрытии макроскопически внутренние органы имели обычноерасположение, без аномалий [4]. Проводилось исследование тканевых структур внутренних органов (сердце, легкие, желудок, тонкий и толстый кишечника).

Микроскопически сердца животных контрольных групп в норме. После введения субстанции КДЗ в дозе 390 мг/кг отмечается полнокрое сосудов (рис. 1). Просматривается поперечная исчерченность, и вставочные диски бронхов легких утолщены (рис. 2). Обширные участки слизистой



Рисунок 1. Сердце. КДЗ. 390 мг/кг. Полнокровие сосудов сердца. Кардиомиоциты типичного строения, в прослойках соединительной ткани - большое количество полнокровных кровеносных сосудов и единичные клеточные элементы. Окраска гематоксилином и эозином. Об. 16, ок. 6.

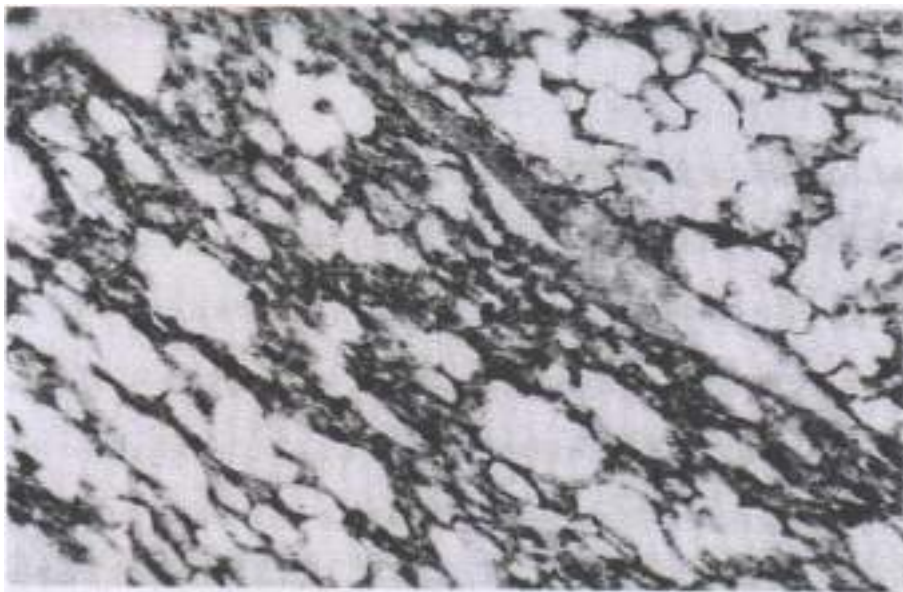


Рисунок 2. Легкие. КДЗ. 390 мг/кг. Переполнение кровью капилляров альвеол. Утолщение стенок, отечные проявления, в альвеолах - оксифильно окрашивающиеся массы. Окраска гематоксилином и эозином. Об. 16, ок. 6.

оболочки заполнены лимфогистиоцитарным инфильтратом, иногда выбухающим в просвет крупного бронха. На близлежащих участках легкого альвеолярный интерстиций отечный. Слизистые оболочки средних

и мелких бронхов умеренно инфильтрированы лимфоидными клетками, встречаются единичные макрофаги, тучные и плазматические клетки. Отмечается утолщение стенок, отечные проявления, местами в альвеолах - оксифильно окрашивающиеся массы. В дозах 195 и 98 мг/кг в перегородках - активированные макрофаги и тучные клетки (рис. 3), изменений не обнаружено.

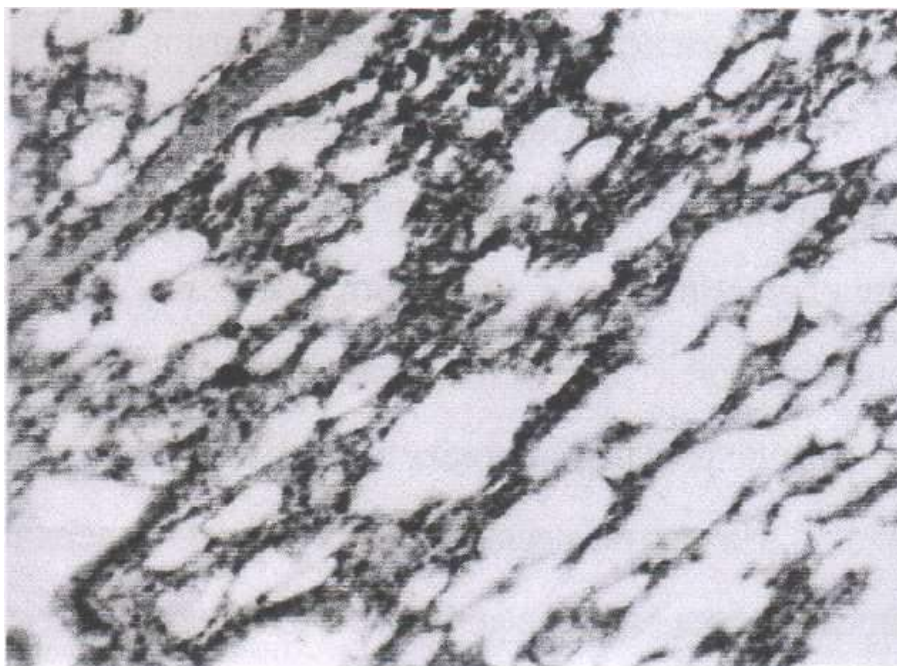


Рисунок 3. Легкие. КДЗ. 195 мг/кг. Кровеносные сосуды расширены, стенки их отечны, просветы заполнены плазмой, местами пристеночно - лейкоциты. Альвеолы спавшиеся, стенки отечны, капилляры расширены. Окраска гематоксилин-эозином. Об. 16, ок. 6.

В контрольных группах в стенке желудка в ранние сроки наблюдения была отмечена слабовыраженная лейкоцитарная инфильтрация и незначительный отек соединительной ткани. В более поздние сроки не было отмечено изменений в структуре эпителия и желудочных желез (рис. 4). При введении КДЗ в дозе 390 мг/кг на поверхности слизистой были отмечены скопления эозинофильно окрашенных масс, а в поверхностном эпителии желудка дистрофические изменения клеток и микроэрозии. Собственная пластинка слизистой отечна, гиперемирована, инфильтрирована лимфоцитами и

макрофагами. Местами секреторный эпителий желез дистрофически изменен, границы между клетками стерты. В области дна желез, соединительнотканых прослойках мышечной пластинки, подслизистой оболочке обильная инфильтрация эозинофильными клетками. Просветы желез кистообразно расширены (рис. 5). На третий месяц

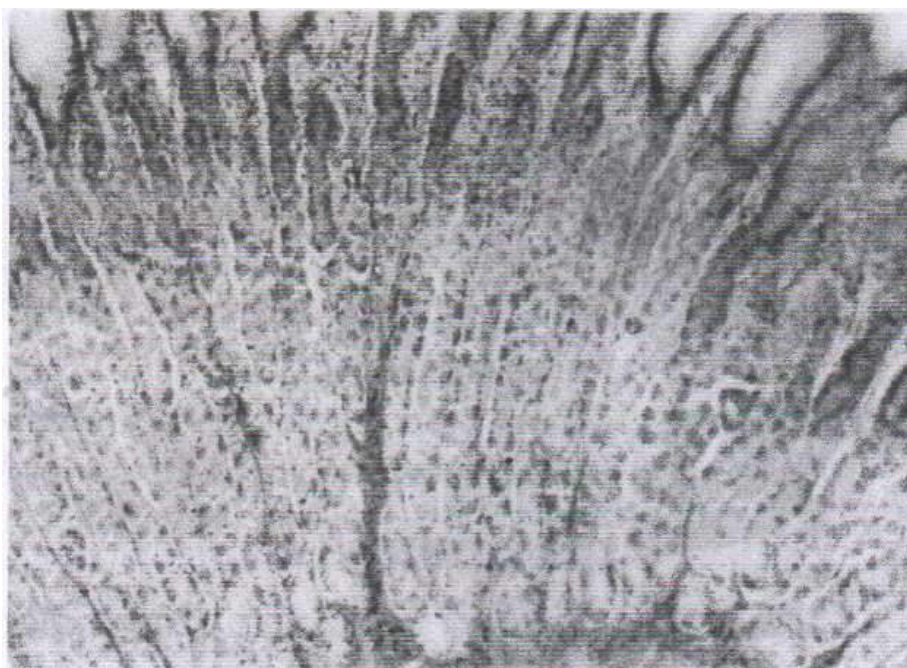


Рисунок 4. Желудок. Контроль 2. В концевых отделах желез определяются очень крупные обкладочные и мелкие главные клетки. Кровеносные сосуды микроциркуляторного русла расширены, в просветах и соединительной ткани определяются лейкоциты. Окраска гематоксилином и эозином. Об. 10, ок. 4,6.

опыта структура поверхностного эпителия изменена, определяются дистрофические и некробиотические изменения и микроэрозии. Толщина пластинки слизистой оболочки желудка снижена. Просветы фундальных желез расширены. Эпителиальная выстилка фундальных желез представлена характерными типами клеток с преобладанием мукоцитов шейки. В главных

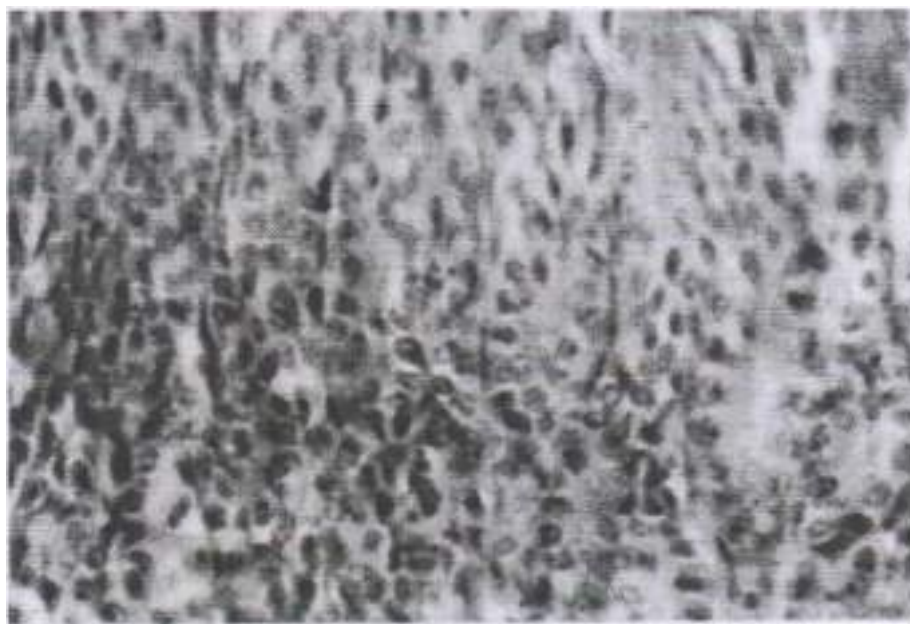


Рисунок 5. Желудок. КДЗ. 390 мг/кг. Просветы желез, сосуды расширены, в них определяется слизь, межклеточные пространства расширены. В соединительной ткани - значительное содержание лимфоидных клеток, макрофагов. Окраска гематоксилином и эозином. Об. 16, ок. 6.

и париетальных клетках встречаются крупные вакуоли. В собственной пластинке слизистой оболочки желудка с увеличением высоты цилиндрического эпителия вплоть до его уплощения экзокриноциты дистрофически изменены, набухшие, четко определяется доминирование слизиобразующих клеток, в большом количестве определяются малодифференцированные клетки. Просветы желез существенно расширены, здесь располагаются как поверхностно ямочные, так и добавочные клетки типа париетальных. Глубже в железах встречаются париетальные клетки с крупными вакуолями в цитоплазме. Они чередуются с главными клетками и мукоцитами. В строме фундальных желез наряду с фибробластами, эозинофилами, макрофагами встречаются малодифференцированные клетки. В подслизистой оболочке наблюдаются отек стромы, полнокровие сосудов, выраженные очаговые скопления нейтрофилов. В дозе КДЗ 195 мг/кг в покровном эпителии слизистой наблюдается снижение высоты цилиндрического эпителия вплоть до его уплощения. Экзокриноциты дистрофически изменены, набухшие, четко определяется доминирование слизиобразующих клеток, в большом количестве

определяются малодифференцированные клетки. Просветы желез существенно расширены, здесь располагаются как поверхностноямочные, так и добавочные клетки типа париетальных. Глубже в железах встречаются париетальные клетки с крупными вакуолями в цитоплазме. Они чередуются с главными клетками и мукоцитами. В строме фундальных желез наряду с фибробластами, эозинофилами, макрофагами встречаются малодифференцированные клетки. В подслизистой оболочке наблюдаются отек стромы, полнокровие сосудов, выраженные очаговые скопления нейтрофилов. В дозе 98 мг/кг видимых изменений не обнаружено.

У контрольных групп в слизистой оболочке тонкого кишечника структура ворсинок и всасывательный эпителий в норме. При введении КДЗ в дозе 390 мг/кг (рис. 6) поверхностный эпителий ворсин тонкого кишечника уплощен,

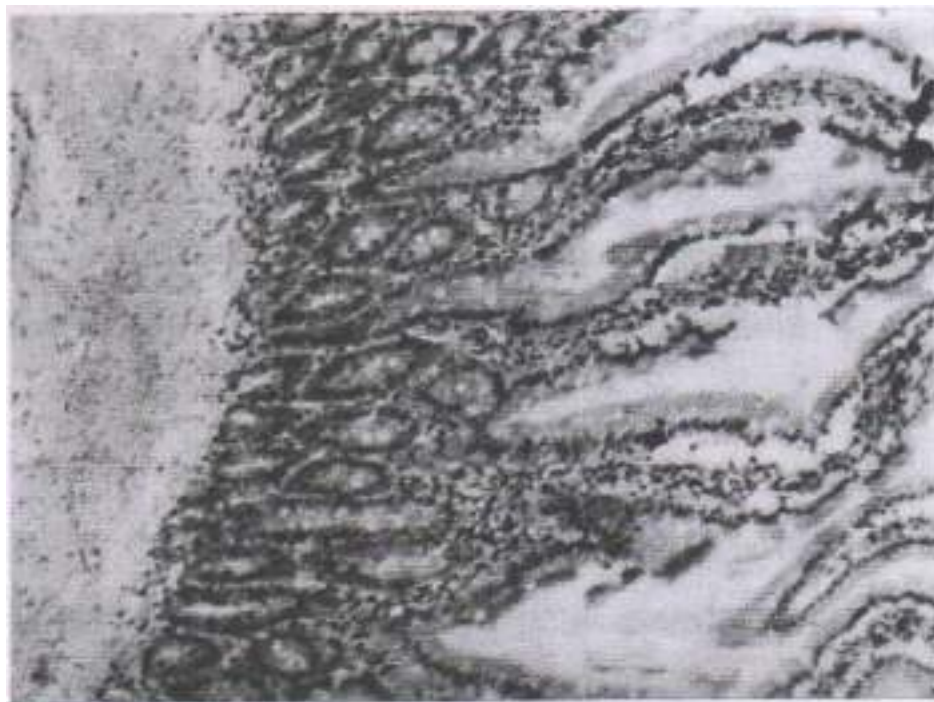


Рисунок 6. Тонкий кишечник. КДЗ. 390 мг/кг. Слущивание эпителия. Ворсины оголены вплоть до базальной мембраны. Собственная пластинка слизистой отечна, с диффузной инфильтрацией. Окраска гематоксилином и эозином. Об. 10, ок. 6.

некротизирован. Энтероциты ворсинок и крипт дистрофически изменены, лишены щеточной каймы. Резко увеличено количество бокаловидных клеток

с пикнотичным ядром. Повышена лимфоидно-клеточная инфильтрация стромы кишечных ворсинок. Сосуды и капилляры ворсин полнокровны и отмечены геморрагии. Характерны участки эрозии слизистой оболочки. На второй месяц отмечается складчатость эпителия ворсинок (рис. 7). В области верхушек ворсин наблюдается полиморфизм эпителиоцитов и их ядер. В строме слизистой оболочки обнаружены периваскулярные лимфоцитарно-плазмоцитарные инфильтраты. Просветы капилляров расширены, наблюдается эритростаз. На третий месяц пролиферация клеток (гистиоцитов и фибробластов) гистиоцитарного ряда.



Рисунок 7. Тонкий кишечник. КДЗ. 390 мг/кг. Поверхностный эпителий ворсин уплощен, имеет нечеткие контуры, во многих участках некротизирован. Энтероциты с признаками выраженных дистрофических изменений. В строме повышенная лимфоидноклеточная инфильтрация. Сосуды и капилляры стромы резко полнокровны. Окраска гематоксилином и эозином. Об. 16, ок. 6.

Воспалительный инфильтрат в собственной пластинке слизистой ограничивается ее пределами, но местами распространяется на подслизистую основу. В дозе 195 мг/кг границы между клетками поверхностного эпителия четкие, в редких случаях ядра, различные по величине, расположены ближе к апикальному отделу клеток (рис. 8).

Просветы сосудов расширены, отмечаются эритроциты. Количество бокаловидных клеток снижено. Просветы крипт свободны от детрита, глубина их значительно варьирует. В подслизистой оболочке отмечаются слабовыраженные плазмоцитарные инфильтраты, отсутствующие в других слоях кишечной стенки. В дозе 98 мг/кг видимых изменений не обнаружено.

В толстом кишечнике слизистая оболочка контрольных групп без особенностей. При введении субстанции КДЗ в дозе 390 мг/кг покровный эпителий толстого кишечника уплотнен, истончен, в отдельных участках слущен, базальная мембрана оголена. Энтероциты в состоянии атрофии или

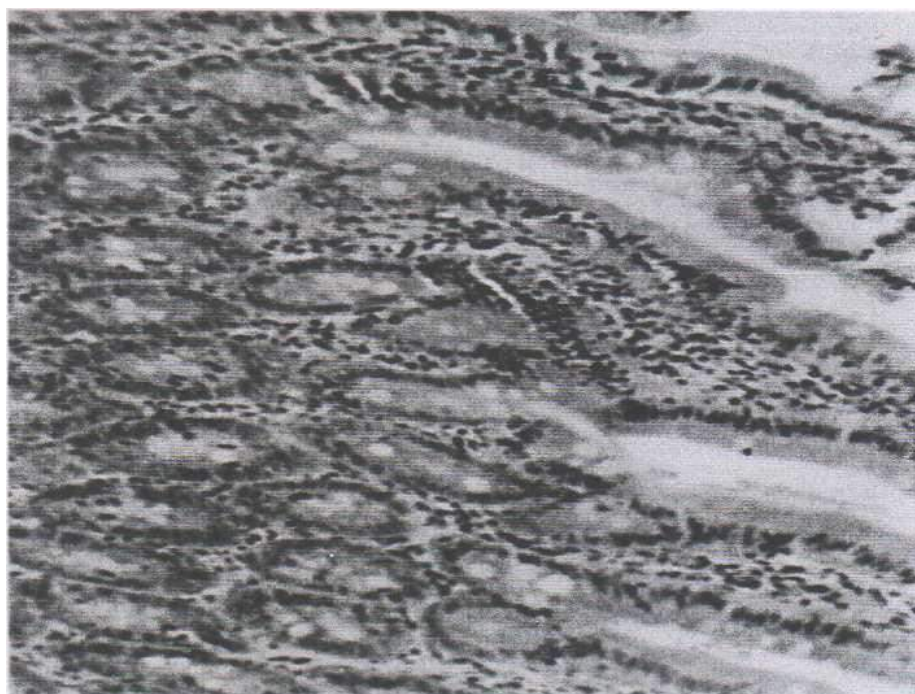


Рисунок 8. Тонкий кишечник. КДЗ. 195 мг/кг. Ворсинки укорочены, в строме -лимфоидная инфильтрация, эритроциты в капиллярах, повышенное количество бокаловидных клеток, в просветах крипт детрит. Окраска гематоксилином и эозином. Об. 10, ок. 6.

слизистого перерождения. На всем протяжении крипт количество бокаловидных клеток увеличено. У основания крипт отмечается полное ослизнение эпителия. Строма крипт разрыхлена, местами отслоена от покровного эпителия. Клеточные элементы стромы представлены

лимфоцитами, отдельными фибробластами и макрофагами. Количество и размеры лимфоидных фолликулов увеличены, в них наблюдаются светлые центры. Кровеносные капилляры утолщены и расширены. В мышечной пластинке отмечается инфильтрация межмышечной соединительной ткани. На второй месяц на поверхности слизистой определяются клетки десквамированного эпителия, слизисто-некротические массы. По периферии язвы определяется лейкоцитарный вал с пролиферирующими гистиоцитами и фибробластами. В участках эрозий отмечается лейкопедез в просвете кишки. Наблюдается расширение просвета, полнокровие сосудов микроциркуляторного русла, кровенаполнение вен подслизистой основы, капилляров слизистой оболочки и лимфостаз. При введении субстанции КДЗ в дозе 195 мг/кг выявляется эрозия слизистой оболочки кишечника, очаговая деструкция покровного эпителия и крипт по типу микроэрозий с образованием микрокистозных полостей, выстланных уплощенным эпителием, содержащих в просвете слизь (рис. 9).



Рисунок 9. Толстый кишечник. КДЗ. 98 мг/кг. Набухание клеток с участками очаговой деструкции, десквамации до разрушения эпителиоцитов, местами клетки слущены. Неравномерность глубины крипт, в их просветах - детрит, в строме-умеренная лимфоидная инфильтрация, эритростаз в капиллярах. Окраска гематоксилином, эозином. 06.10, ок. 6.

В просвете крипт и межэпителиально определяются скопления сегментоядерных лейкоцитов, обтурирующих просвет крипт. Строма отечна, капилляры расширены, лимфофолликулы укрупнены, отмечаются лейколимфоцитарные инфильтраты. В дозе 98 мг/кг патологий не выявлено. Циклофосфамид в дозе 20 мг/кг показал, что незначительно влияет на сердце, легкие, желудок, тонкий и толстый кишечники. Под действием препарата в дозах 10 и 5 мг/кг наблюдаются дистрофические изменения в сердце, легких, атрофические изменения в желудке, тонком и толстом кишечниках.

Заключение. Морфологическое изучение влияния токсического действия в хронических условиях субстанции КДЗ в дозах 390 и 195 мг/кг на органы (сердце, легкие, желудок, тонкий и толстый кишечники) показало, что не оказывается влияния на сердце и легкие, вызываются незначительные дегенеративно-дистрофические изменения желудка, тонкого и толстого кишечника. В дозе 98 мг/кг патологических изменений в исследуемых органах не проявляет. Циклофосфамид в дозе 20 мг/кг не вызывает изменений сердца и легких, наблюдаются дегенеративно-дистрофические изменения в желудке, тонком и толстом кишечниках. Под влиянием препарата в дозах 10 и 5 мг/кг наблюдаются обратимые дегенеративно-дистрофические изменения в желудке, тонком и толстом кишечниках, Таким образом, результаты исследования свидетельствуют о нетоксичности субстанции КДЗ, отсутствии структурных изменений изученных органов.

Список литературы:

1. Аткинсон А.Дж. Принципы клинической фармакологии. - М.: Практ мед., 2013.-556 с.
2. Временные методические рекомендации МЗ РФ. Требования к доклиническому изучению общетоксического действия новых фармакологических веществ. Управление по внедрению новых лекарственных средств и медицинской техники ФК МЗ РФ. - М., 1998. - 59 с.

3. Данилов Р.К., Быков В.Л., Одинцова И.А. Руководство по гистологии. Частная гистология органов и системное руководство. — М., 2006. — Т. II. — 735 С.
4. Камчибекова Ч.К., Зурдинов А.З., Джаманбаев Ж.А. Цитологическая характеристика и разработка нового производного гликозил-НММ-1. Международный симпозиум «Молекулярные механизмы регуляции функции клетки». - Тюмень, 2005.
5. Машковский М.Д. Лекарственные средства. - М.: Новая волна, 2008. - 1206 с.
6. Меликсетян И.Б. Новые подходы к гистохимическому изучению клеточных структур различных тканей организма в условиях нормы и патологии: автореф. дис. ... д-ра биол. наук. — Ереван, 2008. - 44 с.
7. Проценко Л.Д., Булкина З.П. Химия и фармакология синтетических противоопухолевых препаратов. - Киев: Наук. Думка, 1985. - 263 с.
8. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. - М.: ЗАО ИИА Ремедиум, 2004. - 398 с.
9. Трахтенберг И.М. Проблемы нормы в токсикологии. Современные представления и методические подходы основные параметры и константы. -М., 1991.
10. Фаллер Д.М., Шилдс Д. Молекулярная биология клетки. Руков. для врач. — М.: Бином-Пресс, 2008. - 256 с.

References:

1. Atkinson A.DZh. Principles of clinical pharmacology. Moscow, Pprakticheskaja meditsina Publ., 2013. 556 p. (In Russian).
2. The temporary methodical recommendations of the Ministries of Health of the Russian Federation. The Requirements to preclinical studying of an alltoxic effect of new pharmacological substances. The Management at introduction of new medicines and a medical equipment of the Pharmacological Committee

- of Ministries of Health of the Russian Federation. Moscow, 1998. 59 p. (In Russian).
3. Danilov R.K., Bykov V.L., Odintsova I.A. The Guide on the histology. The Private histology of organs and system. Moscow, 2006, Vol. II. 735 p. (In Russian).
 4. Kamchibekova Ch.K., Zurdinov A.Z., Djamanbayev J.A., etc. The cytologic characteristic and development of a new derivative of a glikozil-NMM. Proc. Intern. Symp. Molecular mechanisms of regulation of a cell function. Tyumen, 2005. (In Russian).
 5. Mashkovsky M.D. Drugs. Moscow, Novaia volna Publ., 2008. 1206 p. (In Russian).
 6. Meliksetyan I.B. The New approaches to histochemical studying of cellular structures of various organs & tissues in the conditions of a norm and pathology: Dr. Biol. Sci. diss. Yerevan, 2008. 44 p. (In Armenia).
 7. Protsenko L.D., Bulkina Z.P. The chemistry and pharmacology of synthetic antineoplastic preparations. Kiev, Nauk. Dumka Publ., 1985.- 263 p. (In Russian).
 8. Guide to experimental (preclinical) studying of new pharmacological substances. Moscow, ZAO IIA Remedium Publ., 2004. 398 p. (In Russian).
 9. Trakhtenberg I.M. Problems of norm in toxicology. Modern representations and methodical approaches key parameters and constants. Moscow, 1991. (In Russian).
 10. Faller D.M., Shields D. Molecular cytobiology. Moscow, Binom-Press Publ., 2008. 256 p. (In Russian).