

**АНАТОМО-МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВНУТРЕННИХ
ОРГАНОВ И ТКАНЕЙ ЖИВОТНЫХ ПРИ ИЗУЧЕНИИ ОСТРОЙ
ТОКСИЧНОСТИ СУБСТАНЦИИ КДЗ**

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*

**ANATOMICAL AND MORPHOLOGICAL RESEARCH
OF INTERNAL PARTS OF A BODY AND ANIMAL TISSUES
STUDYING ACUTE TOXICITY OF KDZ SUBSTANCES**

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

Расширение ассортимента лекарственных препаратов для лечения больных с онкологическими заболеваниями предусматривает разработку эффективных и безопасных химиотерапевтических (ХТ) средств. Поэтому исследование анатомо-морфологических свойств новых соединений, предназначенных для создания препаратов, являются актуальными [7].

Для анатомо-морфологической характеристики острой токсичности субстанции КДЗ использовались «Методические указания по доклиническому изучению фармакологических веществ. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ»

Фармакологического комитета Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФК МЗ РФ) (М., 1998, 2000) [1; 9].

Экспериментальные исследования внутренних органов и тканей животных при острой токсичности КДЗ проводились на мышах и крысах в сравнении с циклофосфамидом. Гистологическая обработка материалов проводилась по общепринятым методикам (Наyat М.А., 1993). Микроскопия структур внутренних органов, кожи и мышечной ткани проводилась на светооптическом микроскопе МБИ-15-2 по общеизвестным методам (Автандилов Г.Г., 1990) [3; 4].

Морфологическое исследование действия субстанции КДЗ при изучении острой токсичности показало, что субстанция не вызывает повреждений внутренних органов и тканей у мышей и крыс. В микроструктуре внутренних органов, кожи и мышечной ткани у экспериментальных животных отсутствуют видимые изменения в морфологии. Препарат циклофосфамид в токсической дозе не вызывает изменений в коже и подлежащей мышечной ткани и в структуре надпочечников; в почках отмечается набухание стенок артериол, дегенерация эпителия канальцев и развитие жировой дистрофии; и наблюдается некроз печеночных клеток.

ABSTRACT

Expanding the medicines assortment for the treatment of patients with cancer includes the development of effective and safe chemotherapy (CT) means. Therefore, the study of anatomical and morphological properties of new compounds for the creation of drugs are relevant [7].

"Guidelines for preclinical study of pharmacological substances. Manual on experimental (preclinical) study of new pharmacological substances" of Pharmacological Committee of the Russian Federation Ministry of Health (Moscow, 1998, 2000) are used for anatomical and morphological characteristics of acute toxicity of KDZ substance [1; 9].

Experimental investigations of internal organs and animal tissues in acute toxicity of KDZ are conducted on mice and rats compared to cyclophosphamide. Histological processing of materials is carried out by conventional methods (Hayat M.A., 1993). Structures microscopy of internal organs, skin and muscle tissue is performed on the light-optical microscope MBI-15-2 based on well-known methods (Avtandilov G.G., 1990) [3; 4].

Morphological study of the effect of KDZ substance in the study of acute toxicity has showed that the substance does not cause damage to internal organs and tissues in mice and rats. There are no visible changes in morphology in the microstructure of the internal organs, skin, and muscle tissue of experimental animals. The medicine cyclophosphamide in a toxic dose does not cause changes in the skin and underlying muscle and tissue structure in the adrenals; in nephros swelling of the walls of arterioles is marked, degeneration of tubular epithelium and the development of fatty degeneration; and there is necrosis of the liver cells.

Ключевые слова: анатомо-морфологические, экспериментальные животные, внутренние органы, кожа и мышечная ткань, формалин, жидкость Карнуа, микротом, гистологическая обработка.

Keywords: anatomical and morphological; experimental animals; internal organs; skin and muscular tissue; formalin; Carnoy's fluid; microtome; histology processing.

Введение. Анатомо-морфологические исследования внутренних органов и тканей у экспериментальных животных при изучении фармако-токсикологических свойств химических соединений имеют важное значение. С целью выявления возможного токсического резорбтивного действия субстанции КДЗ проведено морфологическое исследование внутренних органов и тканей у экспериментальных животных при изучении острой токсичности на фоне действия субстанции КДЗ [7].

Материалы и методы исследования. Для анатомо-морфологической характеристики острой токсичности субстанции КДЗ использовались «Методические указания по доклиническому изучению фармакологических веществ. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ» ФК МЗ РФ (М., 1998, 2000) и «Временные методические рекомендации МЗ Кыргызской Республики (КР). Требования к доклиническому изучению общетоксического действия новых фармакологических веществ» Департамента лекарственного обеспечения и медицинской техники (ДЛО и МТ) МЗ КР (Б., 1999) [1; 2; 6; 8; 9].

Эксперименты по анатомо-морфологическому исследованию внутренних органов и тканей экспериментальных животных при изучении острой токсичности КДЗ проводилось на 60 белых беспородных мышах и 60 крысах массой 20–22 г и 160–180 г обоих полов при однократном внутрибрюшинном (в/б) и внутривенном (в/в) введениях в сравнении с циклофосамидом [3–5; 8].

Из каждой группы забивалось по 3 животных. Оценка результатов опыта проводилась через 24 часа. Погибшие животные вскрывались согласно общепринятым методам. У выживших животных проводился ежедневный контроль массы тела. Наблюдение за животными проводилось в течение 7 суток, затем животные забивались под эфирным наркозом.

У всех животных забирались внутренние органы (кожа с подлежащей мышечной тканью, головной мозг, почки, надпочечники, печень) для гистологического исследования. Образцы ткани фиксировали в 10 % нейтральном формалине, жидкости Карнуа и 96 % спирте. Микротомировались на санном микротоме. Гистологическая обработка материалов проводилась по общепринятым методикам, окрашивали гематоксилином и эозином (Науат М.А., 1993). Микроскопия тканевых структур внутренних органов проводилась по алгоритмам, разработанным для каждого органа, на светооптическом микроскопе МБИ-15-2 по общеизвестным методам (Автандилов Г.Г., 1990) [1; 2].

Результаты исследования и их обсуждение. Проводилось морфологическое исследование кожи и подлежащей мышечной ткани у интактных животных, которое показало нормальную структуру. При введении КДЗ в дозе 1950 мг/кг (рис. 1) у опытных животных эпидермис умеренно ороговевающий, сохраняет дифференцировку. Прослеживается граница между эпидермисом и дермой. Распределение волосяных фолликулов и пучков гладкомышечных волокон имеет обычную гистотопографию. Наблюдаются лимфоциты и гистиоциты. В гиподерме выявляются тучные клетки. Структура подлежащей мышечной ткани без изменений.

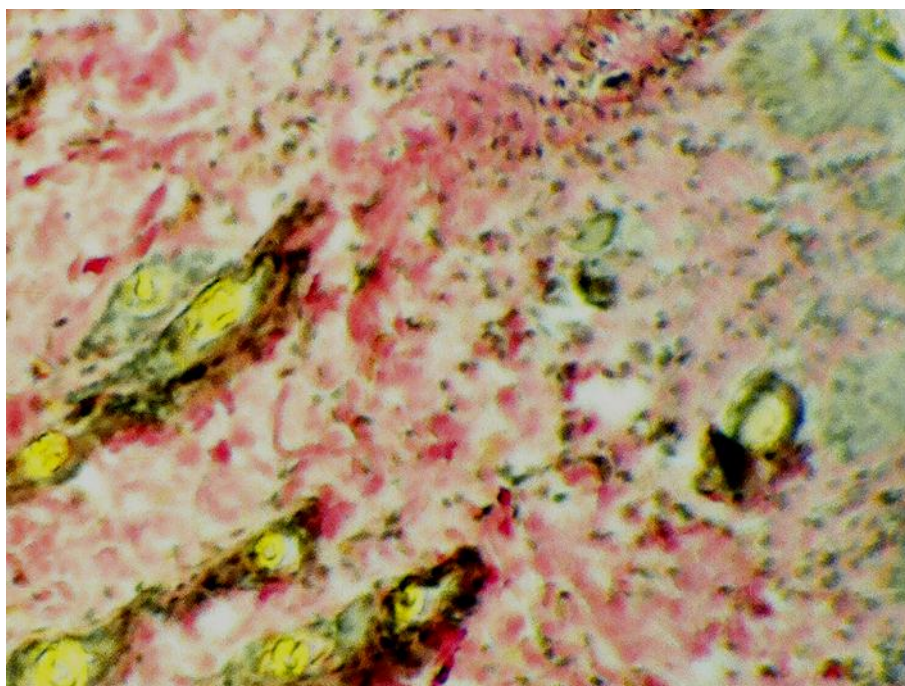


Рисунок 1. Кожа. КДЗ. 1950 мг/кг. Эпидермис умеренно ороговевающий, граница между эпидермисом и дермой выражена. Окраска пикрофуксином по Ван-Гизон. Об.10, ок. 4,6

Мягкая оболочка головного мозга контрольных животных состоит из соединительной ткани, внутреннего и наружного слоя, между которыми залегают кровеносные сосуды. Цитоархитектоника коры не нарушена. Нейроны в большинстве сохраняют нормальную форму и окраску. Глия без особенностей. У опытных животных при введении КДЗ в дозе 1950 мг/кг микроструктура мягкой оболочки (сосудистая) головного мозга состоит

из соединительной ткани с овальными ядрами и узким ободком цитоплазмы (рис. 2). Многие клетки головного мозга плотно прилежат к стенке капилляра, другие находятся в ее толще. В коре мозга наблюдаются как расширенные, так и суженные капилляры, которые содержат в просветах эритроциты. В сосудах обнаружено утолщение стенок, набухание ядер эндотелиальных клеток.

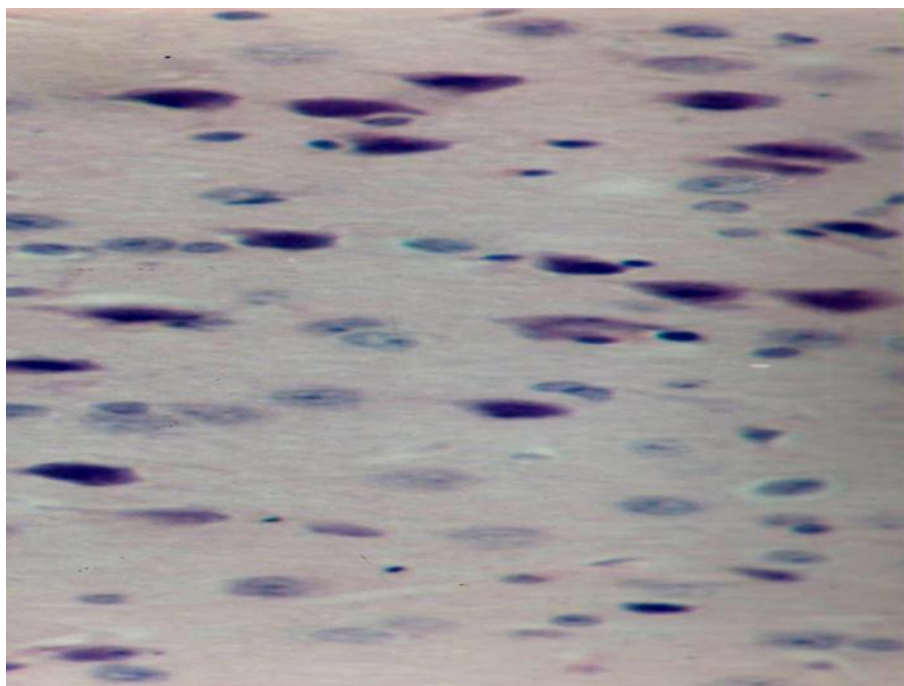


Рисунок 2. Головной мозг. КДЗ 1950 мг/кг. Нейроны сморщены, с гиперхромными ядрами, глиальные клетки с укрупненными ядрами, капилляры с расширенными просветами, периваскулярные пространства расширены. Окраска по Ниссию. Об.16, ок. 6

При макроскопическом исследовании капсула почек гладкая, легко снимается. Просвет канальцев имеет обычную ширину. Структура клеток, эпителиоциты без изменений. Кровеносные сосуды имеют обычное строение. Микроскопически наблюдаются клеточные инфильтраты, располагающиеся и проникающие в межканальцевые пространства. Определяются единичные дистрофически измененные нефроциты (рис. 3).

Визуально надпочечники плотные, с делением на корковый и мозговой слои. Микроскопическое исследование надпочечников у интактных крыс показало, что покрывающая орган снаружи капсула состоит из волокнистой

соединительной ткани, структура капсулы в норме. Клетки коры и мозгового вещества всех обследованных животных структурны. Микроскопически у животных опытной группы субстанция КДЗ в дозе 1950 мг/кг клубочковый



Рисунок 3. Почка. КДЗ. 1950 мг/кг. Мономорфные почечные клубочки, капиллярные петли ажурного рисунка. Просветы канальцев расширены. В корковом веществе – выраженные мозговые лучи. Окраска гема-токсилином и эозином. Об. 10, ок. 4,6

слой коры выражен незначительно (рис. 4). Единичные клетки этой зоны в отдельных случаях имеют просветленную цитоплазму. Клетки пучковой зоны имеют оксифильную цитоплазму и крупные ядра. Мозговой слой представлен крупными клетками, с бледно окрашивающейся цитоплазмой и слабо базофильным ядром, содержащими эритроциты и единичные лимфоциты. У животных контрольных групп макроскопически печень плотная, местами зернистая. Микроскопическое изучение показало, что ткань печени имеет дольково балочную гистоархитектонику. Гепатоциты полигональной формы, с темноокрашенной оксифильной цитоплазмой, изредка встречаются с одним или двумя крупными слабо базофильными ядрами, собраны в радиально расположенные, местами анастомозирующие тяжи. Просветы центральных вен в основном свободны от форменных элементов крови. У животных опытных

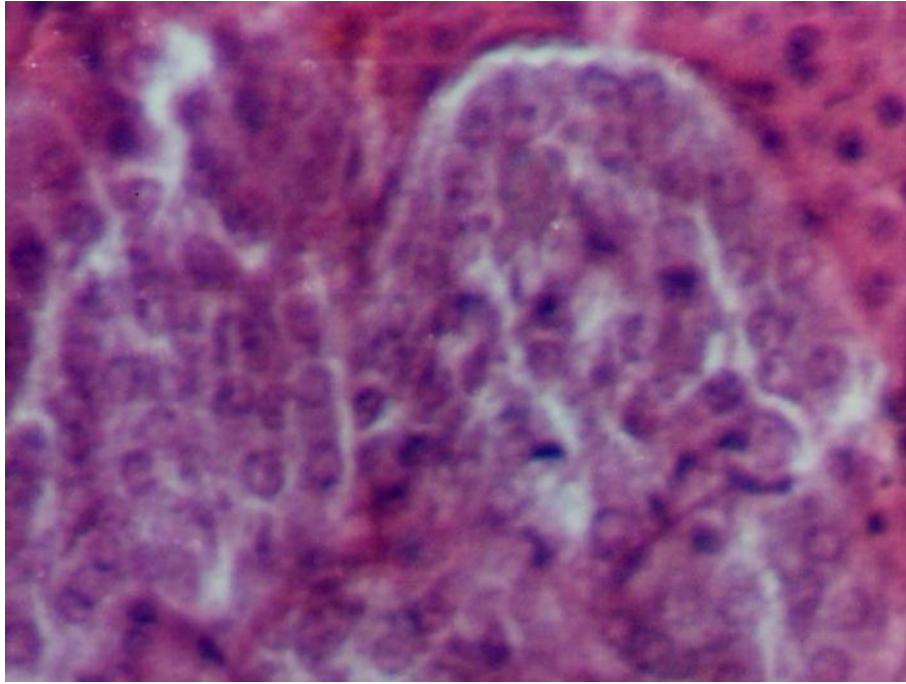


Рисунок 4. Надпочечники. КДЗ. 1950 мг/кг. Клубочковая зона состоит из мелких, темноокрашенных клеток. Пучковая зона представлена крупными призматическими клетками. В прослойках соединительной ткани большое количество капилляров. Окраска гематоксилином и эозином. Об. 16, ок. 4,6

групп в дозе 1950 мг/кг отмечается расширение синусоидов, их полнокровие, также немногочисленные периваскулярные инфильтраты и редкие мелкие мононуклеарные гранулемы (рис. 5). Портальные тракты и центральные зоны имеют типичное строение. Гепатоциты имеют полигональную форму. Ядра гепатоцитов мономорфные, содержат 1–2 крупных ядрышка. Цитоплазма равномерно окрашена. Изредка встречаются двуядерные гепатоциты. Эндотелиальные, купферовские и жиронакапливающие клетки, выстилающие синусоиды, выражены, их гиперхромные ядра выделяются среди монохромных ядер гепатоцитов.

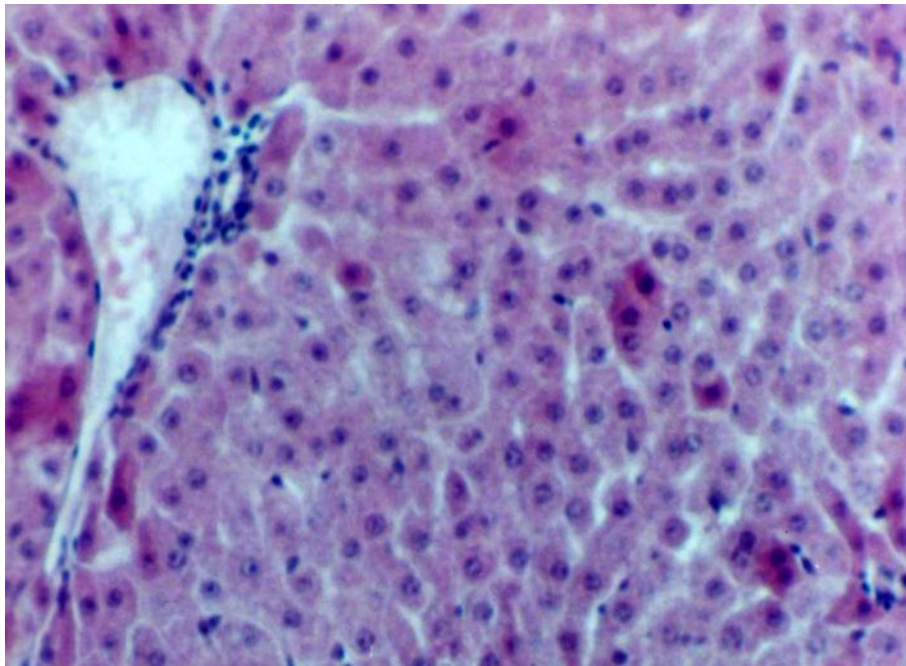


Рисунок 5. Печень. КДЗ. 1950 мг/кг. Расширение синусоидов, многочисленные периваскулярные инфильтраты. Окраска гематоксилином и эозином. Об. 10, ок. 6,4

Результаты морфологического изучения действия субстанции КДЗ в дозе 1950 мг/кг показали некоторые структурные изменения в изученных органах экспериментальных животных. Как отмечалось выше, у опытных групп животных признаков патологических изменений в коже, подлежащей мышечной ткани, в микроструктуре головного мозга не обнаружено. При обзорной микроскопии структура почек, надпочечников, печени у опытных групп животных соответствует норме. Морфологическое изучение действия субстанции КДЗ не обнаружило структурных изменений в изученных органах подопытных животных.

На аутопсии погибших животных признаков токсического резорбтивного действия субстанции КДЗ в дозе 1950 мг/кг на внутренние органы не наблюдается. Установлено, что субстанция КДЗ при изучении острой токсичности не вызывает повреждений внутренних органов у мышей и крыс. Микроструктура внутренних органов показала отсутствие видимых изменений в морфологии у экспериментальных животных.

Для сравнения проведено морфологическое изучение токсического резорбтивного действия циклофосфида в дозе 100 мг/кг на внутренние органы экспериментальных животных. Циклофосфамид у животных вызывает нарушения функций ряда органов и систем. Обладает выраженной гепатотропностью, приводит к быстро наступающему и продолжительному обеднению печеночных клеток гликогеном, наблюдается развитие жировой дистрофии, некроз и повышение сорбционной способности печени. В почках происходит набухание стенок артериол и дегенерация эпителия канальцев.

Заключение. Морфологическое исследование действия субстанции КДЗ при изучении острой токсичности показало, что субстанция не вызывает повреждений внутренних органов у мышей и крыс. Микроструктура внутренних органов продемонстрировала отсутствие видимых изменений в морфологии у экспериментальных животных. Препарат циклофосфамид в токсической дозе показал, что изменений в коже и подлежащей мышечной ткани, в структуре надпочечников не вызывает. Под действием циклофосфида в структуре почек отмечается набухание стенок артериол, дегенерация эпителия канальцев и наблюдается развитие жировой дистрофии, и некроз печеночных клеток.

Список литературы:

1. 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.
2. Данилов Р.К., Быков В.Л., Одинцова И.А. Руководство по гистологии. Частная гистология органов и системное руководство. – М., 2006. – Т. II. – 735 с.

3. Камчибекова Ч.К. Изучение влияния гликозил-НММ-1 на центральную нервную систему подопытных животных / Ч.К. Камчибекова, А.З. Зурдинов, Ж.А. Джаманбаев // Сб. науч. тр. – Бишкек: Илим, 2002. – С. 249–252.
4. Камчибекова Ч.К. Изучение возможного алергогенного действия гликозил-НММ-1 / Ч.К. Камчибекова, А.З. Зурдинов, Ж.А. Джаманбаев // Сб. науч. тр. – Бишкек: Илим, 2002. – С. 245–248.
5. 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. – С. 78–80.
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. Фаллер Д.М., Шилдс Д. Молекулярная биология клетки. Руков. для врача. – М.: Бином-Пресс, 2008. – 256 с.

References:

1. The Temporary methodical recommendations of the Ministries of Health of the Russian Federation. The Requirements to preclinical studying of an all-toxic 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).

2. 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).
3. Kamchibekova Ch. K., Zurdinov A.Z., Djamanbayev J.A. The studying of Influencing of an glikozil-NMM-1 on the central nervous system of experimental animals. Sbornik nauchykh trudov [Collection of scientific proceedings]. Bishkek, Ilim Publ., 2002. pp. 249–252. (In Kyrgyz).
4. Kamchibekova Ch.K., Zurdinov A.Z., Djamanbayev J.A. The Studying of possible an allergic action of a glikozil-NMM-1. Sbornik nauchykh trudov [Collection of scientific proceedings]. Bishkek, Ilim Publ., 2002. pp. 245–248. (In Kyrgyz).
5. Kamchibekova Ch.K., Zurdinov A.Z., Djamanbayev J.A. The cytologic characteristic and development of a new derivative of a glikozil-NMM. Mezhdunarodnyi simpozium «Molekuliarnye mekhanizmy reguliatsii funktsii kletki» [Proc. Intern. Symp. «Molecular mechanisms of regulation of a cell function»]. Tyumen, 2005. pp. 78–80. (In Russian).
6. Meliksetyan I.B. The new approaches to histochemical studying of cellular structures of various organs and tissues in the conditions of a norm and pathology: Dr. biol. sci. autopap. diss. Yerevan, 2008. 44 p. (In Armenya).
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. Faller D.M., Shields D. Molecular cytobiology. Moscow, Binom-Press Publ., 2008. 256 p. (In Russian).