

УДК 615.27:611.36.018:615.284.099

ВЛИЯНИЕ МЕКСИДОЛА НА МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ СТРУКТУРЫ ПЕЧЕНИ КРЫС, ПОДВЕРГШИХСЯ ХРОНИЧЕСКОЙ ИНТОКСИКАЦИИ БАНКОЛОМ

© 2015 г. Ю. Д. Ляшев, В. А. Королев, Н. Е. Кирищева, В. Н. Рыжаева

Курский государственный медицинский университет, г. Курск

Установлено, что моделирование хронической интоксикации банколом крысам Вистар сопровождается выраженными структурными изменениями ткани печени, что проявляется увеличением удельного объема некротизированной и дистрофически измененной ткани, расширением внутрипеченочных синусов, отеком стромы, увеличением количества двуядерных клеток. Применение мексидола для коррекции донозологических нарушений в период хронического введения банкола вызывает снижение количества некротизированной и дистрофически измененной ткани в 1,68 раза ($p = 0,0003$), а также усиление репаративных процессов, что проявляется увеличением количества двуядерных клеток в 2,02 раза ($p = 0,0004$) и числа клеток, в ядрах которых отмечается два и более ядрышек.

Ключевые слова: хроническая интоксикация, банкол, печень, мексидол

THE INFLUENCE OF MEXIDOL ON MORPHOLOGICAL CHANGES IN THE STRUCTURE OF THE LIVER OF RATS AFTER CHRONIC BANKOL INTOXICATION

Yu. D. Lyashev, V. A. Korolev, N. E. Kirishcheva, V. N. Ryzhaeva

Kursk State Medical University, Kursk, Russia

It has been established, that modeling of acute or chronic bankol intoxication in Vistar rats was accompanied by apparent structural changes in the liver tissue, that manifested in the increased proportion of necrotizing and burned-out tissues, widening of the intrahepatic sinuses, stroma edema, the increased number of binuclear cells. Use of mexidol during chronic bankol injections caused a decrease in the proportion of necrotizing and burned-out tissues by 1.68 times ($p = 0.0003$) as well as intensification of reparative processes by 2.02 times ($p = 0.0004$), that manifested in the increased number of binuclear cells and the number of cells, in which nuclei there were two or more nucleoli.

Keywords: chronic intoxication, bankol, liver, mexidol

Библиографическая ссылка:

Ляшев Ю. Д., Королев В. А., Кирищева Н. Е., Рыжаева В. Н. Влияние мексидола на морфологические изменения структуры печени крыс, подвергшихся хронической интоксикации банколом // Экология человека. 2015. № 12 С. 38–41.

Lyashev Yu. D., Korolev V. A., Kirishcheva N. E., Ryzhaeva V. N. The influence of mexidol on morphological changes in the structure of the liver of rats after chronic bankol intoxication. *Ekologiya cheloveka* [Human Ecology]. 2015, 12, pp. 38-41.

Одной из наиболее активно используемых в агро-промышленном комплексе групп пестицидов являются инсектицидные препараты (около 15 % от общего объема используемых агрохимикатов), обладающие мощным действием против вредоносных насекомых, наносящих урон сельскохозяйственным культурам [2, 3]. В последние годы среди инсектицидных препаратов особую популярность приобрел банкол (наименование по CAS S,S'-[2-(dimethylamino)-1,3-propanediyl] di(benzenesulfonylthioate), регистрационный номер CAS 17606-31-4). Банкол относится к среднетоксичным соединениям: ЛД₅₀ при введении в желудок крыс составляет 1 105 мг/кг [1, 9]. Всемирная организация здравоохранения относит данный пестицид к III классу опасности [9]. Банкол способен длительное время сохраняться в продуктах первичной переработки агрокультур и обладает кумулятивными и токсическими свойствами, а значит, представляет экологическую опасность как для животных, так и для человека [2]. Нами установлено в предварительных экспериментах, что внутрижелудочное введение банкола вызывает изменения в слизистой желудка, проявляющиеся лейкоцитарной инфильтрацией, утолщением сли-

зистой, дистрофическими изменениями эпителия и железистых клеток [4]. Ранее было показано, что введение инсектицида сопровождается накоплением его в печени (21 % от общего объема введенного препарата), в связи с чем можно предположить, что указанный орган может являться своеобразной мишенью токсического эффекта ксенобиотика [3]. Нами установлено в предварительных экспериментах, что внутрижелудочное введение банкола вызывает изменения в слизистой желудка

Целью настоящего исследования явилось изучение морфологических изменений в ткани печени при моделировании хронической интоксикации банколом, а также возможности их коррекции.

Методы

Работа выполнена на 40 крысах-самцах Вистар массой 180–200 г, находившихся в осенне-зимний период времени на стандартном рационе питания.

Первой группе животных (10 крыс) ежедневно натошак в течение 28 дней внутрижелудочно вводили инсектицид банкол, растворенный в 1 % картофельном крахмальном растворе в дозе 4,42 мг

и осуществляли внутримышечное введение 1 мл физиологического раствора 0,9 % NaCl. На 29 сутки производили декапитацию животных. Данным экспериментом моделировали хроническую интоксикацию пестицидным препаратом.

Второй группе ($n = 10$) ежедневно внутримышечно вводился антиоксидантный препарат мексидол в дозировке 50 мг (средняя терапевтическая доза в перерасчете на животного массой 200 г) в течение двух недель для профилактики развития токсических нарушений. По истечении срока введения препарата приступали к ежедневному внутрижелудочному зондовому введению банкола в дозе $1/50 \text{ ЛД}_{50} - 4,42 \text{ мг}$ в течение последующих 28 дней. В данной группе моделировалась хроническая интоксикация с профилактикой антиоксидантным препаратом.

Третья группа животных ($n = 10$) в течение 28 дней ежедневно внутрижелудочно через зонд получала пестицид банкол, растворенный в 1 % картофельном крахмальном растворе, в дозе 4,42 мг, а начиная с 15 суток хронической интоксикации инсектицидом приступали к внутримышечному введению препарата мексидол в дозировке 50 мг. В этой группе моделировалась хроническая интоксикация и лечение данного состояния антиоксидантным препаратом. На 29 сутки животных третьей группы декапитировали.

Четвертая группа ($n = 10$) — здоровые, интактные крысы-самцы линии Вистар массой 180–200 г, которые и являлись биологическим контролем.

Исследования проводили с соблюдением принципов, изложенных в Конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других целей (г. Страсбург, Франция, 18 марта 1986 г.). Животных выводили из опыта передозировкой эфирного наркоза.

Расчет доз препарата мексидол проводили, используя коэффициент пересчета доз с отдельного животного на человека согласно методическим указаниям в «Руководстве по экспериментальному изучению новых фармакологических веществ» [8]. Для человека массой 70 кг максимальная суточная терапевтическая доза мексидола при острых гнойно-воспалительных процессах брюшной полости составляет 600 мг. В перерасчете на 1 кг массы тела человека необходимо 8,57 мг/кг препарата. Коэффициент пересчета дозы с отдельного животного на человека — 39,0. Для крысы массой 200 г коэффициент пересчета составляет 6,5. Следовательно, расчетная терапевтическая доза для экспериментальных крыс-самцов линии Вистар массой 200 г составляет: $(8,57 \times 39) / 6,5 = 51,42 \text{ мг}$ $\approx 50 \text{ мг}$ [9].

Расчет дозы препарата банкол выполнялся исходя из токсикологических данных: ЛД_{50} для крыс составляет 1 105 мг/кг. В связи с тем, что в эксперименте использовались дозы $1/50 \text{ ЛД}_{50}$, после расчета доза составила: $1\,105 \text{ мг/кг} / 50 = 22,10 \text{ мг/кг} \times 0,2 = 4,42 \text{ мг}$.

Материалом для гистологического исследования послужили фрагменты левой и правой боковых долей

печени весом 100–120 мг, которые фиксировали в 10 % забуференном нейтральном растворе формалина.

На гистологических препаратах ткани печени, окрашенных гематоксилином и эозином, с помощью окулярной микрометрической линейки и сетки Автандилова определяли объемные доли участков сосудистого русла, некротизированных участков паренхимы печени, дистрофически измененных клеток и нормальных гепатоцитов, процентное содержание двуядерных гепатоцитов, процентное содержание гепатоцитов с одним ядрышком от общего числа гепатоцитов [5, 6].

Статистическую значимость различий средних величин вычисляли по t -критерию Стьюдента после проверки нормальности распределения изучаемых параметров с помощью программы Statistica 6.0.

Результаты

Моделирование хронической интоксикации банколом сопровождалось развитием в ткани печени некроза паренхимы, что проявлялось нарушением целостности клеточной мембраны, дезинтеграцией ядра, потерей внутриклеточных элементов. Отмечено скопление полиморфно-ядерных лейкоцитов вокруг некротизированных участков (рис. 1, таблица). Наблюдалось увеличение в ткани печени объемной доли дистрофически измененных клеток в 3,33 раза ($p = 0,0003$) по сравнению с контрольной группой. Дистрофия гепатоцитов проявляется неоднородностью цитоплазмы вследствие её гидратации и вакуолизации цитоплазматической сети. Установлено нарушение радиальной структуры печеночных балок. В ткани печени отмечается расширение внутريدольковых синусоидных капилляров, отечность соединительнотканной стромы. Однако наряду с дистрофическими изменениями в паренхиме печени отмечают признаки развития репаративных процессов, что проявляется увеличением процентного содержания двуядерных гепатоцитов в 2,01 раза ($p = 0,0004$) и количества ядрышек в ядрах.

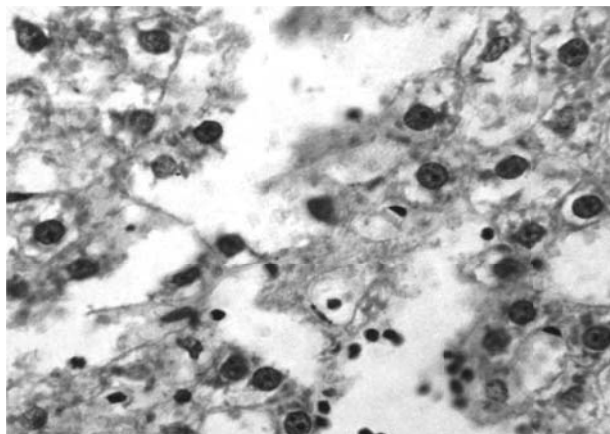


Рис. 1. Хроническая интоксикация банколом. Печень. Некротически и дистрофически измененные гепатоциты с выраженной неоднородностью цитоплазмы, потерей внутриклеточных компонентов). $\times 400$. Окраска гематоксилином и эозином

Влияние мексидола на морфологические изменения печени у крыс, подвергшихся хронической интоксикации банколом

Группа животных	Количество нормальных гепатоцитов, %	Количество дистрофически и некротически измененных гепатоцитов, %	Доля двуядерных гепатоцитов, %	Доля ядер с одним ядрышком, %
Контрольная	88,7 ± 0,5	11,3 ± 0,5	12,1 ± 0,5	85,0 ± 0,9
Перенесшие хроническую интоксикацию	62,3 ± 0,7**	37,7 ± 0,7**	24,4 ± 1,0**	78,5 ± 1,9**
Перенесшие хроническую интоксикацию банколом + коррекционное введение мексидола	87,3 ± 0,9 ^{xxx}	22,4 ± 0,9 ^{xxx}	49,3 ± 0,36 ^{xxx}	63,2 ± 1,1 ^{xxx}
Перенесшие хроническую интоксикацию банколом + профилактическое введение мексидола	82,3 ± 0,9 ^{xxx}	27,7 ± 0,9 ^{xxx}	30,6 ± 0,41 ^{xxx}	65,4 ± 1,3 ^{xxx}

Примечание. ** — $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой, ^{xxx} — $p < 0,001$ по сравнению с группой перенесших хроническую интоксикацию банколом.

При изучении препаратов группы хронической интоксикации банколом и профилактического введения мексидола установлены: неоднородность цитоплазмы гепатоцитов, нарушение целостности плазматической мембраны с потерей органелл и их выходом в пространство Диссе, дезинтеграцией ядер. Объемная доля некротически и дистрофически измененных гепатоцитов статистически значимо уменьшается в 1,36 раза ($p = 0,0005$) по сравнению с группой хронической интоксикации (см. таблицу). Отмечено изменение архитектоники с нарушением двубалочной системы гепатоцитов, радиально отходящих от центральной вены дольки. По сравнению с группой хронического контроля без коррекции антиоксидантными препаратами отмечена положительная тенденция к нормализации общего структурного расположения гепатоцитов. Количество нормальных гепатоцитов увеличено в 1,32 раза ($p = 0,0006$).

Обращает на себя внимание наличие двуядерных гепатоцитов с 2–3 ядрышками в своем составе, процентное содержание которых статистически значимо увеличилось в 1,25 раза ($p = 0,00055$). Данный факт свидетельствует о состоятельности регенераторной функции печени.

Изучение гистологических препаратов при хронической интоксикации и коррекционном введении мексидола позволило установить уменьшение объемной доли некротизированной и дистрофически измененной паренхимы печени в 1,68 раза ($p = 0,0003$) по сравнению с группой хронической интоксикации (рис. 2, таблица). Сохраняется лейкоцитарная инфильтрация паренхимы и стромы печени, но она менее выражена по сравнению с группой крыс с хронической интоксикацией банколом. Наблюдается восстановление архи-

тектоники печеночных балок. Отмечено увеличение процентного содержания двуядерных гепатоцитов в 2,02 раза ($p = 0,0004$) при коррекционном введении мексидола, что отражает усиление регенераторной функции печени.

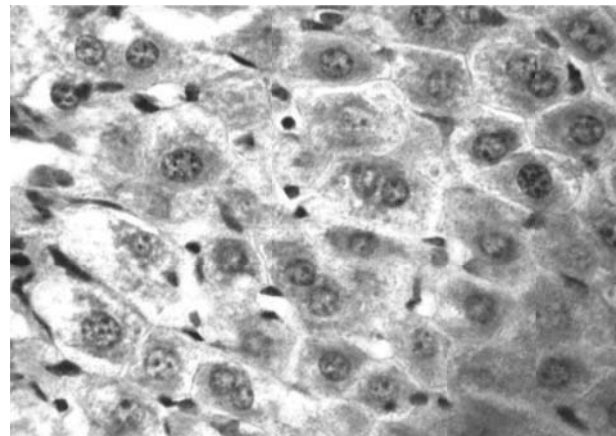


Рис. 2. Хроническая интоксикация банколом и коррекционное введение мексидола: количество некротических и дистрофически измененных клеток незначительное, неоднородность цитоплазмы гепатоцитов слабо выражена. ×400. Окраска гематоксилином и эозином

Обсуждение результатов

Как установлено в работе, моделирование хронической интоксикации банколом вызывает выраженные нарушения структуры ткани печени, проявляющиеся развитием некротических и дистрофических изменений в паренхиме. Известно, что механизм действия банкола связан с блокадой проведения в холинергических синапсах [1], что вызывает нарушения в микроциркуляции, в том числе открытие артериовенозных шунтов. Это приводит к гипоксии тканей, усилению свободнорадикального окисления, нарушению про-оксидантно-антиоксидантного баланса и развитию окислительного стресса [10, 11].

Применение мексидола приводит к существенному уменьшению удельных объемов некротизированной и дистрофически измененных тканей. Известно антиоксидантное, антигипоксическое, мембранопротекторное действие мексидола при активации перекисного окисления липидов [7]. Именно такие эффекты мексидола и обеспечивают снижение интенсивности оксидативного стресса, что приводит к снижению выраженности повреждений в ткани печени. Использование мексидола также усиливает регенеративные процессы, наблюдающиеся в паренхиме печени крыс с хронической интоксикацией банколом.

Выполненные исследования позволили установить, что использование мексидола для коррекции и профилактики структурных изменений печени при хроническом воздействии инсектицидного препарата банкол эффективно в обоих случаях, однако при использовании коррекционной схемы все изменения в виде снижения степени выраженности некротических и дистрофических изменений гепатоцитов выражены наиболее активно.

Список литературы

1. Брызгунова С. С., Еремина М. В. Оценка токсикологического влияния пестицидов на организм человека // Успехи современного естествознания. 2011. № 8. С. 95–96.
2. Золотникова Г. П., Ракитский В. Н. Влияние сочетанных радиационно-пестицидных нагрузок на здоровье населения // Гигиена и санитария. 2000. № 5. С. 61–63.
3. Королев В. А., Шорманов В. К., Ляшев Ю. Д., Грибач И. В., Кирищева Н. Е., Подтуркин А. С., Кожак А. П. Распределение инсектицида «банкол» в крови и органах крыс при экспериментальной интоксикации // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2014. № 2. С. 66–70.
4. Королев В. А., Ляшев Ю. Д., Кирищева Н. Е., Грибач И. В. Морфологическая характеристика слизистой оболочки желудка крыс при острой и хронической интоксикации инсектицидом «Банкол» и дальнейшей коррекцией мексидолом // Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». 2014. № 3. С. 22–26.
5. Мишнев О. Д., Шеголев А. И. Печень при эндотоксикозах. М.: Изд-во РАМН, 2001. 236 с.
6. Москвичев Д. В., Кесельман М. Л., Лукаш А. И. Свободнорадикальные механизмы пестицидной интоксикации в тканях белых крыс // Токсикологический вестник. 2000. № 2. С. 6–10.
7. Мотин В. Г., Яснецов В. В., Забозлаев А. А., Карсанова С. К., Яснецов В. В. Электрофизиологическое исследование механизма действия мексидола // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2012. Т. 75, № 1. С. 3–7.
8. Хабриев Р. У. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. 2-е изд., перераб. и доп. М.: Медицина, 2005. 832 с.
9. Шорманов В. К., Баранов Ю. Н., Дурицын Е. П., Маслов С. В., Пронищенко Е. И. Судебно-химическое определение банкола // Судебно-медицинская экспертиза. 2010. Т. 53, № 10. С. 39–41.
10. Mostafalou S., Abdollahi M. Concerns of environmental persistence of pesticides and human chronic diseases // Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology. 2012. N 2. P. 3–5.
11. Negre-Salvayre A., Aude N., Ayala V., Basaga H., Boada J., Brenke R., Chapple S., Cohen G., Feher J., Grune T., Lengyel G., Mann G. E., Pamplona R., Poli G., Portero-Otin M., Riachi Y., Salvayre R., Sasson S., Serrano J., Shamni O., Siems W., Slow R. C., Wiswedel I., Zarkovich K., Zarkovich N. Pathological aspects of lipid peroxidation // Free Rad. Res. 2010. Vol. 48, N 10. P. 2747–2753.

References

1. Bryzgunova S. S., Eremin M. V. Assessment of the toxicological effects of pesticides on humans. *Uspekhi sovremennogo estestvoznaniya* [Successes of modern science]. 2011, 8, pp. 95–96. [in Russian]

2. Zolotnikova G. P., Rakitsky V. N. Effect of combined radiation and pesticide loadings on health. *Gigiena i sanitariia*. 2000, 5, pp. 61–63. [in Russian]

3. Korolev V. A., Shormanov V. K., Lyashev Yu. D., Gribach I. V., Kirishcheva N. E., Podturkin A. S., Kozhak A. P. The distribution of insecticide «Bankol» in the blood and organs of rats during experimental intoxication. *Voprosy biologicheskoi, meditsinskoi i farmatsevticheskoi khimii* [Questions of biological, medical and pharmaceutical chemistry]. 2014, 2, pp. 66–70. [in Russian]

4. Korolev V. A., Lyashev Yu. D., Kirishcheva N. E., Gribach I. V. Morphological characteristics of gastric mucosa in rats acute and chronic Bancol intoxication and further correction with mexidol. *Kurskii nauchno-prakticheskii vestnik «Chelovek i ego zdorov'e»* [Kursk scientific-practical vestnik]. 2014, 3, pp. 22–26. [in Russian]

5. Mishnev O. D., Shchegolev A. I. *Pechen' pri endotoksikozakh* [Liver endotoxemia]. Moscow, 2001, 236 p.

6. Moskvichev D. V., Kesselman M. L., Lucas A. I. Free radical mechanisms of pesticide poisoning in the tissues of white rats. *Toksikologicheskii vestnik* [Poison Gazette]. 2000, 2, pp. 6–10. [in Russian]

7. Motin V. G., Yasnetsov V. V., Zabozlaev A. A., Karsanova S. K., Yasnetsov V. V. Electrophysiological study of the mechanism of action mexidol. *Ekspperimental'naya i klinicheskaya farmakologiya* [Experimental and Clinical Pharmacology]. 2012, 75 (1), pp. 3–7. [in Russian]

8. Khabriev R. U. *Rukovodstvo po eksperimental'nomu (doklinicheskomu) izucheniyu novykh farmakologicheskikh veshchestv* [Guidelines for experimental (preclinical) studies of new pharmacological agents]. Moscow, 2005, 832 p.

9. Shormanov V. K., Baranov Yu. N., Duritsyn E. P., Maslov S. V., Pronichenko E. I. Forensic chemical determination bankol. *Sudebno-meditsinskaya ekspertiza* [Forensic examination]. 2010, 53 (10), pp. 39–41. [in Russian]

10. Mostafalou S., Abdollahi M. Concerns of environmental persistence of pesticides and human chronic diseases. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*. 2012, 2, pp. 3–5.

11. Negre-Salvayre A., Aude N., Ayala V., Basaga H., Boada J., Brenke R., Chapple S., Cohen G., Feher J., Grune T., Lengyel G., Mann G. E., Pamplona R., Poli G., Portero-Otin M., Riachi Y., Salvayre R., Sasson S., Serrano J., Shamni O., Siems W., Slow R. C., Wiswedel I., Zarkovich K., Zarkovich N. Pathological aspects of lipid peroxidation. *Free Rad. Res.* 2010, 48 (10), pp. 2747–2753.

Контактная информация:

Кирищева Наталья Егоровна — соискатель кафедры биологии, медицинской генетики и экологии ГБОУ ВПО «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Адрес: 305041, г. Курск, ул. К. Маркса, 3

E-mail: medical.ecology@yandex.ru