

Определение острой токсичности и негативного воздействия высоких доз аскорбата лития при длительном применении на крысах линии Вистар

*Остренко К.С.¹, Сардарян И.С.², Громова О.А.³, Колоскова Е.М.¹,
Пронин А.В.³, Торшин И.Ю.⁴*

¹ – ФГБНУ «ВНИИ физиологии, биохимии и питания животных», Калужская обл., г. Боровск

² – ФГБОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет», г. Санкт-Петербург

³ – ФГБОУ ВО «Ивановская государственная медицинская академия» Минздрава России, г. Иваново

⁴ – ФГБОУ ВО «Московский физико-технический институт (государственный университет)», г. Долгопрудный

Резюме. Исследование показателей острой токсичности на самцах белых крыс линии Вистар показало, что аскорбат лития составляет 6,334 г/кг. Субстанция относится к соединениям 5-го класса токсичности, т.е. практически нетоксичным. Коэффициент кумуляции составил 14,8, что свидетельствует о низком кумулятивном эффекте и низкой токсичности. При исследовании хронической токсичности у животных, получавших аскорбат лития ежедневно, в дозах от 1/10 LD₅₀ (630 мг/кг), в течение 30 дней, данные гистологического исследования указывают на то, что происходит функциональное перенапряжение нейроэндокринного аппарата (гетерогенность клеточных элементов, признаки дистрофических изменений в коре головного мозга) и, в меньшей степени, внутренних органов (печени, половых органов, почек).

Ключевые слова: острая токсичность, субхроническая токсичность, крысы Вистар, аскорбат лития

Determination of acute toxicity and adverse effects of high doses of prolonged use of lithium ascorbate on Wistar rats

Ostrenko K.S.¹, Sardaryan I.S.², Gromova O.A.³, Koloskov E.M.¹, Pronin A.V.³, Torshin I.Yu.⁴

¹ – FGBNU «Institute of Physiology, Biochemistry and Nutrition of Animals», Kaluga region, Borovsk

² – VPO «Saint Petersburg State Pediatric Medical University», St. Petersburg

³ – FSBEI HE IvSMA Russian, Ivanovo

⁴ – FSBEI HE Moscow Institute of Physics and Technology (State University), Dolgoprudny

Abstract. Toxicity study in male Wistar albino rats showed that the LD₅₀ of lithium ascorbate is 6,334 g/kg which refers the substance to grade 5 toxicity (practically non toxic). Accumulation ratio of lithium ascorbate was found to be 14,8 thus indicating a low cumulative effect and confirming low toxicity. Histological findings in animals treated with lithium ascorbate daily for 30 days in doses close to LD₅₀ indicate that an excess strain is exerted upon the neuroendocrine system (heterogeneity of cell elements, signs of dystrophic changes) and, to a lesser extent, upon the internal organs. At the same time, after the subtoxic doses were ceased a partial restoration of functional activity of the organs involved was observed.

Keywords: acute toxicity, subchronic toxicity, Wistar rats, lithium ascorbate

Автор, ответственный за переписку:

Остренко Константин Сергеевич — к.б.н., докторант лаборатории Иммунобиотехнологии ФГБНУ «ВНИИ физиологии, биохимии и питания животных»; 249010, Калужская обл., г. Боровск, п. Институт; тел. +7 (910) 916-66-58; e-mail: ostrenkoks@gmail.com

Введение

Значительная распространённость пограничных нервно-психических расстройств и особенно невротических нарушений является проблемой первостепенного значения в развитых странах мира. Совокупность неудовлетворённостей от воздействия стрессоров различной этиологии приводят к возникновению и обострению депрессивных состояний. От 45 до 60% всех суицидов на планете совершают психически здоровые люди с поверхностными моно- и биполярными аффективными расстройствами, что является первой стадией маниакально-депрессивного

психоза [1]. Депрессия — психическое расстройство, характеризующиеся «депрессивной триадой»: (1) снижение настроения и утрата способности переживать радость, (2) нарушения мышления, (3) двигательная заторможенность. Депрессией страдает 10% населения в возрасте 40 лет из них две трети женщины. Среди лиц старше 65 лет депрессия встречается в три раза чаще, а общая распространённость в юношеском возрасте составляет от 15 до 40% [2].

Препараты лития являются эффективным средством для лечения моно- и биполярных аффективных расстройств. Для лечения монополярного расстройства препараты лития имеют преимущества

по сравнению с антидепрессантами. В последние годы в США и Европе наблюдается более широкое применение препаратов лития у детей. Так, в крупных эпидемиологических исследованиях было показано, что частота назначения лития детям с психическими расстройствами (преимущественно в возрастной группе 10–14 лет) за последнее десятилетие возросла в 2 раза. Клиническое руководство CANMAT подтверждает эффективность и хорошую переносимость лития у детей при лечении биполярного расстройства. Литий и другие нормотимики являются препаратами первого выбора при лечении биполярной депрессии лёгкой и средней тяжести.

При всех положительных эффектах использования карбоната лития, отношение к нему неоднозначно. Основным недостатком применения является высокая доза ведения для достижения стойкого положительного эффекта. Применение карбоната лития при психотических расстройствах обычно начинают с 0,6–0,9 г/сут. При хорошей переносимости на второй день назначают 1,2 г и ежедневно повышают дозу на 0,3 г до суточной дозы 1,5–2,1 г. Пожилым пациентам карбонат лития назначают не в меньших дозах, чем молодым. Ещё одним недостатком карбоната лития является необходимость пациента знать о необходимости соблюдения диеты: следует исключить потребление больших количеств жидкости и соли, ограничения пищи, богатой литием (копчёностей, некоторых видов твёрдых сыров, красного вина). Перед назначением долговременной терапии карбонатом лития желательнее располагать данными следующих обследований, во избежание токсических эффектов: клинический анализ крови и мочи. Такие сложности препятствуют широкому и эффективному использованию препаратов лития. В связи с этим поиск, изучение и внедрение новых соединений лития с низкой токсичностью и высокой эффективностью в малых дозах является перспективным направлением в психиатрии и неврологии.

Материалы и методы

Целью данной работы было определить безопасность новой соли лития — аскорбата лития; определить основные токсикологические параметры, негативное воздействие высоких доз на органы и системы органов, согласно руководству по доклиническому изучению лекарственных средств [6]. Работа выполнена на крысы линии Wistar, полученных из питомника лабораторных животных «Пушино».

Содержание животных. Животные содержались в комнате барьерного типа в условиях, соответствующих стандартам, указанным в руководстве *The Guide for Care and Use of Laboratory Animals* (ILAR publication, 1996, National Academy Press, 1996). Животных кормили стандартным кормом для лабораторных грызунов «Чара» (Ассортимент Агро, Россия, ГОСТ ПК-120,

Россия) *ad libitum*, с сертификатом контроля производителя на содержание пищевых компонентов.

Острая токсичность. В качестве модельного объекта были использованы 2-месячные самцы белых крыс линии Вистар массой 180–200 г ($n = 48$, 8 групп по 6 животных в каждой). Все процедуры и опыты на крысах проводились в соответствии с международными правилами обращения с животными. Перед началом исследований животных выдерживали на карантине в течение 12 дней, до введения препарата они подвергались суточной депривации. Животные были подобраны и распределены по группам по принципу парных аналогов, содержались в идентичных условиях кормления (ежедневно комбикормом из расчёта 40–50 г на особь) и содержания (в клетках по 6 крыс в каждой, при температуре 19–21 °С). В первой серии опытов острая токсичность лития аскорбата определялась при пероральном способе введения. LD_{50} рассчитывался по методу Кербера. Субстанцию вводили однократно внутрь в дозах 1000, 2000, 3000, 4000, 5000, 6000, 7000, 8000 мг/кг массы тела. Объём введения составлял 2,0 мл на крысу (дозы являются предельно допустимыми по объёму для перорального введения) внутривенно специальным металлическим зондом. Объём вводимого животным лития аскорбата доводили водой для инъекций. Критериями оценки токсичности служил летальный исход и характер клинической картины.

Подострая токсичность. **Подострая (субхроническая) токсичность** — совокупность функциональных и/или морфологических нарушений органов и систем подопытного животного после повторного введения. Продолжительность введения 3 недели [6]. В исследовании использовались крысы аналогичные предыдущему эксперименту. Было сформировано две группы животных по принципу парных аналогов, 10 животных контрольной группы, 20 животных опытной группы. Аскорбат лития вводили ежедневно в дозе $1/3 LD_{50}$ 20 крысам линии Вистар в течение 21 дня, контрольная группа препарат не получала. Оценка токсического действия при многократном введении определялась по изучению массы тела животных и выживаемости. Расчёт коэффициента кумуляции ($K_{\text{кум}}$) при определении подострой токсичности проводили по формуле (К.К. Сидоров, 1976).

Субхроническая системная токсичность. Субхроническая системная токсичность — неблагоприятный эффект, возникающий после ежедневного введения однократной или многократных доз исследуемой пробы в течение части общей продолжительности жизни. Животные были подобраны и распределены по группам по принципу парных аналогов, содержались в идентичных условиях кормления и содержания. Перед началом исследований животных выдерживали на карантине в течение 12 дней до введения аскорбата лития [3]. Для определения коэффициентов кумуляции аскорбата лития проводили опыты по определению

субхронической токсичности (по Лимму). В исследовании использовались крысы самцы [4]. Суть метода заключалась в увеличении дозы препарата каждые 4 дня на 50%, что позволяет проследить реакцию крыс в течение 28 дней на введение от 0,1 до 1,12 LD₅₀. LD₅₀ аскорбата лития, что составляет 6,333 г/кг массы тела. В опыте использовано 10 крыс, получавших перорально лития аскорбат и 5 интактных животных.

Хроническая токсичность. Это совокупность токсических эффектов, вызываемых повторным введением того или иного токсического вещества в одинаковой дозе, в течение периода. Испытуемое соединение вводят на протяжении 30 дней, наблюдение за животными осуществляется периодически. **Исследования проводилось на крысах.** Для определения опасности повторного применения препарата (хронической токсичности при длительном введении аскорбат лития вводили в течение 30 дней. Вводимые дозы составили 630 мг/кг массы, что составляет 1/10 от LD₅₀. Объектом исследования были лабораторные 2-месячные крысы обоего пола линии Вистар, средней массой 150–170 г.

В опыте использовано 10 крыс, получавших перорально литий и 10 интактных животных.

Результаты и обсуждения

Сравнивая результаты двух методов определения LD₅₀, можно подтвердить возможность использования любого из них, т. к. различия не превышают 0,1% в зависимости от метода, взятого за эталон [7]. Формула расчёта LD₅₀ следующая:

$$LD_{50} = LD_{100} - \Sigma(Z \times D)/n,$$

где LD₁₀₀ – доза препарата, которая вызвала эффект у всех тест-объектов в группе; D – интервал между двумя смежными дозами; Z – среднее арифметическое из двух значений числа тест-объектов, у которых проявился положительный эффект при воздействии каждой из двух смежных доз; n – число тест-объектов в группе.

Полученные данные позволили определить параметры острой токсичности лития аскорбата. Так для белых крыс линии Вистар LD₅₀ – 6 334 мг/кг, LD₁₀₀ – 8 000 мг/кг. Таким образом, по таблице распределения лекарственных средств аскорбат лития относится к 5 классу «практически нетоксичных» LD₅₀ ≥ 5 000 мг/кг. Данные полученные в ходе опыта на лабораторных животных представлены в табл. 1–2.

Клиническая и патологоанатомическая картина острого отравления крыс аскорбатом лития. При пероральном введении аскорбата лития в токсических дозах клиническая картина отравления проявилась через сутки. При введении токсических доз аскорбата лития снижалось потребление корма и увеличивалось потребление воды. Учащались акты дефекации, помёт становился жидким с большим количеством слизи. Желудок быстро переполнялся водой и его жидким содержимым. Животные становились малоподвижными, предпочитали сидеть группами рядом с поилкой. По мере развития отравления крысы лежали с закрытыми глазами, движения были скованные, каловые массы беловато-водянистого, в поздние сроки, не

Таблица 1

Определение среднесмертельной дозы аскорбата для крыс (по Керберу)

Доза, мг/кг	1 000	2 000	3 000	4 000	5 000	6 000	7 000	8 000
Выжило	6	6	6	6	5	3	3	6
Пало	0	0	0	0	1	3	3	6
Z	0	0	0	0,5	2	3	4,5	
D	1 000	1 000	1 000	1 000	1 000	1 000	1 000	1 000
(Z · D)	0	0	0	500	2 000	3 000	4 500	
Σ (Z · D) = 10 000								

Таблица 2

Определение среднесмертельной дозы лития аскорбата для крыс линии Вистар (по Першину)

Доза, мг/кг	1 000	2 000	3 000	4 000	5 000	6 000	7 000	8 000
Пало/выжило	0/6	0/6	0/6	0/6	1/5	3/3	3/3	6/0
% погибших	0	0	0	0	16,6	50	50	100
Сумма доз рядом стоящих, A	3 000	5 000	7 000	9 000	11 000	13 000	15 000	
Разность % умерших, B	0	0	0	16,6	33,4	0	50	
(A · B)	0	0	0	149 400	367 400	0	750 000	
Σ (A · B) = 1 266 840								

содержали остатков корма. Слизистые глаз, ротовой полости бледно-розовые. Дыхание учащённое. Общее угнетение нарастало, крысы переставали реагировать на внешние раздражители. Температура тела снижается за 2–3 ч до смерти на несколько градусов.

У павших крыс при наружном осмотре шерсть была мокрая, взъерошенная, вокруг ануса — испачкано каловыми массами. Слизистая оболочка анального отверстия бледно-розового цвета, влажная. Из носовых отверстий выделялась пенная жидкость розоватого цвета. Из ротовой полости стекали водянисто-мутноватая жидкость со слизью. При вскрытии отмечалось правильное положение грудобрюшной полости. Сердце — округлой формы, коронарные сосуды кровенаполнены, сердечная сорочка блестящая бледно-розового цвета. Эпикард, эндокард без видимых изменений, миокард серого цвета, дряблой консистенции. Печень дряблая, темно-коричневого цвета с сероватым оттенком, края округлые. Дольчатый рисунок сглажен. С поверхности разреза стекает кровь. Желчный пузырь наполнен желчью зеленого цвета. Слизистая оболочка бархатистая, оранжевого цвета. Проприодимость желчного протока сохранена. Селезёнка без видимых изменений. Почки неравномерно окрашенные, пёстрые, сосуды кровенаполнены. Кожный слой утолщён, дряблой консистенции. Границы между корковым и мозговым слоем стёрты. В полости трахеи содержалась пенная масса бело-розового цвета. Лёгкие красного цвета, тестоватой консистенции, на разрезе при надавливании вытекает пенная масса красного цвета и кровь. Кусочки лёгкого тяжело плавают в воде. В ротовой полости и пищеводе водянистая мутная жидкость с наличием слизи. Слизистая оболочка без видимых изменений. В пищеводе вода со слизью. Слизистая оболочка местами покрасневшая. Желудок имел покрасневшую слизистую оболочку, содержал небольшое количество корма зеленоватого цвета. Кутикула снималась с усилием, слизистые без видимых изменений. В кишечнике слизистая оболочка бледно-розовая, местами покрасневшая, содержимое кишечника жидкое. Головной мозг серого цвета, сосуды мозговых оболочек расширены и наполнены кровью. Кости, суставы, мускулатура без видимых изменений.

Патологоанатомический диагноз: острое отравление, гиперемия и отёк лёгких; белковая дистрофия почек, печени, миокарда; острая застойная гиперемия почек, печени и мозговых оболочек; слизистый

катар желудочно-кишечного тракта. Смерть крыс при остром отравлении аскорбатом лития наступила от сердечно-лёгочной недостаточности при атрофии выделительной системы.

В ходе исследований подострой токсичности установили, что на третий день отмечено снижение суточного потребления корма опытной группы по сравнению с контролем. Крысы опытной группы больше потребляли воды, были менее подвижны. Сниженное суточное потребление корма крысами опытной группы оставалось в течение 2 недель наблюдения. Это не могло не отразиться на приросте массы тела. За первые трое суток крысы контрольной группы прибавили в массе 59,1 г, а крысы опытной группы потеряли в среднем 68 г. У опытной группы крыс выделялись разжиженные каловые массы, температура тела составляла 39,7–40,8 °С. Три крысы пали на 6-й день опыта, потеряв до 80 г. Две крысы пали на 8- и 9-й день опыта, потеряв 84 и 76 г. Две крысы пали на 12-й день, потеряв в среднем 94 г. Одна крыса пала на 13-й день, потеряв 102 г. Пять крыс пали на 14-е сутки, потеряв за время опыта в среднем 94,7 г. За 2 ч до гибели температура тела снижалась до 37,6 °С. Данные представлены в табл. 3.

Семь животных адаптировались в разной степени к подострой интоксикации лития аскорбатом и выжили, но в характере их реакции были существенные отличия. Крысы на протяжении 21 дня не прибавляли в массе тела, трудно приспосабливались. Четыре животных в первые 2 дня потеряли в среднем 27 г, в последующие двое суток одна из них прибавила 2 г, остальные по 4–6 г. Это минимальное увеличение позволило к 21 дню увеличить массу тела на 38–43 г. Оставшиеся 3 крысы отличались лучшими адаптационными возможностями. Одна крыса только первые 4 дня имела снижение массы тела. У одной особи из опытной группы фиксировалось постоянное увеличение массы тела и её прирост за время опыта составил 79 г. Расчёт коэффициента кумуляции ($K_{\text{кум}}$) при определении подострой токсичности проводили по формуле (К.К. Сидоров) [8]:

$$K_{\text{кум}} = \frac{D_{\text{к}}}{LD_{50}},$$

где: $D_{\text{к}}$ — суммарная доза, полученная крысой; LD_{50} —

среднелетальная доза; $K_{\text{кум}} = \frac{93,58}{6,33} = 14,8$.

Таблица 3

Динамика изменения массы тела крыс в тесте подострой токсичности (контроль, $n = 10$; опыт, $n = 20$)

Группы	Масса до введения	День введения			
		через 3 дня	через 7 дней	через 14 дней	через 21 день
Контрольная	189,20±7,35	248,30±6,6	283,20±9,6	317,20±7,87	349,50±5,95
Опытная	189,35±8,59	136,50±27,71	137,71±49,09	168,92±66,58	245,29±16,53*

Примечание: * $p < 0,05$ при сравнении по t -критерию с контролем.

Динамика изменения массы тела крыс в тесте субхронической токсичности (контроль, $n = 10$; опыт, $n = 20$)

Группы	Масса до введения	День введения					
		через 5 дней	через 10 дней	через 15 дней	через 20 дней	через 25 дней	через 30 дней
Контрольная	200,80±4,6	232,00±6,04	262,80±17,58	275,40±39,87	331,40±13,90	361,00±15,28	391,40±15,57
Опытная	199,40±5,1	223,90±7,34*	223,90±15,79	275,40±19,90	331,40±26,64	184,00±16,35*	193,40±17,66

Примечание: * $p < 0,05$ при сравнении по t -критерию с контролем.

Исследование субхронической токсичности (по Лимму). Введение лития аскорбата в течение 2–3 дней не влияло на поведение животных. С 5-го дня уменьшилось потребление корма и увеличилось потребление воды на 25–30%. Отдельные особи животных были взъерошены, малоподвижны, каловые массы неоформленные. С десятого дня (с увеличением дозы до 0,4 LD₅₀) кал становится жидким, так как крысы опытной группы потребляли на 50% больше воды при сниженном потреблении корма, по сравнению с контрольной группой. Так, на 16-й день в опытной группе крысы съели лишь 48% от массы потреблённого корма в контрольной группе.

Наряду со снижением потребления корма и увеличением приёма воды была замечена потеря массы тела. Так, на 16-й день эта потеря составляла: у 3 крыс — 1–2%, у 2 — 4–5%, у 4 — 8–12%. У одной особи живая масса увеличилась на 1,58%. Прирост массы тела у контрольной группы за это время увеличился от 80 до 100%. На 20-й день у 8 крыс опытной группы потеря массы составляла до 21%, одна крыса пала от суммарной дозы 4,24 LD₅₀ на 24-й день, потеряв 87 г м. т. Данные представлены в табл. 4.

Расчёт коэффициента кумуляции (K_{кум}) в опыте по определению субхронической токсичности (по Лиму) определяли по той же формуле, что и в предыдущем опыте:

$$K_{\text{кум}} = \frac{D_{\text{к}}}{LD_{50}},$$

где: D_к — суммарная доза, полученная крысой; LD₅₀ —

среднелетальная доза; $K_{\text{кум}} = \frac{93,58}{6,333} = 14,8$.

Негативное воздействие на органы и ткани при длительном применении аскорбата лития. При использовании дозы 1/10 LD₅₀ в течение месяца мы не отмечали существенных отклонений в поведении крыс, в потреблении корма, приросте массы тела. Увеличения потребления и выведения воды крысами не наблюдалось.

Крысы опытной группы нормально развивались и прибавляли в массе наравне с контролем. Резких отклонений не наблюдалось. Животные были подвижны, шерстный покров и видимые слизистые чисты.

На вскрытии расположение органов и их строение от нормы не отличались, лёгкие чистые. В фиксатор взяты следующие органы: мозг (фронтальный срез через гиппокамп, таламус и гипоталамус), гипофиз, печень, почки, надпочечник, гонады.

Мозг животных. В коре головного мозга контрольных животных хорошо определялась стратификация слоев с некоторым разрежением нейронов ганглионарного слоя в соматосенсорной зоне. В гиппокампе пирамидные клетки в зонах CA-2 и переходе CA-2 в CA-3 расположены несколько неравномерно с выходом отдельных или небольших групп нейронов в молекулярный слой. В таламусе нейроны имели ядра разной величины с чёткой кариолеммой и узким ободком слабо или умеренно базофильной цитоплазмы. В гипоталамусе дорсолатеральные ядра содержали более мелкие нейроны по сравнению с вентролатеральными и латеральными ядрами. Для нейронов гипоталамической области характерны небольшие цитоплазмы, чётко отграниченные ядра с умеренно базофильной кариоплазмой и небольшим ядрышком (рис. 1). Нейроны супраоптического ядра небольшие по сравнению с остальными нейронами гипоталамуса, имели гиперхромные ядра и базофильное содержимое, расположенное по периферии цитоплазмы (рис. 2).

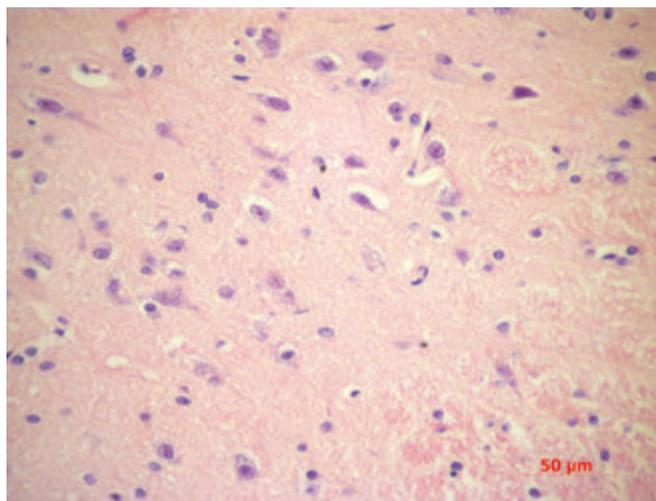


Рис. 1. Нейроны перифорникулярной зоны гипоталамуса интактной крысы-самки. Окраска гематоксилин-эозином (г-э). Об. 40, ок. 10

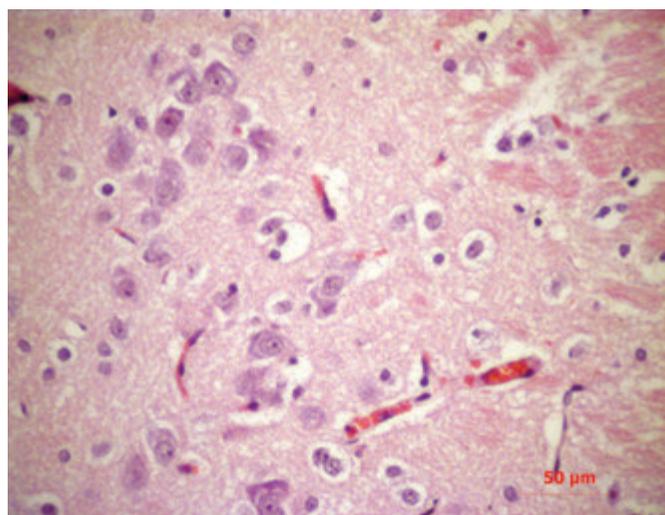


Рис. 2. Гистоструктура супраоптического ядра гипоталамуса интактной крысы-самки. Окраска г-э. Об.40, ок. 10

У животных, получавших аскорбат лития структура мозга не изменена. Отмечалось некоторое усиление базофилии нейронов 2-го и 3-го слоев коры головного мозга, пирамидального слоя гиппокампа. Эти признаки активации нейронов несколько больше выражены у самцов. В гипоталамусе, в области дорсомедиальных ядер и в парафорникулярной области, отмечалось присутствие отдельных или небольших групп нейронов с увеличенной базофильной цитоплазмой, содержащей зернистый или гомогенный материал (рис. 3). Кроме того, у некоторых животных в супраоптических ядрах (рис. 4) нейросекреторные клетки гетерогенные: разной величины, в их цитоплазме содержание базофильного вещества значительно колебалось, часть нейронов уменьшены в размерах, имели гиперхромное ядро и цитоплазму.

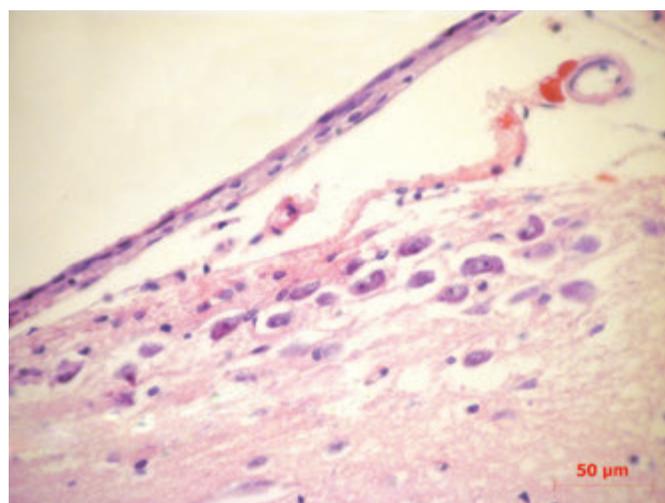


Рис. 3. Нейроны перифорникулярной зоны гипоталамуса после введения аскорбата лития. Нейроны гипертрофированы. Окраска г-э. Об.40, ок.10

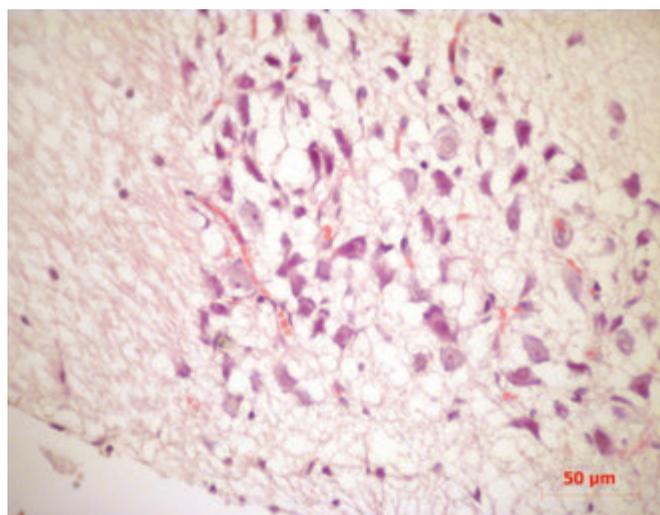
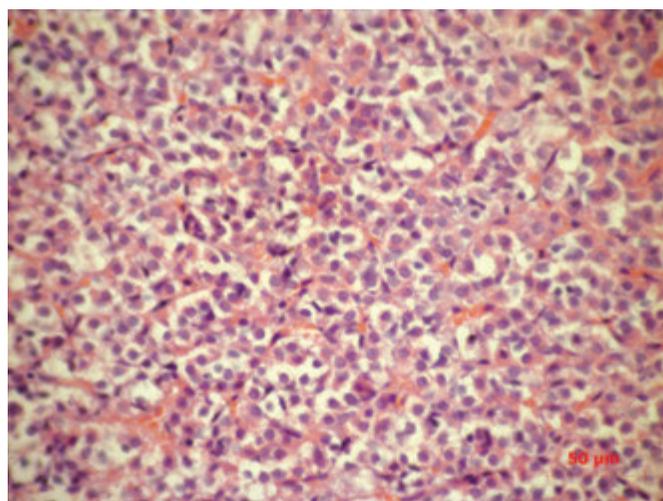


Рис. 4. Супраоптическое ядро гипоталамуса крысы-самки после введения аскорбата лития. Нейроны гетерогенны. Окраска г-э. Об.40, ок.10

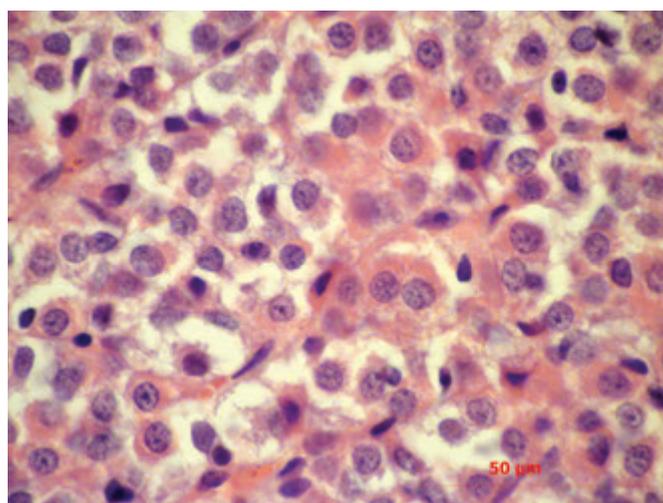
Таким образом, гистологическая картина мозга на уровне гипоталамуса свидетельствовала о повышении функциональной активности нейронов, ответственных по своему расположению за синтез рилизинг-факторов для гипофизарных клеток. В нейронах супраоптических ядер повышение их функциональной активности сопровождалось дистрофическими изменениями в отдельных клеточных элементах, что свидетельствовало об их функциональном перенапряжении.

Гипофиз. У контрольных животных гипофиз состоял из трёх частей: передней части (аденогипофиза), задней части (нейрогипофиза) и расположенной между ними узкой промежуточной части, относящейся по генезу к аденогипофизу. Клетки аденогипофиза играли важную роль в регуляции функции гормональных органов-мишеней и, в свою очередь, находились под регулирующим влиянием ядерных образований гипоталамуса. При окрашивании гематоксилином и эозином различали эозинофильные и базофильные эндокринные клетки гипофиза, которые выполняли различные функции. Передняя и задняя части гипофиза содержали хорошо развитую и полнокровную сеть кровеносных капилляров. В аденогипофизе были видны эозинофильные и базофильные клетки с зернистой цитоплазмой полигональной формы, округлым ядром, умеренно базофильным с пылевидным хроматином и мелким ядрышком. Визуально у самцов количество эозинофилов было больше (рис. 5а, 5б), чем у самок. У самок и самцов цитоплазма эозинофильных клеток имела разную степень насыщенности гранулярным материалом, особенно меньше гранул было в клетках, расположенных на периферии аденогипофиза.

Задняя часть гипофиза имела рыхлое волокнисто-ячеистое строение, в основном, представленное пучками аксонов и, разбросанными среди них, глиальными элементами. Среди описанных структур выявлялись везикулы с зернистым эозинофильным



а



б

Рис. 5. Гистоструктура аденогипофиза интактной крысы-самца. а — окраска г-э. Об.40, ок.10; б — большое увеличение. Эозинофильные клетки преобладают. Окраска г-э. Об.100, ок.10

содержимым, которые зачастую непосредственно контактировали с кровеносными сосудами. Необходимо отметить, что у самцов количество везикул с зернистым содержимым было меньше, а сами везикулы выглядели более мелкими. Сопоставляя эти данные с данными гистологического строения аденогипофиза, можно предположить, что у самцов система выработки и реализации нейрогормональных продуктов функционировала более активно, чем у самок.

Самки (опытная группа). Дистрофических и некротических изменений в клетках аденогипофиза не отмечалось. Клеточные элементы располагались более плотно, чем у интактных животных, их ядра выглядели несколько увеличенными, а цитоплазмы было меньше, чем в контроле. В задней доле везикулы (булавовидные образования) с зернистым содержимым практически не выявлялись. Встречались отдельные везикулярные образования с плотным гомогенным содержимым (рис. 6а).

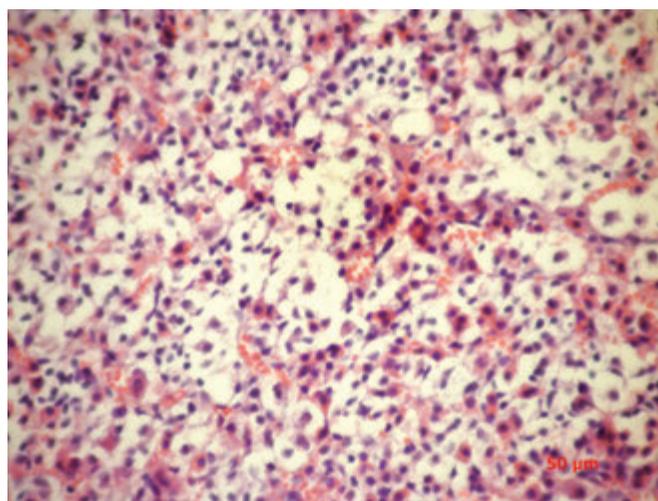


Рис. 6а. Аденогипофиз крысы-самца после введения аскорбата лития при большом увеличении. Клетки аденогипофиза с признаками дистрофии. Окраска г-э. Об.100, ок.10

Самцы (опытная группа). У одного животного в аденогипофизе эозинофильно окрашенные клетки были представлены, в основном, в виде небольших групп, имели признаки дистрофических изменений: их цитоплазма и ядра были уплотнены, базофильные клетки содержали скудное количество цитоплазматических гранул. У других животных эти изменения были выражены слабо и по своей гистоструктуре орган приближался к контролю. В задней доле гипофиза гистологическая картина мало отличалась от нормы. Рыхлая волокнисто-ячеистая структура доли содержала редкие булавовидные образования с зернистым содержимым (рис. 6б).

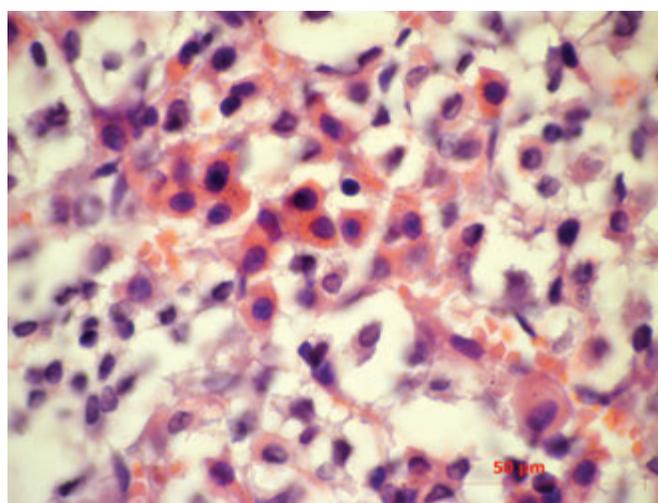


Рис. 6б. Аденогипофиз крысы-самца после введения аскорбата лития. Эндокринные клетки гетерогенны. Окраска г-э. Об.40, ок.10

Заключение. Общая структура органа не изменена. У части животных признаки функциональной нагрузки на гормональные клетки к этому сроку

были сохранены. У самок умеренная репаративная гиперплазия в этот срок была выражена ярче. При введении аскорбата лития восстановительные процессы в клетках аденогипофиза при его использовании протекали быстрее, и процессы активного выброса гормональных препаратов более длительны, что особенно выражено у самок.

Надпочечники. У контрольных интактных крыс гистоструктура органа представлена корковым и мозговым веществом. В корковом веществе (рис. 7) присутствовали несколько различных по своим морфофункциональным особенностям зон. Узкий подкорковый слой (клубочковый) включал в себя клетки с плотным ядром неправильной формы и вакуолизированной цитоплазмой. Мозговое вещество надпочечников (рис. 8) состояло из плотно прилегающих друг к другу клеток, имеющих светлую цитоплазму со скудной зернистостью и небольшое по отношению к цитоплазме круглое ядро с мелко-

зернистым хроматином. В толще мозгового вещества присутствовали кровеносные сосуды с просветами полигональной формы. Клетки мозгового вещества содержали небольшое количество секреторных зерен и вырабатывали адреналин и норадреналин. При возникновении стрессовых ситуаций эти гормоны поступают в кровь в увеличенном количестве.

У крыс-самок, получавших препарат аскорбат лития изменения со стороны клеток клубочкового слоя были умеренные и связаны с неравномерностью его толщины, структура коркового вещества была в пределах нормы (рис. 9). В мозговом веществе клетки гетерохромны за счёт того, что одни из них выглядели опустошенными, другие, наоборот, имели слабобазофильную, заполненную зернистым веществом, цитоплазму. У некоторых животных этой группы ядра клеток мозгового вещества гетерогенны: разной величины, в одних ядрах происходит хроматизация, другие гиперхромны.

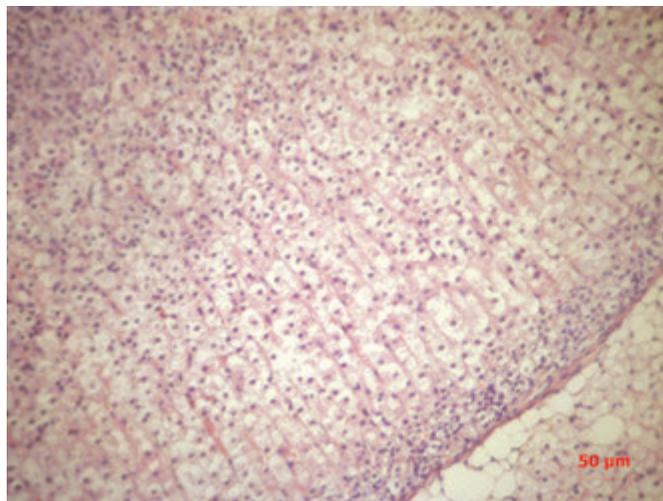


Рис. 7. Гистоструктура коры надпочечника интактной крысы-самки. Окраска г-э. Об.20, ок.10

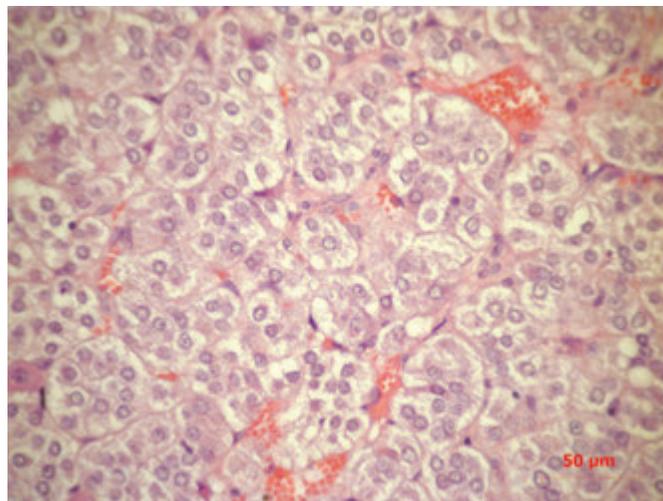


Рис. 9. Гистоструктура мозгового вещества надпочечника интактной крысы-самца. Окраска г-э. Об.40, ок.10

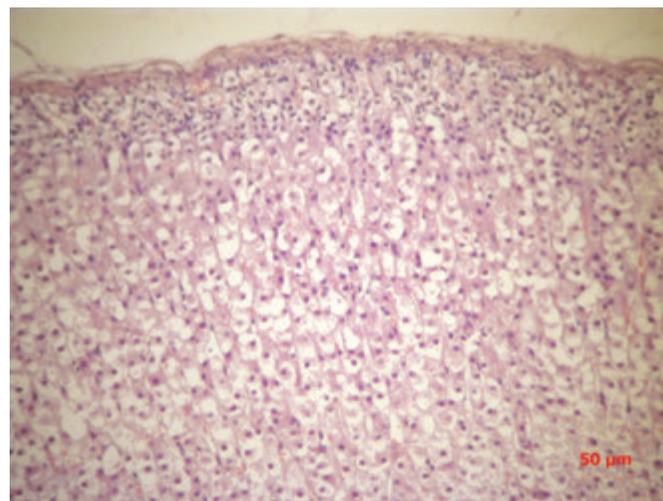


Рис. 8. Гистоструктура коры надпочечника крысы-самки после введения аскорбата лития. Окраска г-э. Об.20, ок.10

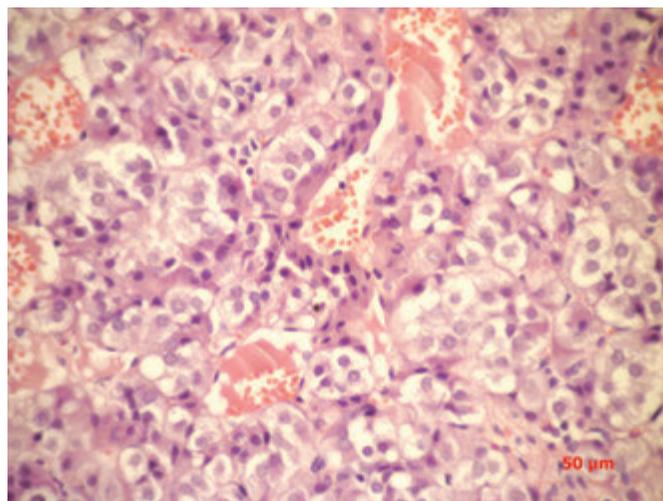


Рис. 10. Надпочечник крысы-самца после введения аскорбата лития. Клетки мозгового вещества гетерогенны. Окраска г-э. Об.40, ок.10

У крыс самцов, получавших препарат аскорбат лития, гистоструктура надпочечников была близка к норме (рис. 10). Кортиковое вещество выглядело не изменённым. Так же как и у самок отмечалось умеренное накопление зернистого вещества в клетках мозгового слоя, при этом циклический процесс синтеза и освобождения гормона у разных животных выражен в разной степени. У одних клетки по своему строению мало отличались от контроля, опустошённые и тёмные клетки были лишь единичные. В одном случае процесс активации клеток мозгового вещества значительно был выражен.

Таким образом, по морфологическим признакам изменения со стороны коркового вещества были незначительные. В мозговом веществе надпочечников морфологические изменения в клетках свидетельствовали о пролонгировании процессов синтеза и выделения гормонов в кровь. По-видимому, клетки мозгового вещества самок реагировали подобным образом более интенсивно, чем у самцов.

Яичники. У контрольных крыс яичники представляют собой бугристые образования, состоящие из коркового и мозгового вещества (рис. 11). В корковом веществе присутствует значительное количество фолликулов в разной стадии созревания и жёлтые тела в различной стадии их инволюции вплоть до белых тел. Кроме того, среди фолликулов и жёлтых тел присутствует небольшое количество атретических фолликулов. Количество созревающих фолликулов и жёлтых тел при максимальной площади среза яичников приблизительно одинаково.

У крыс-самок, получавших препарат аскорбат лития, гистоструктура яичников практически не отличалась от таковой животных контрольной группы (рис. 12). Отмечалось явное преобладание в них жёлтых тел над фолликулами. Количество последних несколько больше, по сравнению с предыдущей группой, но и они при достижении крупных размеров

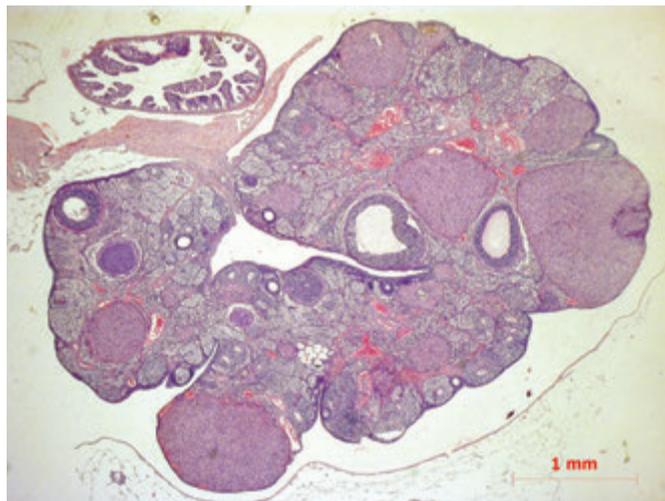


Рис. 11. Максимальный срез через яичник интактной крысы. Окраска г-э. Об.2,5, ок.10



Рис. 12. Максимальный срез через яичник крысы после введения аскорбата лития. Яичник увеличен, отмечается атрезия фолликулов. Окраска г-э. Об.2,5, ок.10

также подвергались атрезии. В некоторых фолликулах яйцеклетка была представлена в виде недоразвитого бугорка, подвергающегося пикнозу.

Заключение. В яичниках опытных крыс, получавших аскорбат лития, происходило накопление жёлтых тел, атрезия фолликулов на разных стадиях развития. Эти данные позволяют предположить, что под воздействием аскорбата лития у крыс-самок происходит преобладание выработки прогестерона над фолликулином.

Семенники. Семенники у интактных крыс-самцов состояли из многочисленных извитых канальцев, в которых происходит процесс сперматогенеза (рис. 13). Пёстрая гистологическая картина последнего связана с асинхронностью сперматогенеза на различных уровнях срезов канальцев. Для всех канальцев характерно присутствие на их базальной мембране спермато-

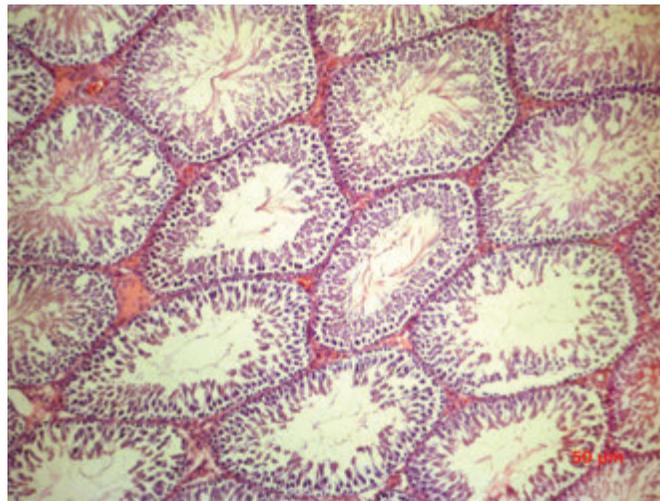


Рис. 13. Семенник интактной крысы. Окраска г-э. Об.10, ок.10

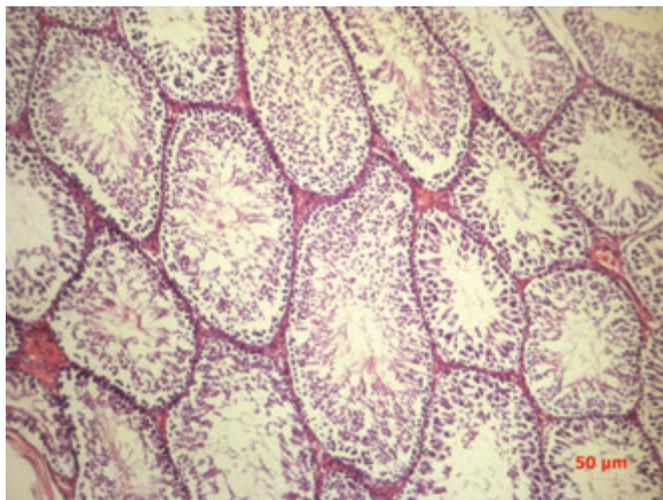


Рис. 14. Семенник крысы после введения аскорбата лития. Гистоструктура органа не изменена. Окраска г-э. Об.10, ок.10

ниев — стволовых клеток, одни из которых находятся в покое, другие активно делятся. Проходя через фазы сперматоцитов 1-го и 2-го порядка, сперматиды, клетки постепенно превращаются в зрелые сперматозоиды.

У крыс-самцов, получавших аскорбат лития, гистоструктура семенников сохранена, патологических изменений со стороны канальцев, их содержимого и стромальных элементов не было отмечено (рис. 14).

Заключение. Полученные морфологические данные позволили сказать, что аскорбат лития не оказывал на семенники крыс-самцов каких-либо видимых изменений.

Печень. Контроль. У крыс обоего пола строение органа было типичное, соединительнотканые прослойки тонкие, триады и печёночные балки просматривались чётко (рис. 15). Ядра гепатоцитов с чёткими контурами и хорошо выраженным ядрышком, цитоплазма содержала умеренное количество базофильных гранул рибонуклеопротеидов (РНП),

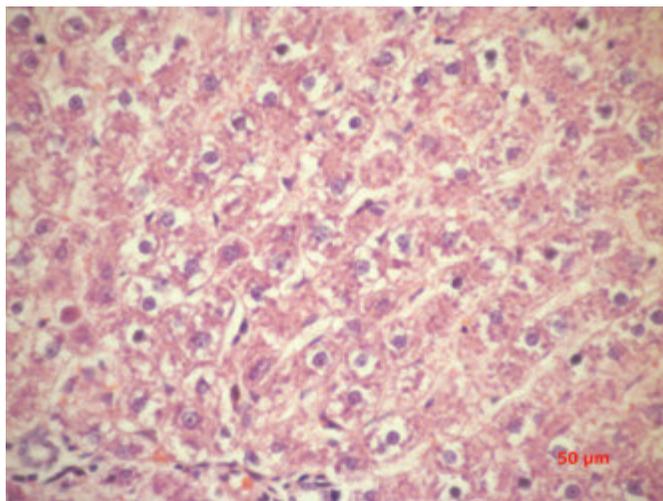


Рис. 15. Печень intactной крысы-самца. Окраска г-э. Об.40, ок.10

у центральных вен были видны единичные гепатоциты в состоянии цитолизиса. Ядра клеток Купфера овальные гиперхромные, умеренно выступали в просвет синусов, имели слабо окрашенную с нечёткими контурами цитоплазму.

Самки опытной группы. Гистоструктура органа по сравнению с контрольной не изменена.

Самцы опытной группы. Гистоструктура печени от нормы не отличалась. Отмечалось некоторое увеличение гранул РНП в цитоплазме гепатоцитов по сравнению с контролем и печени самок (рис. 16).

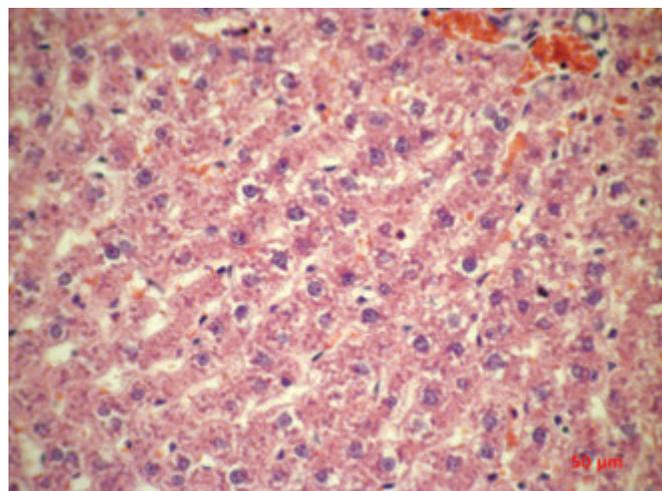


Рис. 16. Печень крысы-самца после введения аскорбата лития. Отмечается умеренное увеличение гранул РНП в гепатоцитах. Окраска г-э. Об.40, ок.10

Заключение. По морфологическим признакам у крыс-самцов, получавших аскорбат лития, присутствовали признаки умеренной функциональной нагрузки на гепатоциты, связанной с функцией синтеза белка.

Почки. Контроль. Гистоструктура почек intactных крыс соответствовала общепринятой (рис. 17а), строение нефронов типичное. Сосуды клубочков были расположены компактно, полнокровны, базальные мембраны капилляров выражены слабо, просветы капсул Шумлянско-Боумана свободные. Юкстагломерулярный аппарат обычного строения, состоял из базофильного эндотелия, содержащего уплощённые гиперхромные ядра, плотное пятно содержало близко расположенные округлые ядра эпителия (рис. 17б). Ядра проксимальных и дистальных извитых канальцев были с чёткими контурами, содержали мелкозернистый хроматин, умеренно базофильную нуклеоплазму и мелкое плотное ядрышко. Цитоплазма канальцев, петель Генле и собирательных трубочек была эозинофильная.

У опытных животных как у самок, так и у самцов, гистоструктура органа была не изменена (рис. 18а). Отмечались умеренные изменения со стороны гломерулярного аппарата и дистальных извитых канальцев: часть клубочков имела гипертрофиро-

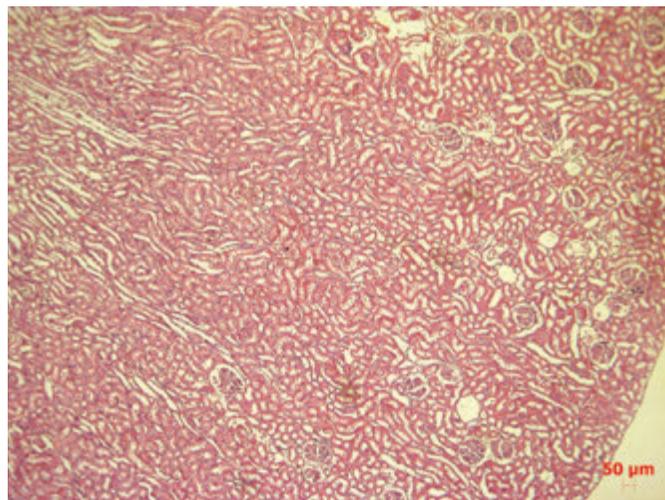


Рис. 17а. Почки intactной крысы-самки. Окраска г-э. Об.5, ок.10

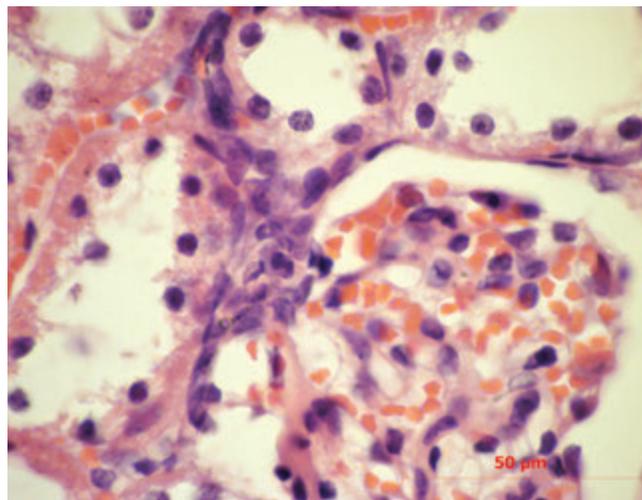


Рис. 18б. Гипертрофия юкстагломерулярного аппарата клубочка почки после введения аскорбата лития. Окраска г-э. Об.100, ок.10

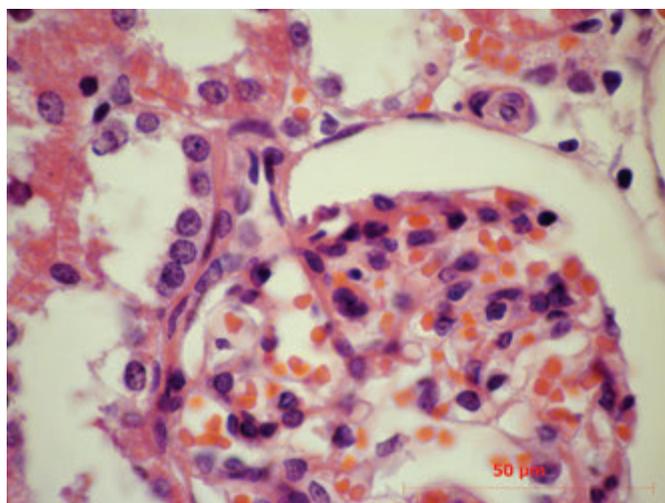


Рис. 17б. Юкстагломерулярный аппарат клубочка почки intactной крысы-самки. Окраска г-э. Об.100, ок.10

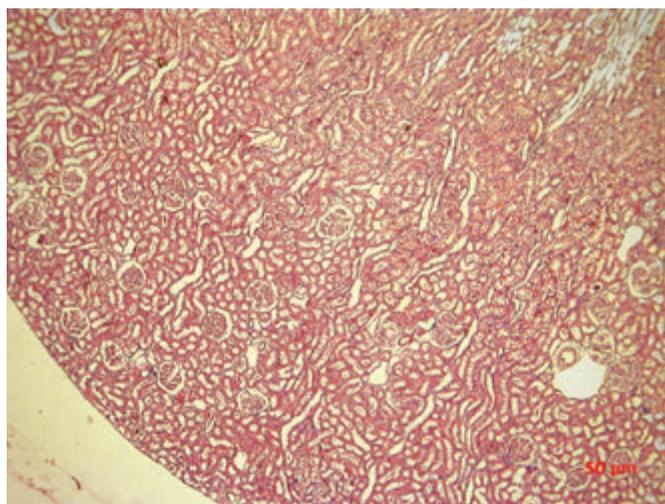


Рис. 18а. Почки крысы самки после введения аскорбата лития. Гистоструктура органа не изменена. Окраска г-э. Об.5, ок.10

ванный юкстагломерулярный аппарат (рис. 18б), в некоторых клубочках между висцеральным и париетальными листками капсулы Боумена–Шумлянского обнаруживались синехии, единичные клубочки были сморщены. Цитоплазма дистальных извитых канальцев в состоянии зернисто-вакуольной дистрофии. Цилиндры в просвете канальцев или собирательных трубочек отсутствовали.

Заключение. Данные гистологического строения почек свидетельствовали о сохранении их гистоструктуры. В то же время они позволили предположить перенесённую почками достаточно высокую функциональную нагрузку, связанную с интенсивным выделением белковых фракций из крови, повышением артериального давления в клубочках. Эти изменения компенсировались повышенной реабсорбцией белка в дистальных извитых канальцах почек.

Выводы

В результате проведённых исследований установлено, что LD_{50} аскорбата лития составляет 6,334 г/кг массы тела. Субстанция относится к соединениям 5-го класса токсичности — практически нетоксичным. Патологоанатомическая картина павших животных показывает симптомы острого отравления и наступление смерти от сердечно-лёгочной недостаточности при атрофии выделительной системы. Аскорбат лития в дозах $1/3 LD_{50}$ (2,11 г/кг) массы тела оказывал отрицательное воздействие на крыс. Расчёт коэффициента кумуляции равен 14,8, что говорит о низком кумулятивном эффекте и низкой токсичности. При n -кратном введении доз аскорбата лития (субхронической токсичности), превышающих многократно LD_{50} , часть из опытных животных адаптировалась и сохраняла жизнеспособность, что так же говорило о низкой токсичности. Данные гистологического исследования

свидетельствовали о том, что при сохранении общей гистоструктуры происходило функциональное перенапряжение нейроэндокринного аппарата и, в меньшей степени, органов выделения и размножения. Так как животные были забиты через 2 нед после окончания введения аскорбата лития, по-видимому, за этот период произошло частичное восстановление функциональной активности головного мозга, печени, почек,

семенников и яичников. Об этом говорит умеренная гиперплазия клеточных элементов пролиферативной зоны аденогипофиза. Необходимо отметить индивидуальную реакцию животных на аскорбат лития, так как выраженность описанных изменений у животных одной и той же группы была несколько разной. Аскорбат лития активизирует нейроэндокринную систему сильнее у самок, чем у самцов.

Литература

1. *Балукова Е.В.* Депрессия как фактор риска соматической патологии. Психиатрия. 2008; 3: 36–43.
2. *Тювина Н.А.* Современные представления о патогенезе депрессий и подходы к антидепрессивной терапии (обзор литературы). Психиатрия и психофармакотерапия. 2009; 11: 4: 35–38.
3. *Андреева Н.И.* Методические указания по изучению антидепрессантной активности фармакологических веществ. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ Минздрав РФ. ЗАО ИИА Ремедиум. 2000; 121–125.
4. *Chang C.M., Wu C.S., Huang Y.W., Chau Y.L., Tsai H.J.* Utilization of Psychopharmacological Treatment Among Patients With Newly Diagnosed Bipolar Disorder From 2001 to 2010. J Clin Psychopharmacol. 2016; 36 (1): 32–44
5. *Машковский М.Д.* Лекарственные средства. Т. 1. Изд. 13-е. Торсинг: Харьков. 1997.
6. Руководством по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Под ред. Миронова А.Н., Бунатян Н.Д. и др. М., ЗАО «Гриф и К», 2012, EPA Health Effects Test Guidelines OPPTS870.4100 Chronic Toxicity, ICH—S4;
7. *Березовская И.В.* Классификация химических веществ по параметрам острой токсичности при парентеральных способах введения/Химико-фармацевтический журнал. 2003; 37: 3: 32.
8. *Сидоров К.К.* О классификации токсичности ядов при парентеральных способах введения. Токсикология новых промышленных химических веществ. М.: 1973; 13: 47.
9. *Lim R. K., Rink K.G., Glass H.G., Soaje-Echague E.* A method for the evaluation of cumulation and tolerance by the determination of acute and subchronic median effective doses. Arch. Int. Pharmacodyn. Ther. 1961; 130: 1: 336–353.