

ПРИМЕНЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ И ПРОБИОТИКОВ

УДК 636.028.085.16.087.72:546.34:613.2-099

**ВЛИЯНИЕ ВЫСОКИХ ДОЗ ДОБАВКИ
АСКОРБАТА ЛИТИЯ НА ВЫЖИВАЕМОСТЬ И ОБМЕН ВЕЩЕСТВ
У ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ (крысы линии Вистар)**¹Остренко К.С., ¹Галочкин В.А., ¹Галочкина В.П., ²Громова О.А.,
²Пронин А.В., ³Горшин И.Ю.¹ ВНИИ физиологии, биохимии и питания животных, Боровск Калужской обл.;² Ивановская государственная медицинская академия, Иваново;³ Московский физико-технический институт (государственный университет),
Долгопрудный, Российская Федерация

Цель работы – изучить на лабораторных животных негативные эффекты аскорбата лития (АЛ) при однократном и длительном пероральном применении для купирования стрессовых состояний, определить токсические дозы и разработать методы снижения негативных воздействий. У крыс линии Вистар изучили органы-мишени, поражаемые при длительном применении токсических доз, и влияние изучаемой субстанции на обмен веществ. Установлено, что LD₅₀ аскорбата лития составляет 6,334 г/кг массы тела. Субстанция относится к соединениям 5 класса токсичности – практически не токсичным. Патологоанатомическая картина павших животных показывает симптомы острого отравления и наступление смерти от сердечно-лёгочной недостаточности при атрофии выделительной системы. Применение АЛ в дозе 1/3 LD₅₀ (2,11 г/кг) оказывало умеренно отрицательное воздействие на крыс. Коэффициент кумуляции равен 14,8, что свидетельствует о низком кумулятивном эффекте и низкой токсичности. При многократном введении доз АЛ превышающих LD₅₀ (субхронической токсичности), часть опытных животных адаптировалась и сохраняла жизнеспособность. Данные гистологического исследования свидетельствуют о том, что на фоне сохранения общей гистоструктуры происходило функциональное перенапряжение нейроэндокринного аппарата и, в меньшей степени, – органов выделения и размножения. Поскольку животные были забиты через 2 недели после окончания введения АЛ, за этот период, по-видимому, произошло частичное восстановление функциональной активности головного мозга, печени, почек, семенников и яичников. Об этом говорит умеренная гиперплазия клеточных элементов пролиферативной зоны аденогипофиза. Ввиду индивидуальной реакции животных на АЛ, выраженность описанных изменений у животных одной и той же группы была несколько разной, при этом АЛ активирует нейроэндокринную систему сильнее у самок, чем у самцов.

Ключевые слова: биологически активные вещества, аскорбат лития, крысы Вистар, острая токсичность, субхроническая токсичность, гистоструктура органов

Проблемы биологии продуктивных животных, 2017, 4: 65-80

Введение

В ранее проведенных исследованиях были получены данные, свидетельствующие о выраженных адаптогенных свойствах аскорбата лития (АЛ) при стрессовых воздействиях в условиях *in vivo* и *in vitro* и о тесной связи между стрессом и нейродеструктивными процессами на клеточном уровне (Остренко и др., 2017). Известно, что при долговременном использовании карбоната лития, во избежание токсических эффектов, необходимо периодически проводить клинический анализ крови и мочи. Такие сложности препятствуют широкому и эффективному использованию препаратов лития (Kandil, 2006). В связи с этим поиск, изучение и

внедрение новых соединений лития с низкой токсичностью и высокой эффективностью в малых дозах является перспективным направлением (Baumgartner et al., 1997; Остренко и др., 2009).

Целью данной работы было определить уровень безопасности аскорбата лития, определить основные токсикологические параметры, оценить воздействие высоких доз на системы органов и показатели обмена веществ в опытах на лабораторных животных.

Материал и методы

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 и до введения препарата подвергались суточной депривации. Животные были подобраны и распределены по группам по принципу парных аналогов, содержались при идентичных условиях кормления (ежедневная дача комбикорма из расчета 40-50 г на особь) и содержания (в клетках по 6 крыс в каждой, при температуре 19-21°C).

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).

Клетки и подстилка. Животные содержались индивидуально в поликарбонатных клетках с дном, покрытым стальными решетчатыми крышками с кормовым углублением. В качестве подстилки используется нехлорированная резаная автоклавируемая бумага. Проводилась рутинная проверка подстилки на микробиологическое загрязнение.

Корм. Животные кормились стандартным кормом для лабораторных грызунов «Чара» (Ассортимент Агро, Россия, ГОСТ ПК-120, Россия) *ad libitum*. Образцы корма периодически анализировались на микробиологическое загрязнение.

Вода. Фильтруемая водопроводная вода даётся *ad libitum* в стандартных питьевых бутылочках. Образцы воды периодически анализируются на микробиологическое загрязнение. Не было зафиксировано случаев контаминации воды, способной повлиять на результаты исследования.

Условия окружающей среды. Животные содержались в контролируемых условиях окружающей среды (18-26°C, относительная влажность 30-70%). В комнатах содержания животных поддерживается 12-часовой цикл освещения и, по крайней мере, 10-кратная смена объема воздуха комнаты в час.

Акклиматизация. Животные были акклиматизированы в лаборатории в течение как минимум 5 дней до начала введения. Во время этого периода осуществлялся ежедневный осмотр внешнего состояния животных. Животные с обнаруженными в ходе осмотра отклонениями в экспериментальные группы не включались.

Распределение по группам. Животные распределяются по группам рандомизировано. В качестве критерия принимается масса тела таким образом, чтобы индивидуальное значение массы не отклонялось от среднего значения в пределах одного пола более чем на 20%.

Идентификация животных. Каждому животному присвоен индивидуальный номер, помечаемый проколом ушной раковины и фиксируемый на карточке клетки.

Действия с остатками животных. Оставшиеся после формирования групп животные включаются в стоковую популяцию для использования внутри исследовательской организации.

Определение острой токсичности у крыс линии Вистар по методам Кербера и Першина. Острая токсичность – вредное действие препарата, проявляющееся после однократного применения или при повторном введении через короткие (не более 6 часов) интервалы в течение суток. Целью изучения острой токсичности является определение переносимых, токсических и летальных доз фармакологического вещества и причины наступления гибели животного.

го. Определение среднелетальной дозы (ЛД50) является неотъемлемой частью исследований новых фармакологических субстанций. На основании данного значения определяется класс токсичности вещества и можно рассчитать эффективные дозы для дальнейших исследований. Выявляются органы-мишени, на которое происходит негативное воздействие, приводящее к летальному исходу.

Параметры острой токсичности лекарственного вещества вычислялись с помощью статистических методов Кербера и Першина.

В первой серии опытов острая токсичность лития аскорбата определялась при пероральном способе введения. Показатель LD50 рассчитывался по методу Кербера. Субстанцию вводили однократно внутрь в дозах 1000, 2000, 3000, 4000, 5000, 6000, 7000, 8000 мг/кг массы тела. Объем введения составлял 2,0 мл на крысу (дозы являются предельно допустимыми по объему для перорального введения) внутривенно с помощью металлического зонда. Объем довели водой для инъекций. Критериями оценки токсичности служил летальный исход и характер клинической картины.

Результаты и обсуждение

Анализ результатов двух методов определения ЛД50 показал, что различия не превышают 0,1% в зависимости от метода, взятого за эталон, т.е. можно использовать любой из них (табл. 1-2). Полученные данные использованы для расчёта параметров острой токсичности АЛ. Для белых крыс линии Вистар LD50 – 6334 мг/кг, LD100 – 8000 мг/кг. Таким образом, по таблице распределения лекарственных средств, АЛ относится к 5 классу (Березовская, 2003) «практически нетоксичных», LD50 ≥ 5000 мг/кг.

Таблица 1. Определение среднесмертельной дозы аскорбата лития для крыс (по Керберу) (n=6)

Доза, мг/кг	1000	2000	3000	4000	5000	6000	7000	8000
Выжило	6	6	6	6	5	3	3	6
Пало	0	0	0	0	1	3	3	6
Z	0	0	0	0	0.5	2	3	4,5
D	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000
z·d	0	0	0	500	2000	3000	4500	
Σ Z×D = 10000								

$LD_{50} = LD_{100} - \sum(Z \times D) / n = 8000 - 1667 = 6333$, 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.

Таблица 2. Определение среднесмертельной дозы аскорбата лития для крыс линии Вистар (по Першину) (n=6)

Доза, мг/кг	1000	2000	3000	4000	5000	6000	7000	8000
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, А	3000	5000	7000	9000	11000	13000	15000	
Разность % умерших, В	0	0	0	16,6	33,4	0	50	
(A × B)	0	0	0	149400	367400	0	750000	

$\Sigma (A \times B) = 1266840$; $LD_{50} = 1266840 / 200 = 6334$ мг/кг

Клиническая и патологоанатомическая картина острого отравления крыс аскорбатом лития. При пероральном введении токсических доз АЛ клиническая картина отравления проявляется через сутки; крысы меньше потребляют корм, но жадно пьют воду, учащаются акты дефекации, помет жидкий с большим количеством слизи. Желудок быстро переполняется водой, его содержимое жидкое. Животные становятся малоподвижными, предпочитают сидеть группами рядом с поилкой и пить воду. По мере развития отравления крысы лежат с закрытыми глазами, движения скованные, каловые массы беловато-водянистые, в поздние сроки не содержат остатков корма. Слизистые глаз, ротовой полости бледно-розовые. Дыхание учащенное. Общее угнетение нарастает: крысы перестают реагировать на внешние раздражители. Температура тела снижается за 2-3 ч до смерти на несколько градусов.

У павших крыс при наружном осмотре шерсть мокрая, взъерошенная, вокруг ануса – испачкана каловыми массами. Слизистая оболочка анального отверстия бледно-розового цвета, влажная. Из носовых отверстий выделяется пенная жидкость розоватого цвета. Из ротовой полости стекает водянистая, мутноватая жидкость со слизью. При вскрытии отмечалось правильное положение грудобрюшной полости. Сердце округлой формы, коронарные сосуды наполнены кровью, 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. Проподимость желчного протока сохранена. Селезенка без видимых изменений. Почки неравномерно окрашенные, пестрые, сосуды кровенаполнены. Кортикальный слой утолщен, дряблой консистенции. Границы между кортикальным и мозговым слоем стертые. В полости трахеи содержится пенная масса бело-розового цвета. Легкие красного цвета, тестоватой консистенции, на разрезе при надавливании стекает пенная масса красного цвета и кровь. Кусочки легкого 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 имеет покрасневшую слизистую оболочку, содержит небольшое количество корма зеленоватого цвета. Кутикула снимается с усилием, слизистые без видимых изменений. В кишечнике слизистая оболочка бледно-розовая, местами покрасневшая, содержание 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 отек легких; белковая дистрофия почек, печени, миокарда; острая застойная гиперемия почек, печени и мозговых оболочек; слизистый катар желудочно-кишечного тракта. Смерть крыс при остром отравлении АЛ наступила от сердечно-легочной недостаточности при атрофии выделительной системы.

В результате проведенных исследований установлено, что LD₅₀ для АЛ составляет 6,334 г/кг м.т. Субстанция относится к соединениям 5 класса токсичности – практически не токсичным (Беленький, 1963). Патологоанатомическая картина павших животных показывает симптомы острого отравления и наступление смерти от сердечно-легочной недостаточности при атрофии выделительной системы.

Определение подострой токсичности аскорбата лития. Подострая (субхроническая) токсичность – совокупность функциональных и/или морфологических нарушений органов и систем подопытного животного после повторного введения. Продолжительность введения 2-12 недель (Хабриев, 2005).

В ходе исследований установили, что на третий день отмечено снижение суточного потребления корма в опытной группе по сравнению с контролем. Крысы опытной группы больше потребляли воды, были менее подвижными. Сниженное суточное потребление корма крысами опытной группы оставалось на одном уровне в течение 2 недель наблюдения. Это не могло не отразиться на приросте массы тела (м.т.). За первые трое суток крысы контрольной

группы прибавили в массе 59,1 г, а крысы опытной группы теряли в среднем 68 г. У опытной группы крыс выделялись разжиженные каловые массы, температура тела составляла 39,7-40,8°C. Три крысы пали на 6-й день, потеряв до 80 г. Две крысы пали на 8-й 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 часа до гибели температура тела снижалась до 37,6°C. Данные представлены в табл. 3.

Таблица 3. Динамика изменения массы тела крыс в тесте подострой токсичности ($M \pm m$, $n=6$)

Группы	Масса до введения, г	Дни проведения измерений			
		через 3 дня	через 7 дней	через 14 дней	через 21 день
Контрольная	189,2±7,3	248,3±6,6	283,2±9,6	317,2±7,9	349,5±5,9
Опытная	189,3±8,6	136,5±27,7	137,7±49,1	168,9±66,6	245,3±16,5

Семь крыс адаптировались в разной степени к подострой интоксикации АЛ и выжили, но в характере их реакции были существенные отличия. Крысы на протяжении 21 дня не прибавляли в массе тела, трудно приспосабливались к действию лития. Четыре крысы в первые 2 дня потеряли в среднем 27 г, в последующие двое суток одна из них прибавила 12 г, остальные по 4-6 г. Это минимальное увеличение позволило к 21 дню прибавить массу тела на 38-43г. Оставшиеся 3 крысы отличались лучшими адаптационными возможностями. У одной из них снижение м.т. отмечалось только в первые 4 дня, а в последующем м.т. увеличивалась постоянно по мере роста.

Павшие крысы к моменту смерти теряли в среднем 50% исходной массы, уменьшались весовые коэффициенты сердца, селезенки и имела тенденция к снижению этого показателя у желудка. Расчетные весовые коэффициенты печени, поджелудочной железы, двенадцатиперстной кишки, слепых и прямой кишок имели тенденцию к увеличению под влиянием лития.

Расчет коэффициента кумуляции ($K_{кум}$) при определении подострой токсичности проводили по формуле (Сидоров, 1973): $K_{кум} = D_k / LD_{50}$, где D_k – суммарная доза, полученная крысой; LD_{50} – среднелетальная доза

В ходе проведенного эксперимента было установлено, что АЛ в дозе $1/3 LD_{50}$ (2,11 г/кг живой массы тела) оказывает отрицательное воздействие на крыс. Но части животным удаётся адаптироваться и выжить. Коэффициент кумуляции равен 14,8, что свидетельствует о низком кумулятивном эффекте и низкой токсичности.

Определение субхронической токсичности лития аскорбата при приеме внутрь (по Лимму) и расчет коэффициента кумуляции. Субхроническая системная токсичность – неблагоприятный эффект, возникающий после ежедневного введения однократной или многократных доз исследуемой пробы в течение части общей продолжительности жизни (не более 10% продолжительности жизни).

Введение АЛ в течение 2-3 дней не влияло на поведение животных. С 5-го дня уменьшилась поедаемость корма и увеличивалось на 25-30% потребление воды. Некоторые животные были малоподвижны, шерсть взъерошена, каловые массы неоформленные. С 10-го дня, т.е. с увеличением дозы до $0,4 LD_{50}$, кал становился жидким, так как крысы опытной группы потребляли на 50% больше воды при снижении поедаемости корма, по сравнению с контрольной группой. Так, на 16-й день в опытной группе крысы съели лишь 48% корма от потребленного контрольной группой.

Наряду со снижением поедаемости корма и увеличением жажды, была отмечена потеря массы тела. Так, на 16-й день эта потеря составляла: у 3-х крыс 1-2%, у 2-х – 4-5%, у 4-х – 8-12%. Только у одной крысы живая масса даже увеличилась на 1,6%. Масса тела контрольной группы за это время возросла на 80-100%. На 20-й день у 8 крыс снижение массы составляло 11-21%, у одной – 6,3% и одна пала от суммарной дозы $4,24 LD_{50}$ на 24-й день, потеряв 87 г м.т.

При рассмотрении динамики м.т. в зависимости от времени поступления препарата

лития или суммарной дозы за время опыта подтверждается предположение об индивидуальной чувствительности крыс к АЛ (табл. 4).

Таблица 4. Динамика изменения массы тела крыс в тесте субхронической токсичности (M±m, n=10)

Группы	Масса до введения, г	Дни проведения измерений					
		через 5 дней	через 10 дней	через 15 дней	через 20 дней	через 25 дней	через 30 дней
Контроль	200,8±4,6	232,0±6,0	262,8±17,6	275,4±39,9	331,4±13,0	361,0±15,3	391,0±15,6
Опыт	199,4±5,1	223,9±7,3	223,9±15,8	275,4±20,0	331,0±26,4	184,0±16,5	193,4±17,7

Возрастающая жажда у крыс опытных групп по ходу опыта объясняется полиурией, которую наблюдают у людей и животных при длительном введении препаратов лития (Pallanti et al., 2002). Полиурический эффект лития обусловлен нарушением синтеза и секреции антидиуретического гормона и ослаблением действия гормона на почки.

При сравнении с контрольной группой весовых коэффициентов (в.к.) органов у крыс, павших от литиевой интоксикации, отмечается повышение на 1,2 в.к. печени и снижение на 0,11 в.к. поджелудочной железы и на 0,9 в.к. желудка. Токсическое действие проявлялось снижением массы тела, увеличением массы мозга, печени, сердца и почек.

Коэффициент кумуляции ($K_{кум}$) в опыте по определению субхронической токсичности (по Лиму) определяли по той же формуле, что и в предыдущем опыте: $K_{кум} = D_k / LD_{50}$, где: D_k – суммарная доза, полученная крысой; LD_{50} – среднелетальная доза. В данном случае $K_{кум} = 93,58/6,33 = 14,8$. Таким образом, АЛ относится к соединениям 5-го класса, практически не токсичен. При периодическом введении дозы, превышающей многократно LD_{50} (Chang et al., 2016), часть опытных животных адаптируется и сохраняется жизнеспособность, что говорит о низкой токсичности.

Определение хронической токсичности аскорбата лития и его влияние на обмен веществ, рост и развитие крыс Хроническая токсичность — это совокупность токсических эффектов, вызываемых повторным введением того или иного токсического вещества в одинаковой дозе, в течение периода, обычно соответствующего большей части жизни мало живущих видов лабораторных животных (Андреева, 2000). Для определения опасности повторного применения препарата (хронической токсичности) при длительном введении изучаемые соли вводили в течение 30 дней в дозе 630 мг/кг живой массы, что составляет 1/10 от LD_{50} . Препарат вводили *per os* в виде раствора с помощью желудочного зонда, ежедневно. Объектом исследования были лабораторные 2-х месячные крысы обоего пола линии Вистар, средней массой 170-200 г.

По итогам исследований хронической токсичности можно сделать вывод о долгосрочном эффекте действия испытуемого вещества у животных, что позволяет экстраполировать результаты безопасности на продуктивных животных. Допустимый диапазон различий по живой массе животных – не более $\pm 20\%$. За исследуемый период у животных наблюдались нормальные физиологические функции, поведенческие реакции и биохимические параметры. В конце исследования гистологическому анализу подвергались все ткани органов животного.

Гистологические исследования

Мозг контрольных животных. В коре головного мозга хорошо определяется стратификация слоёв с некоторым разрежением нейронов ганглионарного слоя в сомато-сенсорной зоне. В таламусе нейроны имеют ядра разной величины с четкой кариолеммой и узким ободком слабо или умеренно базофильной цитоплазмы. В гипоталамусе дорсолатеральные ядра содержат более мелкие нейроны по сравнению с вентролатеральными и латеральными ядрами.

У животных, получавших АЛ, структура мозга не изменена. Отмечается 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, отмечается присутствие отдельных или небольших групп нейронов с увеличенной базофильной цитоплазмой, содержащей зернистый или гомогенный материал (рис. 1). Кроме того, у некоторых животных в супраоптических ядрах (рис. 2) нейросекреторные клетки гетерогенные, разной величины, в их цитоплазме содержание базофильного вещества значительно колеблется, часть нейронов уменьшены в размерах, имеют гиперхромное ядро и цитоплазму.

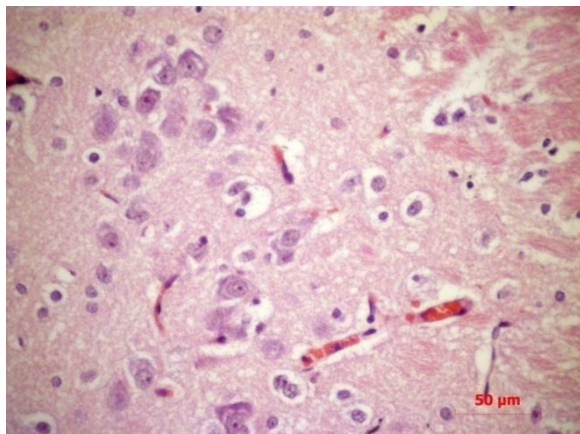


Рис. 1. Нейроны парафорникулярной зоны гипоталамуса после введения аскорбата лития. Нейроны гипертрофированы. Окраска г.-э. Об. 40, ок. 10.

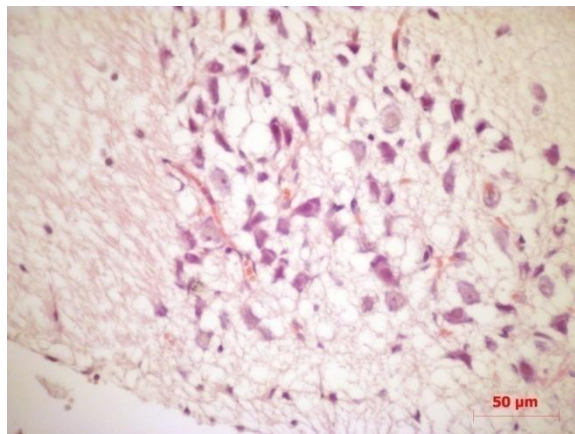


Рис. 2. Супраоптическое ядро гипоталамуса крысы – самки после введения аскорбата лития. Нейроны гетерогенны. Окраска г.-э. Об. 40, ок. 10.

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

Гипофиз. У интактных животных гипофиз состоит из трех частей: передней части (аденогипофиза), задней части (нейрогипофиза) и расположенной между ними узкой промежуточной части, относящейся по генезу к аденогипофизу. Клетки аденогипофиза играют важную роль в регуляции функции гормональных органов-мишеней и, в свою очередь, находятся под регулирующим влиянием ядерных образований гипоталамуса. При окрашивании гематоксилином и эозином различают эозинофильные и базофильные эндокринные клетки гипофиза, которые выполняют различные функции. Принято считать, что к эозинофилам относятся клетки, вырабатывающие соматотропный гормон (гормон роста) и лактогенный гормон. Базофилы включают в себя клетки, вырабатывающие тиреотропный гормон (ТТГ), адренокортикотропный гормон (АКТГ), фолликулостимулирующий гормон (ФСГ), лютеинизирующий гормон (ЛГ). Мелкие клетки с неокрашенной скудной цитоплазмой (хромофобные), расположенные в аденогипофизе в виде небольших групп, относят к функциональным предшественникам описанных выше хромофильных клеток. Эндокринные клетки передней доли гипофиза находятся под контролем гормон-регулирующих факторов, вырабатываемых нейросекреторными клетками, рассеянными по всей паравентрикулярной области гипоталамуса.

Промежуточная часть гипофиза состоит из слабо окрашенных клеток, содержащих светлый коллоид, и клеток среднего размера с базофильной цитоплазмой. В задней доле гипофиза происходит накопление и выделение в кровь вазопрессина и окситоцина – нейрогормонов, вырабатываемых нейросекреторными клетками супраоптического и паравентрикулярного ядер гипоталамуса и транспортируемых в нейрогипофиз по гипоталамо-гипофизарному

тракту, состоящему из аксонов этих клеток. Сюда транспортируются и накапливаются в булавовидных образованиях (везикулах) нейросекреты (гормон-рилизинг факторы) от других нейросекреторных клеток, разбросанных по гипоталамусу и регулирующих эндокринные клетки аденогипофиза. По системе кровеносных сосудов они поступают из задней доли в переднюю, достигая клеток-мишеней. Таким образом, гистоструктура нейрогипофиза определяется в основном содержанием большого количества аксонов нейросекреторных клеток, расположенных за его пределами, гормон-содержащими булавовидными образованиями и нейроглиальными клетками, создающими строму задней части гипофиза. Передняя и задняя части гипофиза содержат хорошо развитую и полнокровную сеть кровеносных капилляров

У контрольных крыс гистоструктура гипофиза не отличается от представленной выше. В аденогипофизе видны эозинофильные и базофильные клетки. Они имеют зернистую цитоплазму полигональной формы, округлое ядро, умеренно базофильное с пылевидным хроматином и мелким ядрышком. Визуально у самцов количество эозинофилов больше, чем у самок. Как у тех, так и у других цитоплазма эозинофильных клеток имеет разную степень насыщенности гранулярным материалом, его гораздо меньше в клетках, расположенных на периферии доли. Необходимо отметить, что по своим морфологическим характеристикам клетки аденогипофиза несколько отличаются в зависимости от своего расположения. По периферии передней доли клетки имеют черты дистрофических изменений: их цитоплазма и ядро уменьшены и уплотнены, другие клетки полностью лишены гранул, их ядра темные, иногда деформированы. Ближе к центральной части встречаются группы ярко эозинофильных клеток с плотным ядром и цитоплазмой. Подобная гистологическая картина периферически расположенных клеток позволяет предположить, что на них падает основная функциональная нагрузка по выработке и выделению гормонов, а остальная часть содержит резервные клетки. Хромофобные клетки располагаются в основном по периферии передней части гипофиза.

Задняя часть гипофиза имеет рыхлое волокнисто-ячеистое строение, в основном, представленное пучками аксонов и разбросанными среди них глиальными элементами. Среди описанных структур выявляются везикулы с зернистым эозинофильным содержимым, которые зачастую непосредственно контактируют с кровеносными сосудами. Необходимо отметить, что у самцов количество везикул с зернистым содержимым меньше, а сами везикулы выглядят более мелкими. Сопоставляя эти данные с данными гистологического строения аденогипофиза, можно предположить, что у самцов система выработки и реализации нейрогормональных продуктов функционирует более активно, чем у самок.

Самки (+АЛ). Дистрофических и некротических изменений в клетках аденогипофиза не отмечается. Клеточные элементы располагаются более плотно, чем у интактных животных, их ядра выглядят несколько увеличенными, а цитоплазма меньше, чем в контроле. В задней доле везикулы (булавовидные образования) с зернистым содержимым практически не выявляются. Встречаются отдельные везикулярные образования с плотным гомогенным содержимым

Самцы (+АЛ). У одного животного в аденогипофизе эозинофильно окрашенные клетки представлены, в основном, в виде небольших групп, имеют признаки дистрофических изменений: их цитоплазма и ядра уплотнены, базофильные клетки содержат скудное количество цитоплазматических гранул. У других животных эти изменения выражены слабо и по своей гистоструктуре орган приближается к контролю. В задней доле гипофиза гистологическая картина мало отличается от нормы. Рыхлая волокнисто-ячеистая структура доли содержит редкие булавовидные образования с зернистым содержимым.

Заключение. Общая структура органа не изменена. У части животных признаки функциональной нагрузки на гормональные клетки к этому сроку сохранены. У самок умеренная репаративная гиперплазия в исследованный срок выражена ярче. При введении АЛ восстановительные процессы в клетках аденогипофиза протекают быстрее, и процессы активного выброса гормональных препаратов более длительны, что особенно выражено у самок.

Надпочечники. У крыс-самок, получавших АЛ, изменения со стороны клеток клубочкового слоя умеренные и связаны с неравномерностью его толщины, структура коркового вещества в пределах нормы. В мозговом веществе клетки гетерохромны за счет того, что одни из них выглядят опустошёнными, другие, наоборот, имеют слабобазофильную, заполненную зернистым веществом, цитоплазму. У некоторых животных этой группы ядра клеток мозгового вещества гетерогенны – разной величины, в одних ядрах происходит хроматолиз, другие гиперхромны. У одного животного гистоструктура органа не отличается от нормы. У крыс-самцов, получавших АЛ, гистоструктура надпочечников близка к норме. Корковое вещество выглядит не изменённым. Так же, как и у самок, отмечается 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 отличаются от контроля, опустошённые и тёмные клетки лишь единичные. В одном случае процесс активации клеток мозгового вещества значительно выражен.

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

Яичники. У интактных крыс яичники представляют собой бугристые образования, состоящие из коркового и мозгового вещества (рис. 3).



Рис. 3. Максимальный срез через яичник интактной крысы. Окраска г.-э. Об. 2,5, ок. 10.



Рис. 4. Максимальный срез через яичник крысы после введения аскорбата лития. Яичник увеличен, отмечается атрезия фолликулов. Окраска г.-э. Об. 2,5, ок. 10.

В корковом веществе присутствует значительное количество фолликулов в разной стадии созревания и желтые 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 АЛ (рис. 4), гистоструктура яичников практически не отличается от таковой животных интактной группы. Отмечается явное преобладание в них жёлтых тел над фолликулами.

Семенники. У крыс-самцов, получавших АЛ (рис. 5), гистоструктура семенников сохранена, патологических изменений со стороны канальцев, их содержимого и стромальных элементов не отмечено. Полученные цитоморфологические данные позволяют заключить, что вводимые препараты не оказывают на семенники крыс-самцов каких-либо видимых изменений.

Печень. Самки (+АЛ). Гистоструктура органа по сравнению с контрольными животными не изменена.

Самцы (+АЛ). Гистоструктура печени от нормы не отличается. Отмечается некоторое увеличение гранул РНП в цитоплазме гепатоцитов по сравнению с контролем и печенью самок (рис. 6).

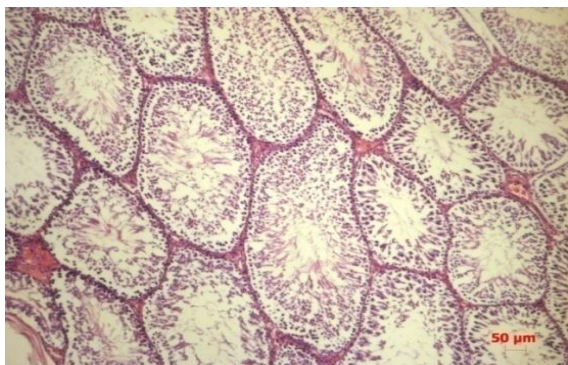


Рис. 5. Семенник крысы после введения аскорбата лития. Гистоструктура органа не изменена. Окраска г.-э. Об. 10, ок. 10.

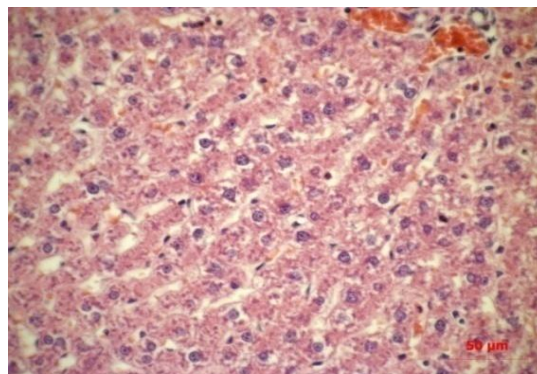


Рис. 6. Печень крысы-самца после введения аскорбата лития. Отмечается умеренное увеличение гранул РНП в гепатоцитах. Окраска г.-э. Об. 40, ок. 10.

По изученным цитоморфологическим признакам у крыс-самцов, получавших АЛ, присутствуют признаки умеренной функциональной нагрузки на гепатоциты.

Почки. У опытных животных (+АЛ), как у самок, так и у самцов, гистоструктура органа не изменена. Отмечаются умеренные изменения со стороны гломерулярного аппарата и дистальных извитых канальцев: часть клубочков имеет гипертрофированный юкстагломерулярный аппарат, в некоторых клубочках между висцеральным и париетальным листками капсулы Боумена-Шумлянского имеются синехии, единичные клубочки сморщены. Цитоплазма дистальных извитых канальцев в состоянии зернисто-вакуольной дистрофии. Цилиндры в просвете канальцев или собирательных трубочек отсутствуют.

Данные исследования гистологического строения почек свидетельствуют о сохранении их гистоструктуры. В то же время они позволяют 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.

В целом, данные гистологического исследования свидетельствуют о том, что при сохранении общей гистоструктуры происходит функциональное перенапряжение нейроэндокринного аппарата (гетерогенность клеточных элементов, признаки дистрофических изменений в них) и, в меньшей степени, внутренних органов у крыс, получавших аскорбат лития ежедневно в течение 30 дней. Так как животные были забиты через 2 недели после окончания введения препарата, за этот период, по-видимому, произошло частичное восстановление функциональной активности активированных органов. В пользу этого говорит умеренная гиперплазия клеточных элементов пролиферативной зоны аденогипофиза. Необходимо отметить индивидуальную реакцию животных на вводимые препараты, так как выраженность описанных изменений у животных одной и той же группы может быть разной. Тем не менее, можно сказать, что АЛ активирует нейроэндокринную систему сильнее у самок, чем у самцов.

Влияние повторного введения АЛ в дозе 1/10 ЛД₅₀ на обмен белков и липидов

Для определения уровня безопасности повторного применения, препарат АЛ вводился в течение 30 дней в дозе 1/10ЛД₅₀. Отбор проб производился через 18 и 31 день. Введение

внутрижелудочно крысам АЛ в этой дозе существенно не повлияло на потребление корма, но увеличивало потребление воды. Помет становился более жидким. Крысы спокойнее реагировала на внешние раздражители (человека, других крыс и т.д.), легче отлавливалась. Через 18 дней опыта в сыворотке крови крыс опытной группы не отмечено тенденции к повышению содержания белковых фракций, а фракции альбуминов и глобулинов не увеличились (табл. 5).

Таблица 5. Влияние длительного введения аскорбата лития на содержание белковых фракций в сыворотке крови крыс (% от общего количества белка) ($M \pm m$, $n=5$)

	Группы	Альбумины	Глобулины					β -липо-протеиды
			a1	a2	b1	b2	g	
Через 18 дней	Контроль	48,8 \pm 0,8	11,3 \pm 0,5	5,5 \pm 0,7	5,9 \pm 0,7	15,3 \pm 0,6	13,2 \pm 0,9	0,86 \pm 0,17
	Опыт	46,7 \pm 1,5	13,1 \pm 1,2	4,3 \pm 1,1	6,2 \pm 1,4	16,5 \pm 1,5	15,2 \pm 1,9	4,54 \pm 1,00*
Через 31 день	Контроль	46,3 \pm 1,4	12,4 \pm 1,3	6,7 \pm 1,8	5,5 \pm 1,3	16,8 \pm 1,2	16,1 \pm 1,9	1,01 \pm 0,39*
	Опыт	47,9 \pm 1,7	14,5 \pm 1,4	6,6 \pm 1,6	5,8 \pm 1,7	15,9 \pm 1,4	18,1 \pm 0,6*	7,63 \pm 1,59

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

На 31-й день применения препарата эта закономерность сохраняется, только у β -липопротеидов наблюдается повышение. Таким образом, применение АЛ не влияет на белковые фракции крови.

Введение АЛ крысам в дозе 1/10 ЛД₅₀ в течение месяца не вызывало тенденции к снижению суммы незаменимых аминокислот и суммы свободных аминокислот (табл. 6). Снижение в сыворотке крови крыс содержания свободного гистидина, лейцина, изолейцина, тирозина, серина и метионина незначительно.

Таблица 6. Содержание свободных аминокислот в сыворотке крови у крыс, получавших аскорбат лития в течение 30 дней (мкмоль/л) ($M \pm m$, $n=5$)

Аминокислоты	Контроль	Опыт
Аспарагиновая	17,50 \pm 0,83	17,10 \pm 1,39
Серин	221,5 \pm 8,6	206,6 \pm 19,1
Глутаминовая	52,1 \pm 1,23	49,7 \pm 2,27
Таурин	111,5 \pm 2,6	101,4 \pm 3,3
Цистин	23,7 \pm 1,13	22,3 \pm 2,15
Глицин	196,8 \pm 12,3	189,1 \pm 3,13
Аланин	4,51 \pm 0,51	4,17 \pm 0,45
Тирозин	58,8 \pm 1,3	46,1 \pm 1,5
Треонин	101,2 \pm 1,6	94,6 \pm 1,6
Валин	162,0 \pm 4,8	154,2 \pm 3,3
Метионин	89,2 \pm 1,9	78,9 \pm 3,3
Изолейцин	75,8 \pm 1,8	70,5 \pm 2,1
Лейцин	104,0 \pm 1,7	95,6 \pm 3,5
Гистидин	430,0 \pm 8,4	410,8 \pm 5,7
Фенилаланин	57,9 \pm 3,5	53,7 \pm 2,7
Лизин	270,4 \pm 4,9	262,6 \pm 5,3
Аргинин	178,9 \pm 11,0	169,2 \pm 17,5

При исследовании хронической токсичности АЛ (1/10 ЛД₅₀ в течение месяца) не отмечено тенденции к снижению к 18-му дню опыта в сыворотке крови эфиров жирных кислот, триглицеридов, эфиров холестерина и фосфолипидов. В печени крыс, получавших АЛ, не выявлено изменений относительно контроля во фракциях фосфолипидов и холестерина (табл. 7).

Содержание фосфолипидов в сыворотке крови (суммарная фракция) через 18 дней от начала введения препарата существенно не изменялось. Таким образом, АЛ не оказал существенного влияния на содержание фосфолипидов, фракции белка и липидов в крови.

Введение АЛ не вызвало существенных различий в содержании индивидуальных жирных кислот липидов сыворотки крови крыс, хотя имели место некоторые индивидуальные отличия (табл. 8). Из 11 идентифицированных жирных кислот липидов сыворотки крыс тенденцию к увеличению отмечали в содержании линоленовой, докозагексаеновая кислот (на 15%) и

дигомо- γ -линоленовой кислот (на 13%). Тенденцию к снижению уровня жирных кислот регистрировали у олеиновой, пентадекановой, пальмитиновой кислот на 12-17%, миристиновой, арахидоновой – на 5-7%.

Таблица 7. Влияние длительного введения аскорбата лития (1/10 ЛД₅₀) на содержание липидов в сыворотке крови (г/л) и в печени (г/кг) крыс (M \pm m, n=5)

	Группы	Фосфолипиды	Холестерин	Эфиры жирных кислот	Триглицериды	Эфиры холестерина	
Сыворотка крови	Через 18 дней						
	Контроль	5,05 \pm 0,62	3,67 \pm 0,49	2,33 \pm 0,38	0,87 \pm 0,46	3,24 \pm 1,18	
	Опыт	5,61 \pm 0,66	3,28 \pm 1,24	3,34 \pm 0,60	0,61 \pm 0,18	3,14 \pm 1,48	
	Через 30 дней						
Печень	Через 18 дней						
	Контроль	38,80 \pm 1,32	18,61 \pm 1,43	17,07 \pm 1,68	18,61 \pm 1,83	16,83 \pm 2,70	
	Опыт	39,45 \pm 0,94	20,82 \pm 0,67	16,10 \pm 0,98	17,27 \pm 0,70	15,53 \pm 1,00	
	Через 30 дней						
Печень	Контроль	31,82 \pm 0,53	17,92 \pm 2,06	17,22 \pm 1,26	17,65 \pm 2,14	15,82 \pm 0,66	
	Опыт	35,49 \pm 1,66	19,14 \pm 2,12	16,40 \pm 2,19	18,32 \pm 1,46	15,15 \pm 1,68	

Таблица 8. Содержание холестерина и жирных кислот липидов сыворотки крови крыс, получавших АЛ в течение 30 дней (M \pm m, n=5)

Показатели	Группы	
	Контроль	Опыт
Общий холестерин, ммоль/л	3,18 \pm 0,66	3,17 \pm 0,58
Жирные кислоты, отн. %		
Миристиновая	0,63 \pm 0,28	0,59 \pm 0,33
Пентадекановая	0,76 \pm 0,30	0,65 \pm 0,26
Пальмитиновая	3,42 \pm 0,45	2,8 \pm 0,71
Пальмитолеиновая	11,65 \pm 1,07	10,84 \pm 1,67
Дигомо- γ -линоленовая	0,63 \pm 0,18	0,79 \pm 0,31
Докозагексаеновая	0,49 \pm 0,08	0,56 \pm 0,18
Стеариновая	14,60 \pm 1,08	13,30 \pm 0,96
Олеиновая	16,50 \pm 1,27	14,50 \pm 1,25
Линоленовая	2,58 \pm 0,46	0,55 \pm 0,21
Линолевая	26,39 \pm 0,99	30,34 \pm 2,82
Арахидоновая	6,90 \pm 0,58	6,27 \pm 0,91

В целом, в опытах по определению хронической токсичности используемая доза АЛ 1300 мг/кг м.т., даже вводимая в течение месяца, не вызывала серьезных нарушений обмена веществ, процессов гемопоэза и лейкопоэза. Не отмечено морфологических нарушений в основных органах – печени, сердце, почках, селезенке и др. Крысы опытной группы нормально развивались и прибавляли в весе тела. Если через 18 дней масса тела крыс контрольной и опытной групп практически не различалась, то в конце опыта у крыс опытной группы появилась тенденция к увеличению этого показателя на 11,5% – 239 \pm 10 г против 207 \pm 9 г у контрольной группы (P<0,05). Способность лития влиять на массу тела у крыс описана при внутривенном введении препарата (EL-Balkhi, 2009).

Таким образом, ежедневное введение в течение месяца препарата в дозе 1/10ЛД₅₀ не вызывало признаков токсикоза и существенных сдвигов в обмене веществ.

Влияние однократного введения АЛ в дозе 1/3 ЛД₅₀ на гормональный статус крыс

Введение АЛ крысам однократно в высокой дозе 2200 мг/кг м.т. довольно быстро вызывало общее успокоение животных, затем разжижение помета и повышение потребления во-

ды. Содержание тироксина (T_4) и трийодтиронина (T_3) в сыворотке крови в опытной группе в первые 5 ч действия АЛ было на уровне контрольной группы. Через сутки после введения АЛ уровень T_3 повысился на 15% ($P<0,05$). Через 3 суток после введения имела место тенденция к повышению уровня T_4 на 12% ($P<0,05$), а содержание T_3 – к понижению на 17% ($P<0,05$) по отношению к контрольной группе (табл. 9)

Таблица 9. Влияние АЛ на уровень α -АМФ, гормонов щитовидной железы и гипофиза у крыс ($M \pm m$, $n=5$)

Показатели	Группы и доза	Время после применения АЛ, ч		
		5	24	72
Щитовидная железа				
Тироксин (T_4), нмоль/л	2200 мг/кг	92,4±1,2	101,3±1,7	102,8±1,9*
	Контроль	90,1±0,9	92,1±3,0	91,8±3,6
Трийодтиронин (T_3), нмоль/л	2200 мг/кг	2,76±0,41	4,25±0,43*	3,23±0,32*
	Контроль	2,62±0,32	3,72±0,53	3,74±0,71
Надпочечник				
α -АМФ, мкмоль/г	2200 мг/кг	191,3±0,9*	156,8±1,5*	170,0±1,9
	Контроль	167,8±1,7	170,2±2,0	169,7±2,3
Гипоталамус				
α -АМФ, мкмоль/г	2200 мг/кг	96,4±1,2	106,1±1,4	129,3±1,5*
	Контроль	116,2±1,4	118,9±1,7	118,6±1,7
Гипофиз				
Соматотропин, мкг/мг белка	2200 мг/кг	73,8±0,5*	68,6±0,9	56,8±0,7
	Контроль	69,0±2,3	71,4±2,1	68,1±2,2
Прولاктин, мкг/мг белка	2200 мг/кг	26,9±1,2*	23,4±1,5	21,5±1,0
	Контроль	20,7±1,0	20,2±1,3	20,2±1,3

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

Самое высокое содержание α -АМФ было в ткани надпочечника и меньше всего – в гипоталамусе. Содержание α -АМФ в надпочечниках через 5 ч после введения препарата повысилось против контроля на 14% ($P<0,05$). Через 24 ч после введения отмечалась тенденция к уменьшению содержания α -АМФ в надпочечниках на 18% ($P<0,05$) и к увеличению его в гипоталамусе. Через 72 ч уровень α -АМФ в надпочечниках возвращается к уровню в контроле, а в гипоталамусе его содержание выше, чем в контрольной группе ($P<0,05$).

Через 5 ч после введения АЛ в дозе 2200 мг/кг м.т. содержание соматотропина и пролактина в гипофизе крыс повышалось ($P<0,05$) по отношению к контрольной группе. Отмечена тенденция к снижению содержания пролактина в гипофизе 24 ч и через 3 сут после введения, по отношению к контрольной группе. Содержание соматотропина оставалось сниженным через 24 ч и через 3 суток после введения.

Таким образом, АЛ в дозе 2200 мг/кг м.т. вызывает в первые сутки тенденцию к повышению концентрации тироксина и трийодтиронина, затем уровень T_4 продолжает расти, а T_3 снижается по отношению к контролю. Содержание α -АМФ в надпочечнике и в гипоталамусе уровень α -АМФ в целом существенно не изменялся. Исследованная доза препарата в первые часы после его введения повышала содержание соматотропина и пролактина в гипофизе крыс, затем уровень обоих гормонов почти до контрольных значений, а на 3 сутки содержание соматотропина было ниже, чем контрольной группе.

В целом, однократная токсическая доза ($\approx 1/3$ ЛД₅₀) АЛ не вызывала в первые трое суток существенных необратимых изменений в показателях гормонального статуса у подопытных крыс.

Заключение

В данном исследовании при определении негативного воздействия аскорбата лития высокая доза 1300 мг/кг м.т., даже вводимая в течение месяца, не вызывала серьезных нарушений обмена веществ, процессов гемопоэза и лейкопоэза. Не отмечено морфологических

нарушений в основных органах – печени, сердце, почках, селезенке и др. Крысы опытной группы нормально развивалась и росли. Через 18 дней от начала введения препарата масса тела крыс контрольной и опытной групп практически не различалась, а в конце опыта у крыс опытной группы выявилось увеличение этого показателя на 11,5% ($239 \pm 10,5$ г против $207 \pm 8,6$ г в контрольной группе, $P < 0,05$). Способность лития оказывать влияние на массу тела у крыс описана ранее (Vendsborg et al., 1976) при внутрибрюшинном введении препарата. Таким образом, ежедневное введение АЛ в течение месяца в дозе $1/10$ ЛД₅₀ не вызывало признаков токсикоза и существенных сдвигов в обмене веществ. Однократная токсическая доза ($\approx 1/3$ ЛД₅₀) АЛ не вызывала в первые трое суток существенных необратимых изменений в гормональном статусе крыс. Данные гистологического исследования свидетельствуют о том, что при многократном введении высоких доз АЛ при сохранении общей гистоструктуры происходило функциональное перенапряжение органов нейроэндокринной системы и в меньшей степени – органов выделения и размножения.

ЛИТЕРАТУРА

1. 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. – С. 121-125.
2. Анохин П.К. Узловые вопросы теории функциональных систем. – М.: Наука, 1980. – 197 с.
3. Балукова Е.В. Депрессия как фактор риска соматической патологии // Психиатрия. – 2008. – № 3. – С. 36-43.
4. Беленький М.Д. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта. – Л.: Медгиз, 1963. – 151 с.
5. Березовская И.В. Классификация химических веществ по параметрам острой токсичности при парентеральных способах введения // Химико-фармацевтический журнал. – 2003. – Т. 37. – № 3. – С. 32-34.
6. Каркищенко В.Н., Капанадзе Г.Д., Деньгина С.Е., Станкова Н.В. Разработка методики оценки физической выносливости мелких лабораторных животных для изучения адаптогенной активности некоторых лекарственных препаратов // Биомедицина. – 2011. – № 1. – С. 72-74.
7. Миронова А.Н., Бунатян Н.Д. и др. (Ред.). Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. – М.: Гриф и К., 2012. – 944 с.
8. Остренко К.С., Галочкин В.А., Галочкина В.П. Разработка теоретических основ и создание антистрессовых препаратов нового поколения // Сельскохозяйственная биология. – 2009. – № 2. – С. 43-54.
9. Остренко К.С., Громова О.А., Пронин А.В., Торшин И.Ю., Хаспеков Л.Г., Стельмашук Е.В., Александрова О.П., Галочкина В.П., Галочкин В.А. Нейропротекторный и адаптогенный эффекты аскорбата лития: исследования на *in vivo* моделях и *in vitro* // Проблемы биологии продуктивных животных. – 2017. – № 3. – С. 37-47.
10. Сидоров К.К. О классификации токсичности ядов при парэнтеральных способах введения. В кн.: Токсикология новых промышленных химических веществ, Вып. 13. – М.: Медгиз, 1973. – С. 47.
11. Хабриев Р.У. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. – М.: Медицина, 2005. – 832 с.
12. Baumgartner A., Pinna G., Hiedra L., Gaio U., Hessenius C., Campos-Barros A., Eravci M., Prengel H., Thoma R., Meinhold H. Effects of lithium and carbamazepine on thyroid hormone metabolism in rat brain // Neuropsychopharmacol. – 1997. – Vol. 16. – No. 1. – P. 25-41.
13. 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. – Vol. 36. – No. 1. – P. 32-44.
14. Draayer J.P., Grigoryan H.R., Sargsyan R. Sh., Ter-Grigoryan S.A. Systems and methods for investigation of living systems – US patent Application Publication, Pub. No. US 2007/0149866 A1 – Pub. Date: Jun. 28, 2007.
15. El-Balkhi S., Megarbane B., Poupon J., Baud F.J., Galliot-Guilley M. Lithium poisoning: is determination of the red blood cell lithium concentration useful // Clin. Toxicol. (Phila). – 2009. – Vol. 47. – No. 1. – P. 8-13.
16. Kandil E., Dackiw A.P., Alabbas H., Abdullah O., Tufaro A.P., Tufano R.P. A profile of patients with hyperparathyroidism undergoing lithium therapy for affective psychiatric disorders // Head Neck. – 2011 – Vol. 33. – No. 7. – P. 925-927.

17. Pallanti S., Quercioli L., Sood E., Hollander E. Lithium and valproate treatment of pathological gambling: a randomized single-blind study // *J. Clin. Psychiatry.* – 2002. – Vol. 63. – No.7. – P. 559-564.

REFERENCES

1. Andreeva N.I. [Methodological guidelines for the study of antidepressant activity of pharmacological agents]. In: *Rukovodstvo po eksperimental'nomu (doklinicheskomu) izucheniyu novykh farmakologicheskikh veshchestv* (Manual on experimental (preclinical) study of new pharmacological substances). Minzdrav RF: ZAO IIA Remedium Publ., 2000, P. 121-125.
2. Anokhin P.K. *Uzlovye voprosy teorii funktsional'nykh system* (The central questions of the theory of functional systems). Moscow: Nauka Publ., 1980, 197 p.
3. Balukova E.V. [Depression as a risk factor for somatic pathology]. *Psikhiatriya - Psychiatry.* 2008, 3: 36-43.
4. Baumgartner A., Pinna G., Hiedra L., Gaio U., Hassenius C., Campos-Barros A., Eravci M., Prengel H., Thoma R., Meinhold H. Effects of lithium and carbamazepine on thyroid hormone metabolism in rat brain. *Neuropsychopharmacol.* 1997, 16(1): 25-41.
5. Belen'kii M.D. *Elementy kolichestvennoi otsenki farmakologicheskogo effekta* (Elements of quantitative evaluation of the pharmacological effect). Leningrad: Medgiz Publ., 1963, 151 p.
6. Berezovskaya I.V. [Classification of chemicals by acute toxicity parameters for parenteral route of administration]. *Khimiko-farmatsevticheskii zhurnal - Chemical-Pharmaceutical Journal.* 2003, 37(3): 32-34.
7. 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.
8. Draayer J.P., Grigoryan H.R., Sargsyan R. Sh., Ter-Grigoryan S.A. *Systems and methods for investigation of living systems*: US patent Application Publication, Pub. No. US 2007/0149866 A1. – Pub. Date: Jun. 28, 2007.
9. El-Balkhi S., Megarbane B., Poupon J., Baud F.J., Galliot-Guilley M. Lithium poisoning: is determination of the red blood cell lithium concentration useful. *Clin. Toxicol. (Phila).* 2009, 47(1): 8-13
10. Kandil E., Dackiw A.P., Alabbas H., Abdullah O., Tufaro A.P., Tufano R.P. A profile of patients with hyperparathyroidism undergoing lithium therapy for affective psychiatric disorders. *Head Neck.* 2011, 33(7): 925-927.
11. Karkishchenko V.N., Kapanadze G.D., Den'gina S.E., Stankova N.V. [Development of a methodology for assessing the physical endurance of small laboratory animals for studying the adaptogenic activity of certain drugs]. *Biomeditsina - Biomedicine.* 2011, 1: 72-74.
12. Khabriev R.U. *Rukovodstvo po eksperimental'nomu (doklinicheskomu) izucheniyu novykh farmakologicheskikh veshchestv* (Manual on experimental (preclinical) study of new pharmacological substances). Moscow: Meditsina Publ., 2005, 832 p.
13. Mironova A.N., Bunatyan N.D. et al. (Eds). *Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv* (A guide to preclinical drug research.). Moscow: Grif i K. Publ., 2012, 944 p.
14. Ostrenko K.S., Galochkin V.A., Galochkina V.P. [The development of theoretical foundations and creation of anti-stress drugs of a new generation]. *Sel'skokhosaistvennaya biologiya - Agricultural Biology.* 2009, 2: 43-54.
15. Ostrenko K.S., Gromova O.A., Pronin A.V., Torshin I.Yu., Khaspekov L.G. Stel'mashuk E.V., Aleksandrova O.P., Galochkina V.P., Galochkin V.A. [Neuroprotective and adaptogenic effects of lithium ascorbate: studies in in vivo models and in vitro]. *Problemy biologii produktivnykh zhivotnykh - Problems of Productive Animal Biology.* 2017, 3: 37-47.
16. Pallanti S., Quercioli L., Sood E., Hollander E. Lithium and valproate treatment of pathological gambling: a randomized single-blind study. *J. Clin. Psychiatry.* 2002, 63(7): 559-564.
17. Sidorov K.K. [On the classification of toxicity of poisons with parenteral routes of administration.]. *Toksikologiya novykh promyshlennykh khimicheskikh veshchestv, Vyp. 13* (Toxicology of New Industrial Chemicals, Vol. 13). Moscow: Medgiz Publ., 1973, P. 47.

**Effects of using high doses of lithium ascorbate additive
on survivability and metabolism in Wistar rats**

¹Ostrenko K.S., ¹Galochkin V.A., ¹Galochkin V.P., ²Gromova O.A,
²Pronin A.V., ³Torshin I.Yu.

¹*Institute of Animal Physiology, Biochemistry and Nutrition, Borovsk, Kaluga oblast;*
²*Ivanovo State Medical Academy, Ivanovo;* ³*Moscow Institute of Physics and Technology
(State University), Dolgoprudny, Russian Federation*

ABSTRACT. The aim was to study the negative effects of lithium ascorbate (LA) on single-time and long-term oral administration for the management of stress conditions in laboratory animals, to determine toxic doses and to develop methods for reducing negative effects. Target organs affected by prolonged use of toxic doses and the effect of LA on metabolism were studied in Wistar rats. It was found that the LD50 of LA is 6.334 g/kg body weight. Substance refers to compounds of 5th toxicity class, i.e. practically non-toxic. The pathoanatomical picture of the fallen animals shows the symptoms of acute poisoning and the onset of death from cardiopulmonary insufficiency and atrophy of the excretory system. The use of LA in a dose of 1/3 LD50 (2.11 g/kg) had a moderately negative effect on rats. The coefficient of cumulation is 14.8, which indicates a low cumulative effect and low toxicity. With multiple doses of LA exceeding LD50 (subchronic toxicity), some of the experimental animals were adapted and maintained viability. Histological examination data indicate that against the background of the preservation of the general histostructure, the functional overstrain of the neuroendocrine apparatus and, to a lesser extent, the organs of excretion and reproduction occurred. Since the animals were killed 2 weeks after the end of the LA administration, during this period, a partial restoration of the functional activity of the brain, liver, kidneys, testes and ovaries appeared. This is indicated by moderate hyperplasia of the cellular elements of the proliferative zone of the adenohypophysis. Due to the individual reaction of animals to LA, the severity of the described changes in animals of the same group was somewhat different, while LA activates the neuroendocrine system more strongly in females than in males.

Keywords: biologically active substances, lithium ascorbate, Wistar rats, acute toxicity, subchronic toxicity

Problemy biologii produktivnykh zhivotnykh - Problems of Productive Animal Biology, 2017, 4: 65-80

Поступило в редакцию: 17.09.2017

Получено после доработки: 05.10.2017

Остренко Константин Сергеевич, к.б.н., докторант, тел. 8(910)916-66-58,
ostrenkoks@gmail.com

Галочкин Владимир Анатольевич, д.б.н., зав. лаб., т. 8(910)523-98-22;

Галочкина Валентина Петровна, д.б.н., т. 8(915)862-66-00;

Громова Ольга Алексеевна, д.м.н., проф., т. (4932) 41-65-25;

Пронин Артем Викторович, асп., т. (4932) 41-65-25. doctormchs1978@mail.ru;

Торшин Иван Юрьевич, к.ф.-м.н., доц., т. (499) 135-2489, (4932) 41-6525