

Морфофункциональные изменения в органах экспериментальных животных при применении фармацевтических композиций на основе низина

М. Н. Исакова¹✉, А. И. Белоусов¹, Л. И. Дроздова¹

¹ Уральский федеральный аграрный научно-исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук, Екатеринбург, Россия

✉ E-mail: Tmarya105@yandex.ru

Аннотация. Применение новых препаратов на высокопродуктивных животных невозможно без выявления допустимых последствий применения веществ, входящих в состав, на функциональное состояние отдельных органов, тканей и систем организма. В связи с этим **целью** нашего исследования было изучение влияния разработанных фармацевтических композиций на морфофункциональные параметры органов экспериментальных животных. **Методы.** В исследовании использовали 70 самок нелинейных белых лабораторных крыс, которым в течение 30 дней выпаивали фармацевтические композиции на основе низина в разных дозах. В ходе исследования использовали биохимические и гистологические методы. **Результаты.** Установлены значительные статистические выбросы по ряду биохимических показателей, которые не могут в полной мере говорить о наличии либо отсутствии негативного воздействия исследуемых композиций на функции паренхиматозных органов экспериментальных животных, на основании чего нами было проведено гистологическое исследование для обнаружения морфологических изменений на клеточном уровне. В опытной группе животных, где доза разработанных композиций составила 500 мг/кг, структура органов соответствовала анатомическим параметрам, патологические процессы не выявлены. Исследование органов животных, получавших разработанные композиции в дозе 750 мг/кг, выявило обратимые изменения компенсаторного характера в печени и селезенке. В третьей опытной группе, где доза исследуемых композиций составила 1000 мг/кг, зарегистрирован ряд патологических процессов, которые расценивали как обратимые патологические, однако установленные изменения, характерные для нарушения кровообращения в сосудах микроциркуляторного русла печени и почек, были отнесены к необратимым процессам, в результате чего доза характеризуется как критическая и не рекомендована для использования на высокопродуктивных животных. **Научная новизна.** Впервые изучены морфологическое и функциональное состояние органов лабораторных животных при применении новых фармацевтических композиций, в состав которых входят низин, глицеролаты кремния и бисглицеролаты бора.

Ключевые слова: биохимические маркеры, морфологическая структура, функциональные изменения, экспериментальные животные, лабораторные крысы, фармацевтические композиции, низин, глицеролаты кремния, бисглицеролаты бора.

Для цитирования: Исакова М. Н., Белоусов А. И., Дроздова Л. И. Морфофункциональные изменения в органах экспериментальных животных при применении фармацевтических композиций на основе низина // Аграрный вестник Урала. 2023. № 08 (237). С. 48–58. DOI: 10.32417/1997-4868-2023-237-08-48-58.

Дата поступления статьи: 24.03.2023, **дата рецензирования:** 13.04.2023, **дата принятия:** 11.05.2023.

Постановка проблемы (Introduction)

Одной из проблем животноводства во всем мире является значительный рост устойчивости возбудителей острой и хронической форм бактериальных инфекций к антимикробным препаратам [1, с. 237; 2, с. 10; 3, с. 9; 4; 5]. Развитие резистентности микроорганизмов к антибиотикам во многом определяет результативность ветеринарных мероприятий [6, с. 236; 7, с. 107; 8]. Одна из альтернатив применения антибиотикотерапии – использование вак-

цин, фитотерапии, нутрицевтиков, бактериофагов, фаговых лизинов, пробиотиков, а также бактериоцинов [9, с. 186; 10, с. 726–727; 11; 12]. В лаборатории органических материалов Института органического синтеза им. И. Я. Постовского УрО РАН (Россия, Екатеринбург) нами были разработаны лекарственные композиции, включающие в качестве действующего вещества бактериоцин-низин, глицеролаты кремния и бисглицеролаты бора, с возможностью применения в схемах терапии бак-

териальных заболеваний (в частности мастита) у высокопродуктивных коров. Результаты изучения антимикробной активности показали, что разработанные композиции оказывают антимикробное действие в отношении следующих штаммов микроорганизмов: *Escherichia coli*, *Salmonella abony*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella typhimurium*. Однако применение новых препаратов на высокопродуктивных животных невозможно без выявления допустимых последствий применения веществ, входящих в состав, на функциональное состояние отдельных органов, тканей и систем организма, которое оценивается путем доклинических исследований на лабораторных животных [13; 14]. В связи с этим цель нашей работы заключалась в определении морфофункциональных изменений в органах экспериментальных животных при применении различных доз новых фармацевтических композиций.

Методология и методы исследования (Methods)

Исследования проводили в отделе ветеринарной лабораторной диагностики с испытательной лабораторией, а также в лаборатории иммунологии и патобиохимии Уральского НИВИ – структурного подразделения УрФАНИЦ УрО РАН при поддержке гранта Российского научного фонда № 22-76-00009. Исследуемые фармацевтические композиции разработаны в лаборатории органических материалов Института органического синтеза им. И. Я. Постовского УрО РАН (Екатеринбург) и соответствовали следующему составу:

1. Глицеролаты кремния в 6-мольном избытке глицерина – 3,0 %, низин – 0,3 %, глицерин – 10 %, дистиллированная вода – до 100 %.

2. Глицеролаты кремния в 6-мольном избытке глицерина – 3,0 %, бисглицеролаты бора – 2,0 %, низин – 0,3 %, глицерин – 10 %, дистиллированная вода – до 100 %.

Синтез глицеролатов кремния представлял собой реакцию переэтерификации тетраэтоксисилана глицерином с выделением теоретического количества этанола и образованием смеси мономерного и олигомерных глицеролатов кремния с преобладанием мономера – тетракисглицеролата кремния, тетракис (2,3-дигидроксипропокси) силана. Бисглицеролаты бора получали этерификацией борной кислоты глицерином с последующим удалением воды в виде азеотропа с толуолом. В качестве источника низина использовали препарат NISAPLIN (Danisco, Великобритания).

Исследования проводили на самках нелинейных белых лабораторных крыс 8–9-недельного возраста с живой массой 180–190 г, которых разделили на контрольную и опытные группы ($n = 70$). Лабораторным животным разработанные композиции ежедневно в течение 30 дней выпаивали с водой в постоянной концентрации, при этом использовали

разную дозировку (1-я опытная группа – композиция в дозе 500 мг/кг; 2-я опытная группа – композиция в дозе 750 мг/кг; 3-я опытная группа – композиция в дозе 1000 мг/кг) для оценки обратимости возможных токсических эффектов.

Морфологические и функциональные особенности организма экспериментальных животных на фоне применения разработанных композиций оценивали с помощью биохимических и гистологических методов исследования. Биохимические исследования сыворотки крови проводили с применением кинетических, колориметрических и турбиметрических методов. Лабораторное оборудование: автоматический биохимический анализатор Chem Well-2910 Combi фирмы Awaveness Technology (США) с использованием стандартных наборов реактивов фирм Vital Diagnostics Spb (Россия), DIALAB GmbH (Австрия). Достоверность выполнения измерений подтверждена контрольными материалами, рекомендованными производителями реактивов. Определяли следующие специфические биохимические маркеры в сыворотке крови: общий белок, альбумины, глобулины, аспартат-аминотрансферазу (АСТ), мочевины, креатинин, глюкозу, щелочную фосфатазу, холестерин. Для гистологического исследования отбирали пробы печени, почек, селезенки, гипогастрального лимфатического узла, донной части желудка, двенадцатиперстной и поджелудочной желез, тимуса. Для изготовления препаратов материал иссекали на кусочки толщиной 3–5 мм, фиксировали в 10-процентном растворе нейтрального забуференного формалина, проводку осуществляли по стандартной методике (гистопроцессор карусельного типа Eprelia STP 120). После проводки кусочки заключали в парафин. Из парафиновых блоков изготавливали срезы толщиной 3 мкм (микротом – Microm HM450). Окраску проводили по стандартным методикам: депарафинизация, окрашивание в гематоксилине Карацци и эозине (10 : 2 мин.) с последующей очисткой в спиртах, просветлением в ксилоле и заключением в синтетическую смолу. Просмотр микропрепаратов осуществляли на микроскопе Olympus BX 43 (Olympus, Япония) с цифровой камерой ADF Professional 03 (ADF, США). Статистический анализ данных обрабатывали математически с помощью программы Statistica 10.0.

Результаты (Results)

Основные метаболические показатели (общий белок, альбумины, креатинин, мочевина, холестерин) животных контрольной группы, не получавших разработанных композиций, представлены в таблице 1.

Сравнительный анализ параметров биохимического профиля животных опытных групп за 30-дневный период скармливания разработанной композиции 1 в дозе 500 мг/голову и 1000 мг/голову путем

сравнения с животными контрольной группы не выявил выраженного негативного биологического эффекта на животных. У крыс, получавших исследуемую композицию в дозе 750 мг/кг, в крови определено повышение среднего значения активности щелочной фосфатазы до $316,50 \pm 82,48$ Ед/л, однако в группе животных наблюдалось большое стандартное отклонение по данному показателю за счет отдельных особей. Без учета разброса данных показатель щелочной фосфатазы по сравнению с контрольной группой находился на одном уровне и соответствовал физиологическим значениям [15; 16]. Зарегистрировано незначительное снижение содержания холестерина по сравнению с контрольной группой до уровня $1,33 \pm 0,15$ ммоль/л. Снижение уровня мочевины по истечении периода эксперимента установлено во всех группах животных, при этом максимальное снижение (на 1,3 и 1,9 ммоль/л) зарегистрировано в контрольной и первой опытной группах соответственно (таблица 2), на основании чего зарегистрированные изменения в некоторых метаболических параметрах не позволяют в полной мере оценить влияние разработанной композиции на метаболические изменения в органах.

Аналогичную ситуацию наблюдали в показателях биохимического профиля крыс получавших композицию 2. При применении дозы 500 мг/кг установлено незначительное снижение общего белка и альбуминов – $65,50 \pm 5,11$ г/л и $29,38 \pm 0,85$ г/л,

что на 6,6 % и 4,5 % соответственно ниже показателей у животных из контрольной группы. Похожая тенденция установлена в отношении параметров белкового обмена крыс, получавших композицию 2 в более высоких дозировках. Однако, учитывая значение данных показателей во всех группах животных до применения композиции 2 и разброс числовых данных, данное снижение не является статистически значимым [16]. При статистическом анализе биохимических показателей крови крыс, получавших композицию 2 в дозировках 750 мг/кг и 1000 мг/кг, установлен ряд значений, выделяющийся из общей выборки в таких показателях, как АСТ и щелочная фосфатаза, до $126,75 \pm 14,52$ Ед/л и $368,25 \pm 99,97$ Ед/л, $131,75 \pm 13,72$ Ед/л и $344,25 \pm 54,35^*$ Ед/л соответственно. На протяжении периода применения композиции 2 в дозе 750 мг/кг и 1000 мг/кг в опытных группах происходит снижение показателя мочевины по сравнению с данными перед опытом до $3,50 \pm 0,90$ ммоль/л и $2,63 \pm 1,14$ ммоль/л соответственно, однако данное явление наблюдается и в группе контрольных животных. При этом уровень снижения мочевины в сравнении со значениями перед опытным периодом находился в пределах $1,27$ ммоль/л для контрольной группы и $1,4$ ммоль/л и $0,87$ ммоль/л – для опытных групп по мере возрастания дозировки композиции 2 соответственно, что не является достоверным критерием для вывода о влиянии исследуемых композиций на данный показатель (таблица 3).

Таблица 1

Биохимические исследования сыворотки крови белых лабораторных крыс контрольной группы (n = 10)

Показатель	Перед опытом	Через 30 дней
Общий белок, г/л	$74,03 \pm 5,00$	$70,15 \pm 2,34$
Альбумины, г/л	$27,70 \pm 1,15$	$30,78 \pm 1,38$
Глобулины, г/л	$46,33 \pm 3,91$	$39,38 \pm 0,97$
АСТ, Ед/л	$121,33 \pm 25,72$	$110,50 \pm 13,48$
Глюкоза, ммоль/л	$3,47 \pm 0,81$	$3,75 \pm 0,65$
Креатинин, мкмоль/л	$45,00 \pm 12,80$	$38,45 \pm 16,19$
Мочевина, ммоль/л	$5,70 \pm 2,55$	$4,43 \pm 0,73$
Щелочная фосфатаза, Ед/л	$199,00 \pm 81,18$	$241,75 \pm 30,51$
Холестерин, ммоль/л	$1,67 \pm 0,49$	$1,84 \pm 0,58$

Table 1

Biochemical studies of blood serum of white laboratory rats of the control group (n = 10)

Indicator	Before the experience	After 30 days
Total protein, g/l	74.03 ± 5.00	70.15 ± 2.34
Albumin, g/l	27.70 ± 1.15	30.78 ± 1.38
Globulins, g/l	46.33 ± 3.91	39.38 ± 0.97
AST, Units/l	121.33 ± 25.72	110.50 ± 13.48
Glucose, mmol/l	3.47 ± 0.81	3.75 ± 0.65
Creatinine, mmol/l	45.00 ± 12.80	38.45 ± 16.19
Uric acid, mmol/l	5.70 ± 2.55	4.43 ± 0.73
Alkaline phosphatase, Units/l	199.00 ± 81.18	241.75 ± 30.51
Cholesterol, mmol/l	1.67 ± 0.49	1.84 ± 0.58

Таблица 2

Биохимические исследования сыворотки крови белых лабораторных крыс опытных групп, получавших разработанную композицию 1 в разных дозах ($n = 30$)

Показатель	Опытная группа 1		Опытная группа 2		Опытная группа 3	
	Перед опытом	Через 30 дней	Перед опытом	Через 30 дней	Перед опытом	Через 30 дней
Общий белок, г/л	74,60 ± 3,98	70,43 ± 5,94	80,00 ± 3,99	68,08 ± 0,35	72,53 ± 4,51	70,58 ± 3,63
Альбумины г/л	30,53 ± 1,70	28,80 ± 1,61	30,37 ± 2,95	31,38 ± 1,11	32,60 ± 0,61**	31,28 ± 1,79
Глобулины г/л	44,07 ± 2,74	39,13 ± 1,98	49,63 ± 1,63	36,70 ± 0,77*	39,93 ± 4,53	39,30 ± 2,09
АСТ, Ед/л	137,00 ± 34,12	130,25 ± 2,63*	118,00 ± 28,62	138,75 ± 9,22*	136,67 ± 4,04	104,50 ± 17,94
Глюкоза ммоль/л	2,60 ± 0,90	3,93 ± 0,61	2,03 ± 0,45	4,35 ± 0,75	2,83 ± 0,59	4,08 ± 0,90
Креатинин мкмоль/л	52,30 ± 9,90	51,33 ± 15,05	38,23 ± 13,66	41,08 ± 7,45	37,20 ± 6,39	50,65 ± 14,51
Мочевина ммоль/л	6,40 ± 1,15	4,50 ± 1,64	3,93 ± 1,88	3,23 ± 0,69	4,23 ± 0,81	3,45 ± 0,68
Щелочная фосфатаза Ед/л	191,33 ± 68,57	288,00 ± 95,43	169,67 ± 53,61	316,50 ± 82,48	193,67 ± 27,10	161,50 ± 9,68*
Холестерин ммоль/л	1,77 ± 1,07	1,78 ± 0,66	2,13 ± 0,23	1,33 ± 0,15*	1,87 ± 0,74	2,45 ± 0,33*

* – значимые критерии на уровне $p < 0,05$; ** – значимые критерии на уровне $p < 0,01$.

Table 2

Biochemical studies of blood serum of white laboratory rats of experimental groups receiving the developed composition 1 in different doses ($n = 30$)

Indicator	Experienced group 1		Experienced group 2		Experienced group 3	
	Before the experience	After 30 days	Before the experience	After 30 days	Before the experience	After 30 days
Total protein, g/l	74.60 ± 3.98	70.43 ± 5.94	80.00 ± 3.99	68.08 ± 0.35	72.53 ± 4.51	70.58 ± 3.63
Albumin, g/l	30.53 ± 1.70	28.80 ± 1.61	30.37 ± 2.95	31.38 ± 1.11	32.60 ± 0.61**	31.28 ± 1.79
Globulins, g/l	44.07 ± 2.74	39.13 ± 1.98	49.63 ± 1.63	36.70 ± 0.77*	39.93 ± 4.53	39.30 ± 2.09
AST, Units/l	137.00 ± 34.12	130.25 ± 2.63*	118.00 ± 28.62	138.75 ± 9.22*	136.67 ± 4.04	104.50 ± 17.94
Glucose, mmol/l	2.60 ± 0.90	3.93 ± 0.61	2.03 ± 0.45	4.35 ± 0.75	2.83 ± 0.59	4.08 ± 0.90
Creatinine, mmol/l	52.30 ± 9.90	51.33 ± 15.05	38.23 ± 13.66	41.08 ± 7.45	37.20 ± 6.39	50.65 ± 14.51
Uric acid, mmol/l	6.40 ± 1.15	4.50 ± 1.64	3.93 ± 1.88	3.23 ± 0.69	4.23 ± 0.81	3.45 ± 0.68
Alkaline phosphatase, Units/l	191.33 ± 68.57	288.00 ± 95.43	169.67 ± 53.61	316.50 ± 82.48	193.67 ± 27.10	161.50 ± 9.68*
Cholesterol, mmol/l	1.77 ± 1.07	1.78 ± 0.66	2.13 ± 0.23	1.33 ± 0.15*	1.87 ± 0.74	2.45 ± 0.33*

* – significant criteria at $p < 0,05$; ** – significant criteria at $p < 0,01$

На основании полученных результатов биохимических исследований для достоверного подтверждения отсутствия или наличия негативного воздействия исследуемых композиций на морфологическую структуру и функционирование паренхиматозных органов экспериментальных животных нами проведено гистологическое исследование. При изучении структуры паренхиматозных органов – печени, кишечника, поджелудочной железы, почки, селезенки и тимуса крыс контрольной группы – было выявлено, что структура органов соответствовала анатомическим параметрам, их

архитектоника не изменена, патологических процессов в изучаемых органах не было отмечено. Так, в печени структура долек и балочного строения была хорошо выражена, кровеносные сосуды как микроциркуляторного русла, так и входящие в состав триады, а также собирательные вены были умеренно кровенаполнены, имела место незначительная рассеянная полиморфноклеточная инфильтрация в межуточной соединительнотканной строме и незначительный периваскулярный отек. Из всех исследуемых органов у крыс контрольной группы в селезенке отмечены реакция лимфоидных

фолликулов и незначительная жировая метаплазия тимуса, что свидетельствовало о пониженном иммунном статусе исследуемых животных (рис. 1).

При испытании композиции 1 в дозе 500 мг/кг существенных отличительных изменений по сравнению с особями контрольной группы не отмечено. Патологические процессы отсутствовали, но имело место усиление катара кишечника как ответная реакция на введение чужеродной субстанции.

Аналогичные процессы установили и в селезенке: отмечена гиперплазия лимфоидных фолликулов, что является положительным моментом в ответной реакции органа иммунной системы, отвечающей как за клеточный, так и за гуморальный иммунитет. В печени установили зернистую дистрофию гепатоцитов, что свойственно этому органу при усилении белкового обмена (рис. 2).

Таблица 3
Биохимические исследования сыворотки крови белых лабораторных крыс опытных групп, получавших разработанную композицию 2 в разных дозах (n = 30)

Показатель	Опытная группа 1		Опытная группа 2		Опытная группа 3	
	Перед опытом	Через 30 дней	Перед опытом	Через 30 дней	Перед опытом	Через 30 дней
Общий белок, г/л	71,83 ± 5,77	65,50 ± 5,11	75,07 ± 1,90	65,78 ± 1,68*	74,13 ± 6,64	63,95 ± 2,65*
Альбумины, г/л	29,80 ± 0,46*	29,38 ± 0,85	31,43 ± 1,12*	31,43 ± 1,12*	31,23 ± 1,81*	29,20 ± 1,04
Глобулины, г/л	42,03 ± 5,32	36,13 ± 4,34	43,63 ± 1,95	36,20 ± 1,02**	42,90 ± 6,37	34,75 ± 1,97**
АСТ, Ед/л	132,33 ± 9,29	112,00 ± 16,63	130,33 ± 17,93	126,75 ± 14,52	119,67 ± 15,50	131,75 ± 13,72
Глюкоза, ммоль/л	2,67 ± 0,12	4,45 ± 0,53	2,97 ± 0,12	4,48 ± 0,34	2,90 ± 0,36	4,35 ± 0,37
Креатинин, мкмоль/л	36,53 ± 4,27	36,23 ± 1,53	38,90 ± 4,16	42,55 ± 17,30	31,37 ± 3,60	36,53 ± 8,61
Мочевина, ммоль/л	4,23 ± 0,35	4,40 ± 1,20	4,90 ± 0,50	3,50 ± 0,90	3,50 ± 0,85	2,63 ± 1,14*
Щелочная фосфатаза, Ед/л	160,67 ± 39,55	252,00 ± 83,79	193,33 ± 50,12	368,25 ± 99,97	220,67 ± 39,25	344,25 ± 54,35
Холестерин, ммоль/л	1,80 ± 0,00	1,65 ± 0,37	1,93 ± 0,23	2,00 ± 0,24	2,50 ± 0,46	1,68 ± 0,21

* – значимые критерии на уровне $p < 0,05$; ** – значимые критерии на уровне $p < 0,01$.

Table 3
Biochemical studies of blood serum of white laboratory rats of experimental groups receiving the developed composition 2 in different doses (n = 30)

Indicator	Experienced group 1		Experienced group 2		Experienced group 3	
	Before the experience	After 30 days	Before the experience	After 30 days	Before the experience	After 30 days
Total protein, g/l	71.83 ± 5.77	65.50 ± 5.11	75.07 ± 1.90	65.78 ± 1.68*	74.13 ± 6.64	63.95 ± 2.65*
Albumin, g/l	29.80 ± 0.46*	29.38 ± 0.85	31.43 ± 1.12*	31.43 ± 1.12*	31.23 ± 1.81*	29.20 ± 1.04
Globulins, g/l	42.03 ± 5.32	36.13 ± 4.34	43.63 ± 1.95	36.20 ± 1.02**	42.90 ± 6.37	34.75 ± 1.97**
AST, Units/l	132.33 ± 9.29	112.00 ± 16.63	130.33 ± 17.93	126.75 ± 14.52	119.67 ± 15.50	131.75 ± 13.72
Glucose, mmol/l	2.67 ± 0.12	4.45 ± 0.53	2.97 ± 0.12	4.48 ± 0.34	2.90 ± 0.36	4.35 ± 0.37
Creatinine, mmol/l	36.53 ± 4.27	36.23 ± 1.53	38.90 ± 4.16	42.55 ± 17.30	31.37 ± 3.60	36.53 ± 8.61
Uric acid, mmol/l	4.23 ± 0.35	4.40 ± 1.20	4.90 ± 0.50	3.50 ± 0.90	3.50 ± 0.85	2.63 ± 1.14*
Alkaline phosphatase, Units/l	160.67 ± 39.55	252.00 ± 83.79	193.33 ± 50.12	368.25 ± 99.97	220.67 ± 39.25	344.25 ± 54.35
Cholesterol, mmol/l	1.80 ± 0.00	1.65 ± 0.37	1.93 ± 0.23	2.00 ± 0.24	2.50 ± 0.46	1.68 ± 0.21

* – significant criteria at $p < 0,05$; ** – significant criteria at $p < 0,01$

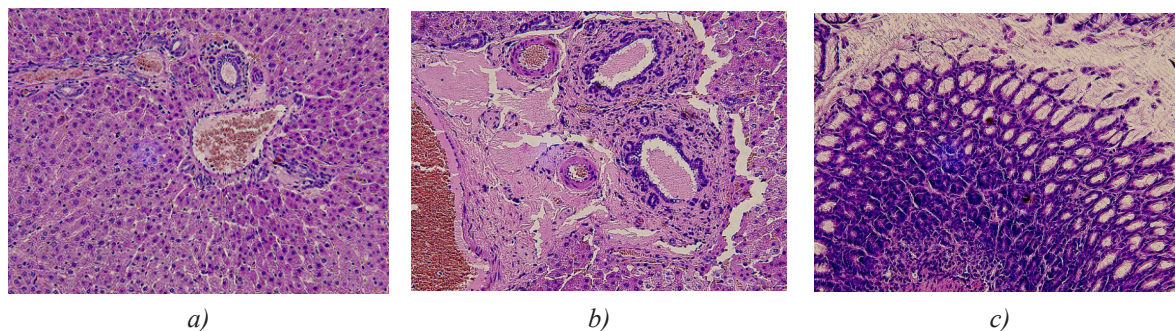


Рис. 1. Гистологическая структура органов крыс контрольной группы:
 а) умеренное кровенаполнение венозных сосудов триады печени,
 б) незначительный периваскулярный отек в печени крыс контрольной группы,
 в) незначительный катаральный энтерит в кишечнике крысы контрольной группы

Fig. 1. Histological structure of the organs of rats of the control group:
 a) moderate blood filling of the venous vessels of the liver triad,
 b) minor perivascular edema in the liver of rats of the control group,
 c) minor catarrhal enteritis in the intestines of rats of the control group

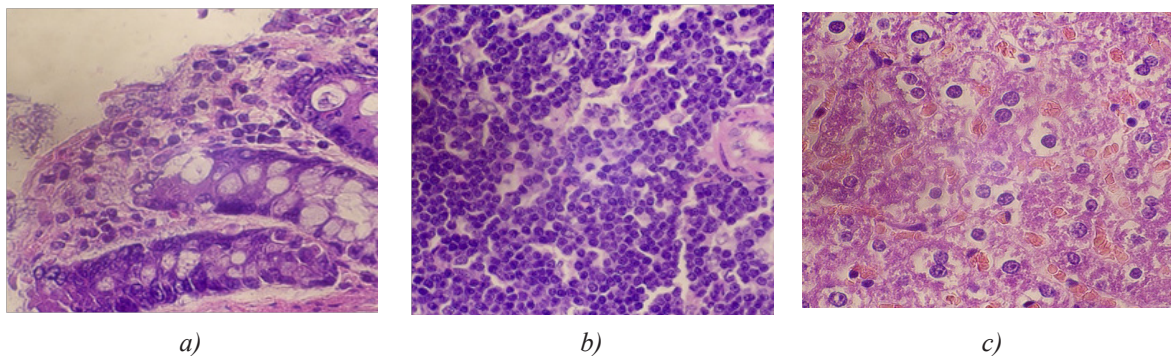


Рис. 2. Гистологическая структура органов крыс опытной группы, получавших композицию 1 в дозе 500 мг/кг:
 а) слизистый катар кишечника, б) гиперплазия фолликулов селезенки,
 в) зернистая дистрофия печени, двуядерные гепатоциты

Fig. 1. Histological structure of the organs of rats of the experimental group treated with composition 1 at a dose of 500 mg/kg:
 a) mucous catarrh of the intestine, b) hyperplasia of the spleen follicles,
 c) granular dystrophy of the liver, binuclear hepatocytes

Применение композиции 1 в дозе 750 мг/кг позволило установить морфологические изменения в кишечнике и паренхиматозных органах крыс. В печени животных выявили активизацию макрофагальной системы – звездчатых ретикулоэндотелиоцитов, появились двуядерные гепатоциты как признак активизации митоза и усиления регенераторных процессов в печени. Одновременно с этим в селезенке зарегистрировали активизацию лимфоидных фолликулов путем формирования в непосредственной близости от основных, это рассценивали как признак защитно-приспособительной реакции организма (рис. 3).

У животных, получавших композицию 1 в дозе 1000 мг/кг, отмечены более глубокие изменения, которые в некоторых случаях можно классифицировать как защитно-приспособительные процессы, а некоторые следует отнести к категории патологических. В кишечнике выявили усиление катарального воспаления с проявлением эозинофилии вследствие местного проявления аллергизации организма животного. В печени установили очаги островковой и межостровковой фазы цирроза, что наблюдает-

ся при нарушении белкового и жирового обмена. В почках зафиксировали воспалительный процесс в виде перигломерулярной полиморфноклеточной инфильтрации. В селезенке отметили расширение Т-зоны в фолликулах. Данные изменения в органах указывают на усиление клеточного иммунитета (рис. 4).

При изучении гистологических препаратов паренхиматозных органов крыс, получавших композицию 2 в дозе 500 мг/кг, не выявлены процессы, вызывающие нарушения в функционировании органов. Так, в кишечнике наблюдали воспалительный процесс в виде катара, что объясняется ответной реакцией органа на чужеродную субстанцию.

По мере увеличения дозы используемой композиции отмечали нарастание патологических процессов. Так, применение животным композиции 2 в дозе 750 мг/кг способствовало процессам активизации фолликулов в селезенке, эндокринных клеток в поджелудочной железе и клеток Купфера в печени. Зарегистрированные процессы носят компенсаторный характер и могут быть отнесены к обратимым (рис. 5).

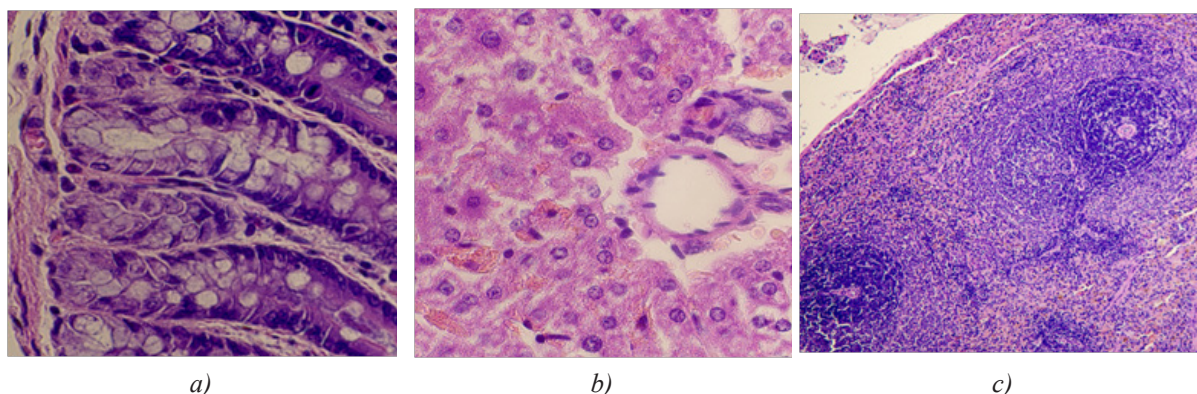


Рис. 3. Гистологическая структура органов крыс опытной группы, получавших композицию 1 в дозе 750 мг/кг: а) активный катар кишечника, б) активизация клеток Купфера (звездчатых ретикулоэндотелиоцитов печени), в) дополнительные лимфоидные фолликулы в селезенке

Fig. 3. Histological structure of the organs of rats of the experimental group treated with composition 1 at a dose of 750 mg/kg: a) active intestinal catarrh, b) activation of Kupffer cells (stellate reticuloendotheliocytes of the liver), c) additional lymphoid follicles in the spleen

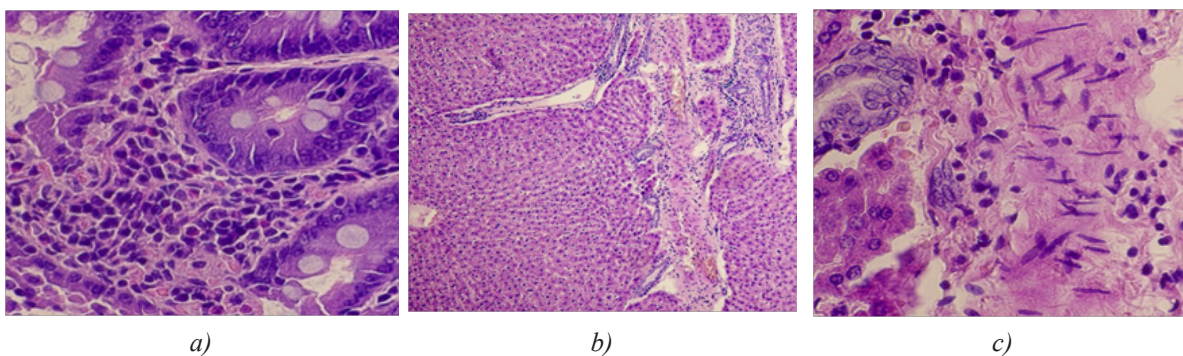


Рис. 4. Гистологическая структура органов крыс опытной группы, получавших композицию 1 в дозе 1000 мг/кг: а) катар кишечника с эозинофилией, б) фиброзные изменения в печени, в) очаги цирроза в печени

Fig. 4. Histological structure of the organs of rats of the experimental group treated with composition 1 at a dose of 1000 mg/kg: a) intestinal catarrh with eosinophilia, b) fibrotic changes in the liver, c) foci of cirrhosis in the liver

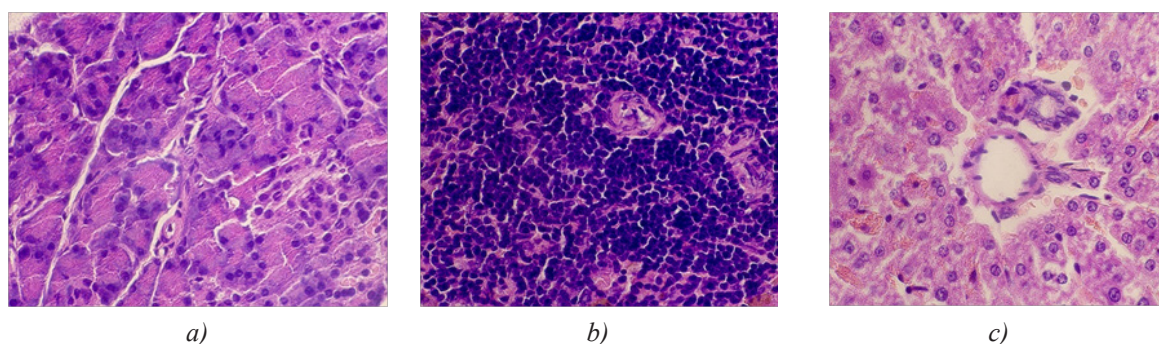


Рис. 5. Гистологическая картина процессов активизации в органах лабораторных крыс опытной группы, получавших композицию 2 в дозе 750 мг/кг:

а) поджелудочная железа, б) фолликулы селезенки, в) клетки Купфера

Fig. 5. Histological picture of the processes of activation in the organs of laboratory rats of the experimental group treated with composition 2 at a dose of 750 mg/kg: a) pancreas, b) follicles of the spleen, c) Kupffer cells

Наиболее значимыми изменениями в морфологических процессах отличались животные в группе, получавшей максимальную дозу (1000 мг/кг) композиции 2. В печени наблюдали микронекрозы и нарушение балочного строения. В почках регистрировали увеличение мочевого пространства клубочков и белковые цилиндры в просвете канальцев.

В кишечнике на фоне катара установили обширные поля десквамации эпителия ворсинок (рис. 6). Во всех изучаемых паренхиматозных органах также отметили усиление пролиферативной реакции соединительнотканной стромы и стенки кровеносных сосудов.

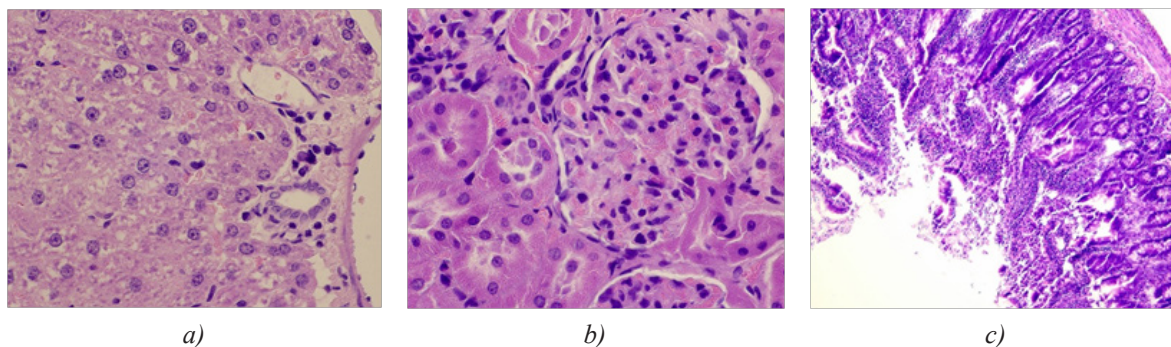


Рис. 6. Гистологическая структура органов крыс опытной группы, получавших композицию 2 в дозе 1000 мг/кг: а) нарушение балочного строения, микронекрозы в печени, б) интракапиллярный гломерулит, белковые цилиндры в просвете канальцев, в) катарально-десквамативный энтерит

Fig. 6. Histological structure of the organs of rats of the experimental group treated with composition 2 at a dose of 1000 mg/kg:

a) violation of the beam structure, micronecrosis in the liver, b) intracapillary glomerulitis, protein casts in the lumen of the tubules, c) catarrhal desquamation enteritis

Обсуждение и выводы (Discussion and Conclusion)

Выявленные изменения при биохимическом исследовании крови экспериментальных животных, отражающие функциональные показатели органов, с достоверностью не могут быть связаны с применением разработанных композиций, в результате чего влияние фармацевтических композиций на функциональные, а также морфологические особенности в органах оценивали с помощью гистологического исследования паренхиматозных органов, которое установило, что в контрольной и опытной группах животных, где доза разработанных композиций составила 500 мг/кг, не выявлено процессов, опасных для жизнедеятельности животных, структура органов соответствовала анатомическим параметрам. Исследование органов животных, получавших разработанные композиции в дозе 750 мг/кг, выявило обратимые изменения компенсаторного характера:

например, в печени и селезенке, указывающие на процессы регенерации и защитно-приспособительные реакции организма. В третьей опытной группе, где доза исследуемых композиций была 1000 мг/кг, зарегистрирован ряд патологических изменений в кишечнике, печени, почках и селезенке лабораторных крыс, процессы расценивали как обратимые патологические, стоящие на грани с необратимыми: изменения, характерные для нарушения кровообращения в сосудах микроциркуляторного русла в печени и почках, что может привести к декомпенсации, в результате чего доза характеризуется как критическая.

Благодарности (Acknowledgements)

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-76-00009, <https://rscf.ru/project/22-76-00009>.

Библиографический список

1. Зубарева В. Д., Соколова О. В., Безбородова Н. А., Шкуратова И. А., Кривоногова А. С., Бытов М. В. Молекулярные механизмы и генетические детерминанты устойчивости к антибактериальным препаратам у микроорганизмов (обзор) // Сельскохозяйственная биология. 2022. Т. 57. № 2. С. 237–256.
2. Соколова О. В., Шкуратова И. А., Безбородова Н. А., Кожуховская В. В. Антибиотикорезистентность микробиоты молочной железы и репродуктивного тракта коров // Ветеринария. 2021. № 9. С. 10–15.
3. Кривоногова А. С., Соколова О. В., Безбородова Н. А., Моисеева К. В., Исаева А. Г. Динамика антимикробной резистентности энтерококков на молочно-товарной ферме // Ветеринария Кубани. 2021. № 4. С. 9–12.
4. Ahmad-Mansour N., Loubet P., Pouget C., Dunyach-Remy C., Sotto A., Lavigne J. P., Molle V. Staphylococcus aureus Toxins: An Update on Their Pathogenic Properties and Potential Treatments // Toxins (Basel). 2021. No. 13 (10). Article number 677. DOI: 10.3390/toxins13100677.
5. Kawada-Matsuo M., Le M. N., Komatsuzawa H. Resistance in Staphylococcus aureus: Various Mechanisms and the Association with Pathogenicity // Genes (Basel). 2021. No. 12 (10). Article number 1527. DOI: 10.3390/genes12101527.
6. Amr E., Mohamed K. Bovine mastitis prevention and control in the post-antibiotic era // Tropical Animal Health and Production. 2021. Vol. 31. No. 53 (2). Article number: 236. DOI: 10.1007/s11250-021-02680-9.
7. Sharun K., Dhama K., Tiwari R., Gugjoo M. B., Iqbal Yatoo M., Patel S. K., Pathak M., Karthik K., Khurana S. K., Singh R., Puvvala B., Singh R., Singh K. P., Chaicumpa W. Advances in therapeutic and managemental approaches of bovine mastitis: a comprehensive review // Veterinary Quarterly. 2021. No. 41 (1). Pp. 107–136. DOI: 10.1080/01652176.2021.1882713.

8. Sokolova O. V., Bezborodova N. A., Bytov M. V., Zubareva V. D., Shkuratova I. A., Zaitseva O. S., Martynov N. A. Comparison of the microbiota of the reproductive tract and the mammary gland of cows with and without inflammation using 16S RRNA sequencing // International Transaction Journal of Engineering, Management and Applied Sciences and Technologies. 2022. Vol. 13. No. 6. Article number 13A6C. DOI: 10.14456/ITJEMAST.2022.108.
9. Lopes T. S., Fontoura P. S., Oliveira A., Rizzo F. A., Silveira S., Streck A. F. Use of plant extracts and essential oils in the control of bovine mastitis // Research in Veterinary Science. 2020. No. 131. Pp. 186–193. DOI: 10.1016/j.rvsc.2020.04.025.
10. Heilbronner S., Krismer B., Brötz-Oesterhelt H., Peschel A. The microbiome-shaping roles of bacteriocins // Nature Reviews Microbiology. 2021. No. 19 (11). Pp. 726–739. DOI: 10.1038/s41579-021-00569-w.
11. Vázquez R., García E., García P. Phage Lysins for Fighting Bacterial Respiratory Infections: A New Generation of Antimicrobials // Frontiers in Immunology. Microbial Immunology. 2018. Vol. 9. DOI: 10.3389/fimmu.2018.02252.
12. Khan F., Singh P., Joshi A. S., Tabassum N., Jeong G. J., Bamunuarachchi N. I., Mijakovic I., Kim Y. M. Multiple potential strategies for the application nisin and derivatives // Critical Reviews in Microbiology. 2022. DOI: 10.1080/1040841X.2022.2112650.
13. Arisov M. V., Urazaev D. N., Kachanova E. O., Pavlova A. S. General principles of conducting preclinical toxicology studies of antiparasitic drugs for veterinary use // IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. 2020. No. 548 (4). Article number 042042. DOI: 10.1088/1755-1315/548/4/042042.
14. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / Н. Д. Бунятян, А. Н. Васильев, О. Л. Верстакова, М. В. Журавлева, В. К. Лепяхин, Н. В. Коробов, В. А. Меркулов, С. Н. Орехов, И. В. Сакаева, Д. Б. Утешев, А. Н. Яворский Москва: Гриф и К, 2012. 944 с.
15. Войтенко Н. Г., Макарова М. Н., Зуева А. А. Вариабельность биохимических показателей крови и установление референсных интервалов в доклинических исследованиях. Сообщение 1: крысы // Лабораторные животные для научных исследований. 2020. № 1. С. 47–53. DOI: 10.29296/2618723X-2020-01-06.
16. Сорокина А. В., Алексеева С. В., Еремина Н. В., Дурнев А. Д. Опыт проведения клинико-лабораторных исследований в доклинической оценке безопасности лекарств (часть 2: биохимические и патоморфологические исследования) // Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения 2019. Т. 9. № 4. С. 272–279.

Об авторах:

Мария Николаевна Исакова¹, кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник, ORCID 0000-0001-7130-5627, AuthorID 749131; +7 912 212-60-25, Tmarya105@yandex.ru
 Александр Иванович Белоусов¹, доктор ветеринарных наук, старший научный сотрудник, ORCID 0000-0002-7838-4126, AuthorID 678443; +7 (343) 257-20-44, white-knight@mail.ru
 Людмила Ивановна Дроздова¹, доктор ветеринарных наук, профессор, ведущий научный сотрудник, ORCID 0000-0001-8134-4355, AuthorID 599715; +7 (343) 257-20-44, drozdova43@mail.ru

¹ Уральский федеральный аграрный научно-исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук, Екатеринбург, Россия

Morphofunctional changes in the organs of experimental animals when using pharmaceutical compositions based on nizin

M. N. Isakova¹✉, A. I. Belousov¹, L. I. Drozdova¹

¹Ural Federal Agrarian Scientific Research Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Ekaterinburg, Russia

✉E-mail: Tmarya105@yandex.ru

Abstract. The use of new drugs on highly productive animals is impossible without identifying the permissible consequences of the use of substances included in the composition on the functional state of individual organs, tissues and body systems. In this regard, **the purpose** of our study was to study the effect of the developed pharmaceutical compositions on the morphofunctional parameters of the organs of experimental animals. **Methods.** The study used 70 female non-linear white laboratory rats, which were given pharmaceutical compositions based

on nizin in different doses for 30 days. During the study, biochemical and histological methods were used. **Results.** Significant statistical outliers have been established for a number of biochemical indicators that cannot fully indicate the presence or absence of a negative effect of the studied compositions on the functions of parenchymal organs of experimental animals, on the basis of which we conducted a histological study to detect morphological changes at the cellular level. In the experimental group of animals, where the dose of the developed compositions was 500 mg/kg, the structure of the organs corresponded to anatomical parameters, pathological processes were not detected. A study of the organs of animals receiving the developed compositions at a dose of 750 mg/kg revealed reversible compensatory changes in the liver and spleen. In the third experimental group, where the dose of the studied compositions was 1000 mg/kg, a number of pathological processes were registered, which were regarded as reversible pathological, however, the established changes characteristic of circulatory disorders in the vessels of the microcirculatory bed of the liver and kidneys were attributed to irreversible processes, as a result of which the dose is characterized as critical and is not recommended for use on highly productive animals. **Scientific novelty.** The morphological and functional state of organs of laboratory animals was studied for the first time when using new pharmaceutical compositions, which include nisin, silicon glycerolates and boron bisglycerolates.

Keywords: biochemical markers, morphological structure, functional changes, experimental animals, laboratory rats, pharmaceutical compositions, nisin, silicon glycerolates, boron bisglycerolates.

For citation: Isakova M. N., Belousov A. I., Drozdova L. I. Morfofunktsional'nye izmeneniya v organakh eksperimental'nykh zhivotnykh pri primeneniі farmatsevticheskikh kompozitsiy na osnove nizina [Morphofunctional changes in the organs of experimental animals when using pharmaceutical compositions based on nizin] // Agrarian Bulletin of the Urals. 2023. No. 08 (237). Pp. 48–58. DOI: 10.32417/1997-4868-2023-237-08-48-58. (In Russian.)

Date of paper submission: 24.03.2023, **date of review:** 13.04.2023, **date of acceptance:** 11.05.2023.

References

- Zubareva V. D., Sokolova O. V., Bezborodova N. A., Shkuratova I. A., Krivonogova A. S., Bytov M. V. Molekulyarnye mekhanizmy i geneticheskie determinanty ustoychivosti k antibakterial'nym preparatam u mikroorganizmov (obzor) [Molecular mechanisms and genetic determinants of resistance to antibacterial drugs in microorganisms (review)] // Sel'skokhozyaystvennaya biologiya. 2022. Vol. 57. No. 2. Pp. 237–256. (In Russian.)
- Sokolova O. V., Shkuratova I. A., Bezborodova N. A., Kozhukhovskaya V. V. Antibiotikorezistentnost' mikrobioty molochnoy zhelezy i reproduktivnogo trakta korov [Antibiotic resistance of the microbiota of the mammary gland and the reproductive tract of cows] // Veterinariya. 2021. No. 9. Pp. 10–15. (In Russian.)
- Krivonogova A. S., Sokolova O. V., Bezborodova N. A., Moiseeva K. V., Isaeva A. G. Dinamika antimikrobnoy rezistentnosti enterokokkov na molochno-tovarnoy ferme [Dynamics of antimicrobial resistance of enterococci on a dairy farm] // Veterinariya Kubani. 2021. No. 4. Pp. 9–12. (In Russian.)
- Ahmad-Mansour N., Loubet P., Pouget C., Dunyach-Remy C., Sotto A., Lavigne J. P., Molle V. Staphylococcus aureus Toxins: An Update on Their Pathogenic Properties and Potential Treatments // Toxins (Basel). 2021. No. 13 (10). Article number 677. DOI: 10.3390/toxins13100677.
- Kawada-Matsuo M., Le M. N., Komatsuzawa H. Resistance in Staphylococcus aureus: Various Mechanisms and the Association with Pathogenicity // Genes (Basel). 2021. No. 12 (10). Article number 1527. DOI: 10.3390/genes12101527.
- Amr E., Mohamed K. Bovine mastitis prevention and control in the post-antibiotic era // Tropical Animal Health and Production. 2021. Vol. 31. No. 53 (2). Article number: 236. DOI: 10.1007/s11250-021-02680-9.
- Sharun K., Dhama K., Tiwari R., Gugjoo M. B., Iqbal Yattoo M., Patel S. K., Pathak M., Karthik K., Khurana S. K., Singh R., Puvvala B., Singh R., Singh K. P., Chaicumpa W. Advances in therapeutic and management approaches of bovine mastitis: a comprehensive review // Veterinary Quarterly. 2021. No. 41 (1). Pp. 107–136. DOI: 10.1080/01652176.2021.1882713.
- Sokolova O. V., Bezborodova N. A., Bytov M. V., Zubareva V. D., Shkuratova I. A., Zaitseva O. S., Martynov N. A. Comparison of the microbiota of the reproductive tract and the mammary gland of cows with and without inflammation using 16S rRNA sequencing // International Transaction Journal of Engineering, Management and Applied Sciences and Technologies. 2022. Vol. 13. No. 6. Article number 13A6C. DOI: 10.14456/ITJEMAST.2022.108.
- Lopes T. S., Fontoura P. S., Oliveira A., Rizzo F. A., Silveira S., Streck A. F. Use of plant extracts and essential oils in the control of bovine mastitis // Research in Veterinary Science. 2020. No. 131. Pp. 186–193. DOI: 10.1016/j.rvsc.2020.04.025.

10. Heilbronner S., Krismer B., Brötz-Oesterhelt H., Peschel A. The microbiome-shaping roles of bacteriocins // *Nature Reviews Microbiology*. 2021. No. 19 (11). Pp. 726–739. DOI: 10.1038/s41579-021-00569-w.
11. Vázquez R., García E., García P. Phage Lysins for Fighting Bacterial Respiratory Infections: A New Generation of Antimicrobials // *Frontiers in Immunology. Microbial Immunology*. 2018. Vol. 9. DOI: 10.3389/fimmu.2018.02252.
12. Khan F., Singh P., Joshi A. S., Tabassum N., Jeong G. J., Bamunuarachchi N. I., Mijakovic I., Kim Y. M. Multiple potential strategies for the application nisin and derivatives // *Critical Reviews in Microbiology*. 2022. DOI: 10.1080/1040841X.2022.2112650.
13. Arisov M. V., Urazaev D. N., Kachanova E. O., Pavlova A. S. General principles of conducting preclinical toxicology studies of antiparasitic drugs for veterinary use // *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 2020. No. 548 (4). Article number 042042. DOI: 10.1088/1755-1315/548/4/042042.
14. Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv [Guidelines for conducting preclinical studies of medicines] / N. D. Bunyatyan, A. N. Vasil'ev, O. L. Verstakova, M. V. Zhuravleva, V. K. Lepakhin, N. V. Korobov, V. A. Merkulov, S. N. Orekhov, I. V. Sakaeva, D. B. Uteshev, A. N. Yavorskiy. Moscow: Grif i K, 2012. 944 p. (In Russian.)
15. Voytenko N. G., Makarova M. N., Zueva A. A. Variabel'nost' biokhimicheskikh pokazateley krovi i ustanovlenie referensnykh intervalov v doklinicheskikh issledovaniyakh. Soobshchenie 1: krysy [Variability of blood biochemical parameters and establishment of reference intervals in preclinical studies. Message 1: rats] // *Laboratory Animals for Science*. 2020. No. 1. Pp. 47–53. (In Russian.)
16. Sorokina A. V., Alekseeva S. V., Eremina N. V., Durnev A. D. Opyt provedeniya kliniko-laboratornykh issledovaniy v doklinicheskoy otsenke bezopasnosti lekarstv (chast' 2: biokhimicheskie i patomorfologicheskie issledovaniya) [Experience of clinical and laboratory studies in preclinical assessment of drug safety (part 2: biochemical and pathomorphological studies)] // *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya*. 2019. Vol. 9. No. 4. Pp. 272–279. (In Russian.)

Authors' information:

Maria N. Isakova¹, candidate of veterinary sciences, senior researcher, ORCID 0000-0001-7130-5627, AuthorID 749131; +7 912 212-60-25, Tmarya105@yandex.ru

Aleksandr I. Belousov¹, doctor of veterinary sciences, senior researcher, ORCID 0000-0002-7838-4126, AuthorID 678443; +7 (343) 257-20-44, white-knight@mail.ru

Lyudmila I. Drozdova¹, doctor of veterinary sciences, professor, leading researcher, ORCID 0000-0001-8134-4355, AuthorID 599715; +7 (343) 257-20-44, drozdova43@mail.ru

¹ Ural Federal Agrarian Scientific Research Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Ekaterinburg, Russia