

Р.М. Ахмадуллин, Л.Р. Валиуллин

**ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА
АНТИОКСИДАНТА «БИСФЕНОЛ-5»
(3,3',5,5'-ТЕТРА-ТРЕТ-БУТИЛ-
4,4'-ДИГИДРОКСИБИФЕНИЛ)
И ПЕРСПЕКТИВЫ ЕГО ПРИМЕНЕНИЯ
В СЕЛЬСКОМ ХОЗЯЙСТВЕ**

**Казань
2026**

УДК 619:615.9:636.087.7

ББК П853,0

А95

Рецензенты:

С.Г. Козырев, доктор биологических наук, профессор,
директор Северо-Кавказского научно-исследовательского института
горного и предгорного сельского хозяйства –
филиала ФГБУН ФНЦ «Владикавказский научный центр РАН»;

Д.Д. Хайруллин, доктор ветеринарных наук, доцент,
профессор кафедры физиологии, фармакологии и токсикологии
института «Казанская академия ветеринарной медицины
имени Н.Э. Баумана» ФГБОУ ВО Казанский ГАУ

Ахмадуллин Р.М., Валиуллин Л.Р.

А95 Токсикологическая оценка антиоксиданта «Бисфенол-5»
(3,3',5,5'-тетра-*трет*-бутил-4,4'-дигидроксифенил) и перспек-
тивы его применения в сельском хозяйстве / Р.М. Ахмадуллин,
Л.Р. Валиуллин. — Казань: Ихлас, 2026. — 152 с.

ISBN 978-5-6055786-0-4

В монографии рассмотрены вопросы применения антиоксидантов в сельском хозяйстве и кормопроизводстве, их роль в сохранении качества кормов и повышении устойчивости животных к окислительному стрессу. Особое внимание уделено антиоксиданту «Бисфенол-5» (3,3',5,5'-тетра-*трет*-бутил-4,4'-дигидроксифенил) как перспективному соединению для использования в составе кормовых добавок. Обобщены сведения о его химико-биологических свойствах и представлены результаты экспериментальных исследований, посвященных оценке токсикологического профиля препарата на лабораторных животных. Освещены данные по изучению острой и хронической токсичности, влияния на репродуктивную функцию, алергизирующих, мутагенных и кумулятивных свойств, а также результаты длительных наблюдений, направленных на оценку канцерогенного потенциала соединения.

Монография представляет интерес для специалистов в области токсикологии, ветеринарии, кормопроизводства, биохимии и сельскохозяйственной науки.

ISBN 978-5-6055786-0-4

© Ахмадуллин Р.М.,
Валиуллин Л.Р., 2026

© Ихлас, оформление, 2026

СОДЕРЖАНИЕ

Введение.....	5
1. Применение антиоксидантов в сельскохозяйственных предприятиях	9
1.1. Роль антиоксидантов в сохранении качества кормов.....	9
1.2. Механизм действия антиоксидантов	10
1.3. Классификация антиоксидантов	11
1.4. Использование антиоксидантов в комбикормовой промышленности.....	12
1.5. Антиоксиданты, применяемые в кормовой промышленности	12
1.6. Значение антиоксидантов для физиологии животных.....	13
1.7. Перспективы применения новых антиоксидантов.....	14
2. Исследование токсикологических свойств препарата «Бисфенол-5» на животных.....	16
2.1. Исследование острой токсичности препарата «Бисфенол-5» на мышах.....	16
2.2. Исследование хронической токсичности препарата «Бисфенол-5» на мышах.....	20
2.3. Исследование острой токсичности препарата «Бисфенол-5» на кроликах	28
2.4. Исследование хронической токсичности препарата «Бисфенол-5» на кроликах	31
2.4.1. Интегральные исследования при длительном внутрижелудочном введении препарата «Бисфенол-5» кроликам	31
2.4.2. Гематологические, биохимические и иммунологические исследования крови при длительном внутрижелудочном введении кроликам препарата «Бисфенол-5»	32
2.4.3. Сравнительный анализ морфологии органов кроликов при длительном внутрижелудочном введении препарата «Бисфенол-5»	43
2.5. Исследование репродуктивной токсичности препарата «Бисфенол-5» на крысах.....	69
2.5.1. Оценка эмбриотоксического действия препарата «Бисфенол-5» на крысах.....	69
2.5.2. Исследование развития потомства самок крыс, получавших препарат «Бисфенол-5».....	73

3. Исследование алергизирующих и мутагенных свойств препарата «Бисфенол-5» на животных.....	79
3.1. Исследование местно-раздражающего действия препарата «Бисфенол-5» на кроликах	79
3.2. Изучение алергизирующих свойств препарата «Бисфенол-5» на животных.....	83
3.2.1. Оценка анафилактической активности в реакции общей анафилаксии препарата «Бисфенол-5» на морских свинках	83
3.2.2. Изучение сенсibiliзирующего действия препарата «Бисфенол-5» на морских свинках и кроликах.....	85
3.3. Исследование мутагенных свойств препарата «Бисфенол-5» на крысах.....	95
3.4. Изучение кумулятивных свойств препарата «Бисфенол-5» на крысах.....	97
4. Исследование канцерогенного потенциала препарата «Бисфенол-5» при длительном введении лабораторным животным.....	103
4.1. Оценка морфофункционального состояния лабораторных животных при применении препарата «Бисфенол-5».....	103
4.2. Оценка канцерогенных свойств препарата «Бисфенол-5» при введении крысам в течение двух лет	115
4.2.1. Оценка патологоанатомической картины внутренних органов лабораторных животных при применении препарата «Бисфенол-5»	115
4.2.2. Оценка гистологической картины внутренних органов лабораторных животных при применении препарата «Бисфенол-5».....	126

ВВЕДЕНИЕ

Одной из важнейших задач современного сельского хозяйства и ветеринарии является обеспечение сельскохозяйственных животных и птицы полноценными и сбалансированными кормами. Рациональное кормление играет ключевую роль в поддержании нормального физиологического состояния животных и является основой эффективного ведения животноводства.

Уровень обеспеченности животных основными питательными веществами оказывает существенное влияние на их здоровье, воспроизводительную способность, продуктивность и качество получаемой продукции. От полноценности рациона зависят показатели роста и развития молодняка, интенсивность обменных процессов, устойчивость животных к заболеваниям и эффективность использования кормовых ресурсов.

В современных условиях развития агропромышленного комплекса особое значение приобретает повышение эффективности использования кормов и обеспечение их стабильного качества при хранении и транспортировке. При производстве комбикормов широко используются различные биологически активные добавки, витаминные и минеральные комплексы, а также вещества, способствующие сохранению питательной ценности кормовых компонентов. Специалисты в области кормления сельскохозяйственных животных постоянно совершенствуют рецептуры комбикормов, внедряют новые кормовые добавки и технологии их применения, что позволяет повышать продуктивность животных и экономическую эффективность сельскохозяйственного производства.

Полноценность комбикормов определяется оптимальным содержанием белков, жиров, углеводов, витаминов, микро- и макроэлементов, а также других биологически активных веществ. Однако многие компоненты кормов, прежде всего липиды и жирорастворимые витамины, подвержены окислительной деструкции под воздействием кислорода воздуха, света, влаги и повышенной температуры. Процессы автоокисления приводят к образованию перекисных соединений, альдегидов и кетонов, которые снижают питательную ценность кормов, ухудшают их органолептические свойства и могут оказывать неблагоприятное воздействие на организм животных. Накопление продуктов перекисного окисления липидов сопровождается нарушением обмена

веществ, снижением продуктивности и ухудшением общего физиологического состояния животных.

Для предотвращения указанных процессов в кормопроизводстве широко применяются антиоксиданты (антиокислители, ингибиторы окисления) – химические соединения, способные предотвращать или значительно замедлять процессы окисления органических веществ. Использование антиоксидантов позволяет стабилизировать жиры и жиросодержащие компоненты кормов, предотвращать разрушение витаминов и других биологически активных веществ, а также увеличивать сроки хранения комбикормов. Введение антиоксидантов в состав кормов способствует сохранению их биологической ценности и повышению эффективности кормления сельскохозяйственных животных.

Антиоксиданты широко применяются не только в кормопроизводстве, но и в различных отраслях промышленности – пищевой, химической, фармацевтической и нефтехимической. Среди соединений, обладающих антиоксидантной активностью, значительное место занимают пространственно затруднённые фенолы, характеризующиеся высокой эффективностью ингибирования процессов свободнорадикального окисления. Данные соединения способны прерывать цепные реакции перекисного окисления липидов и тем самым предотвращать разрушение биологически важных компонентов.

Одним из перспективных представителей данной группы является «Бисфенол-5» (3,3',5,5'-тетра-*трет*-бутил-4,4'-дигидроксифенил), обладающий выраженной антиоксидантной активностью. По данным ряда исследований, «Бисфенол-5» проявляет высокую эффективность ингибирования процессов свободнорадикального окисления. Благодаря своим физико-химическим и антиоксидантным свойствам «Бисфенол-5» находит применение в различных областях промышленности. Он используется в качестве стабилизатора каучуков, пластмасс, минеральных и синтетических масел, а также применяется для предотвращения окислительной деструкции различных органических соединений. Кроме того, «Бисфенол-5» может служить исходным соединением для синтеза различных производных бифенильного ряда, используемых при получении антиоксидантов, стабилизаторов полимеров и других функциональных материалов.

По данным многочисленных исследований, «Бисфенол-5» относится к соединениям с относительно низкой токсичностью. Экспериментальные исследования показали, что при определённых условиях

применения он не оказывает выраженного тератогенного и мутагенного действия, не влияет отрицательно на репродуктивную функцию животных и не вызывает значительных нарушений гемопоэза или морфологических изменений внутренних органов. Благодаря своим антиоксидантным свойствам данное соединение привлекает внимание исследователей и в области медицины, где рассматривается возможность его применения для профилактики и коррекции состояний, сопровождающихся развитием окислительного стресса.

В последние годы были получены данные о дополнительных биологических эффектах «Бисфенол-5». Установлено, что соединение способно ингибировать карбоангидразу II – цитозольный фермент эритроцитов (hCA II), участвующий в регуляции кислотно-щелочного равновесия и транспорте диоксида углерода в организме. Кроме того, показано влияние «Бисфенол-5» на регуляторные механизмы патогенных микроорганизмов. В частности, выявлено, что он способен блокировать ДНК-связывающую активность белка-регулятора транскрипции MgrA у бактерии *Staphylococcus aureus*. При этом подавляется экспрессия α -токсина, стимулируемая данным регулятором, и изменяется транскрипция гена белка A. Экспериментальные исследования на моделях инфекционного процесса показали, что воздействие «Бисфенол-5» может приводить к снижению вирулентности указанного микроорганизма.

Несмотря на наличие значительного количества данных о химических и биологических свойствах «Бисфенол-5», вопросы его безопасности при длительном применении остаются недостаточно изученными. Особое значение имеет комплексная оценка токсикологических характеристик данного соединения, включающая изучение острой и хронической токсичности, влияния на репродуктивную функцию, а также оценку возможных аллергенных, мутагенных и канцерогенных эффектов. Проведение таких исследований является необходимым этапом при разработке и внедрении новых биологически активных веществ и кормовых добавок.

В связи с этим представляет научный и практический интерес всестороннее экспериментальное изучение токсикологических свойств препарата «Бисфенол-5» и оценка его биологической безопасности при применении у лабораторных животных.

Целью настоящей работы является комплексное исследование токсикологических свойств препарата «Бисфенол-5» и оценка его по-

тенциальной безопасности при длительном воздействии на организм животных.

В монографии рассматриваются вопросы применения антиоксидантов в сельском хозяйстве и их роли в обеспечении стабильности кормов. Представлены результаты экспериментальных исследований острой и хронической токсичности препарата «Бисфенол-5» на лабораторных животных, а также данные по изучению его репродуктивной токсичности. Отдельные разделы посвящены исследованию алергизирующих, мутагенных и кумулятивных свойств соединения. Кроме того, приведены результаты длительных экспериментов, направленных на оценку канцерогенного потенциала препарата «Бисфенол-5» при хроническом воздействии.

1. ПРИМЕНЕНИЕ АНТИОКСИДАНТОВ В СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ПРЕДПРИЯТИЯХ

1.1. РОЛЬ АНТИОКСИДАНТОВ В СОХРАНЕНИИ КАЧЕСТВА КОРМОВ

Современное сельскохозяйственное производство характеризуется интенсивным развитием технологий кормления сельскохозяйственных животных и птицы. Основной задачей данных технологий является повышение продуктивности животных, улучшение качества продукции животноводства и обеспечение устойчивого функционирования агропромышленного комплекса. Важным фактором, определяющим эффективность кормления, является сохранение питательной ценности кормов в процессе их производства, транспортировки и хранения.

Кормовые смеси, используемые в животноводстве и птицеводстве, включают разнообразные компоненты растительного и животного происхождения. Среди них значительное место занимают зерновые культуры, масличные культуры и продукты их переработки, кормовые жиры, витаминные и минеральные добавки. Многие из этих компонентов содержат значительное количество липидов, которые подвержены окислительной деструкции.

Окислительные процессы в кормах происходят под воздействием кислорода воздуха, света, повышенной температуры, влаги и каталитического влияния некоторых металлов. Наиболее интенсивно эти процессы протекают в липидных фракциях кормов. В результате перекисного окисления липидов образуются различные продукты распада – перекиси, альдегиды, кетоны и другие соединения, которые не только снижают питательную ценность кормов, но и могут оказывать токсическое воздействие на организм животных.

Развитие процессов окисления сопровождается разрушением жирных кислот, снижением содержания незаменимых жирных кислот, а также разрушением жирорастворимых витаминов, таких как витамин А, витамин D и витамин Е. В результате ухудшаются биологические свойства кормов, снижается их усвояемость и эффективность использования питательных веществ организмом животных.

Наиболее интенсивно процессы окисления протекают в комбикормах, содержащих растительные масла, животные жиры, рыбную муку, мясокостную муку и другие компоненты, богатые липидами. При длительном хранении таких кормов без применения стабилизирующих добавок происходит прогоркание жиров, сопровождающееся ухудшением вкусовых качеств кормов и снижением их поедаемости животными.

В связи с этим одной из важнейших задач кормопроизводства является предотвращение процессов окислительной деструкции компонентов кормов. Для решения данной задачи широко применяются антиоксиданты — вещества, способные замедлять или полностью подавлять реакции свободнорадикального окисления.

Применение антиоксидантов позволяет стабилизировать липидные компоненты кормов, предотвратить разрушение витаминов и сохранить питательную ценность кормовых смесей в течение длительного времени.

1.2. МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ АНТИОКСИДАНТОВ

Антиоксиданты представляют собой химические соединения, способные ингибировать процессы окисления органических веществ. Основой их действия является способность взаимодействовать со свободными радикалами и прерывать цепные реакции перекисного окисления липидов.

Перекисное окисление липидов представляет собой сложный многостадийный процесс, включающий три основные стадии:

- инициация,
- развитие цепной реакции,
- обрыв цепной реакции.

На стадии инициации происходит образование свободных радикалов липидов под воздействием различных факторов, таких как кислород, свет или повышенная температура. На стадии развития цепной реакции свободные радикалы взаимодействуют с молекулами кислорода, образуя перекисные радикалы, которые, в свою очередь, взаимодействуют с другими молекулами липидов, вызывая дальнейшее распространение реакции.

Антиоксиданты способны прерывать данные цепные реакции, взаимодействуя со свободными радикалами и превращая их в ста-

бильные соединения. При этом сами антиоксиданты превращаются в относительно устойчивые радикальные формы, которые не способны продолжать цепную реакцию.

Таким образом, антиоксиданты выполняют функцию ингибиторов свободнорадикальных процессов, предотвращая разрушение липидов и других биологически активных компонентов кормов.

1.3. КЛАССИФИКАЦИЯ АНТИОКСИДАНТОВ

Антиоксиданты, применяемые в сельском хозяйстве и кормовой промышленности, условно подразделяются на две основные группы:

- природные антиоксиданты;
- синтетические антиоксиданты.

Природные антиоксиданты

К природным антиоксидантам относятся вещества, содержащиеся в растительных и животных тканях и участвующие в защите клеток от окислительных повреждений. Наиболее известными природными антиоксидантами являются:

- токоферолы (витамин E),
- аскорбиновая кислота (витамин C),
- каротиноиды,
- флавоноиды.

Эти вещества обладают выраженными антиоксидантными свойствами и играют важную роль в поддержании антиоксидантной системы организма животных. Однако природные антиоксиданты обладают ограниченной устойчивостью к воздействию внешних факторов и часто разрушаются при длительном хранении кормов.

Синтетические антиоксиданты

Синтетические антиоксиданты характеризуются более высокой химической стабильностью и эффективностью. Они широко применяются в кормовой промышленности для стабилизации жиров, масел и витаминных добавок.

Наиболее распространёнными синтетическими антиоксидантами являются:

- бутилгидрокситолуол (ВНТ, ионол);
- бутилгидроксианизол (ВНА);
- этоксихин;
- пропилгаллат;
- пространственно затруднённые фенолы.

Указанные соединения обладают высокой способностью ингибировать процессы свободнорадикального окисления и обеспечивают длительную стабильность кормовых компонентов.

1.4. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ АНТИОКСИДАНТОВ В КОМБИКОРМОВОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ

В комбикормовой промышленности антиоксиданты применяются для стабилизации различных кормовых компонентов, прежде всего жиров и масел. Жиры являются важным источником энергии для сельскохозяйственных животных и птицы, однако они наиболее подвержены процессам окисления.

Добавление антиоксидантов позволяет значительно замедлить процессы прогоркания жиров и увеличить сроки хранения кормовых смесей.

Антиоксиданты широко используются при производстве:

- комбикормов;
- премиксов;
- белково-витаминно-минеральных добавок;
- кормовых жиров;
- витаминных препаратов.

Особенно важную роль антиоксиданты играют при производстве премиксов, содержащих жирорастворимые витамины. В отсутствие антиоксидантов витамины А, D и E быстро разрушаются под воздействием кислорода воздуха.

1.5. АНТИОКСИДАНТЫ, ПРИМЕНЯЕМЫЕ В КОРМОВОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ

В настоящее время в кормовой промышленности используется широкий спектр антиоксидантов. Наиболее распространённые антиоксиданты представлены в табл. 2.5.1.

Таблица 2.5.1

Антиоксиданты, применяемые в кормовой промышленности

Антиоксидант	Химический класс	Основное назначение	Особенности
Токоферолы	природные фенольные соединения	стабилизация жиров и витаминов	природный антиоксидант
Аскорбиновая кислота	водорастворимый витамин	защита клеток от окислительного стресса	используется в витаминных добавках
ВНТ (ионол)	пространственно затруднённый фенол	стабилизация жиров и масел	высокая эффективность
ВНА	фенольный антиоксидант	предотвращение окисления липидов	устойчив к температуре
Этоксихин	хинолиновое соединение	стабилизация кормовых жиров	широко применяется в комбикормах
Пропилгаллат	производное галловой кислоты	стабилизация масел	часто используется в смеси антиоксидантов

1.6. ЗНАЧЕНИЕ АНТИОКСИДАНТОВ ДЛЯ ФИЗИОЛОГИИ ЖИВОТНЫХ

Антиоксиданты оказывают положительное влияние не только на сохранность кормов, но и на физиологическое состояние животных. В организме животных постоянно происходят процессы образования свободных радикалов, которые могут повреждать клеточные структуры.

При интенсивном выращивании сельскохозяйственных животных уровень окислительного стресса значительно возрастает. Это связано с высокими темпами обмена веществ, воздействием стрессовых факторов и интенсивными технологиями содержания.

Использование антиоксидантов способствует:

- снижению интенсивности перекисного окисления липидов;

- защите клеточных мембран;
- повышению иммунной резистентности организма;
- улучшению роста и продуктивности животных.

1.7. ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ НОВЫХ АНТИОКСИДАНТОВ

В последние десятилетия значительное внимание исследователей уделяется разработке и изучению новых антиоксидантных соединений, обладающих высокой эффективностью ингибирования процессов свободнорадикального окисления и одновременно характеризующихся низкой токсичностью. Это обусловлено необходимостью обеспечения стабильности кормовых компонентов, предотвращения окислительной деструкции биологически активных веществ и повышения эффективности использования кормов в животноводстве.

Среди антиоксидантных соединений особый интерес представляют вещества класса пространственно затруднённых фенолов, которые отличаются высокой химической устойчивостью, выраженной способностью ингибировать цепные реакции перекисного окисления липидов и длительным стабилизирующим действием. Благодаря этим свойствам данные соединения широко используются в различных отраслях промышленности, включая производство полимерных материалов, масел, жиров и других органических соединений, подверженных окислительной деструкции.

Одним из перспективных представителей данной группы соединений является «Бисфенол-5», обладающий выраженной антиоксидантной активностью. Его химическая структура обеспечивает высокую способность ингибировать свободнорадикальные процессы и стабилизировать органические соединения, подверженные окислению. Указанные свойства определяют научный и практический интерес к данному соединению как потенциальному антиоксиданту, который может быть использован в различных областях промышленности, включая сельское хозяйство и кормопроизводство.

Вместе с тем внедрение новых антиоксидантных соединений в практику сельскохозяйственного производства требует обязательной и всесторонней оценки их биологической безопасности. Любое химическое соединение, предназначенное для использования в составе кормов или кормовых добавок, должно быть тщательно исследовано с

точки зрения возможного токсического воздействия на организм животных. Особое значение имеет изучение влияния таких соединений на основные физиологические системы организма, включая кровяную, иммунную и репродуктивную системы.

В связи с этим особое значение приобретает проведение комплексных токсикологических исследований, направленных на оценку острой и хронической токсичности исследуемых соединений, их возможного влияния на репродуктивную функцию, а также изучение потенциальных мутагенных, аллергенных и канцерогенных эффектов при длительном воздействии на организм животных.

Комплексная токсикологическая оценка новых антиоксидантных соединений является необходимым этапом их научного обоснования и последующего внедрения в практику сельскохозяйственного производства. Результаты таких исследований позволяют определить допустимые уровни применения соединений, оценить их безопасность для животных и обеспечить научно обоснованный подход к использованию данных веществ в кормовой промышленности.

В связи с перспективностью применения «Бисфенол-5» в качестве антиоксидантного соединения особую актуальность приобретает экспериментальное изучение его токсикологических свойств и биологического действия на организм животных.

В следующем разделе монографии представлены результаты экспериментальных исследований, направленных на всестороннюю оценку токсикологических характеристик данного соединения.

2. ИССЛЕДОВАНИЕ ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ КОРМОВОЙ ДОБАВКИ «БИСФЕНОЛ-5» НА ЖИВОТНЫХ

2.1. ИССЛЕДОВАНИЕ ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ КОРМОВОЙ ДОБАВКИ «БИСФЕНОЛ-5» НА МЫШАХ

Объект исследования

Кормовая добавка «Бисфенол-5» предназначена для нормализации обмена веществ, повышения интенсивности роста и улучшения мясных качеств у сельскохозяйственной птицы, свиней и молодняка крупного рогатого скота.

В 1 кг кормовой добавки «Бисфенол-5» содержится:

- 3,3',5,5'-тетра-*трет*-бутил-4,4'-дигидроксифенил – не менее 99,29 %

Вспомогательные компоненты: 3,3',5,5'-тетра-*трет*-бутилдифенохинон – от 0 до 0,2 %;

2,6-ди-*трет*-бутилфенол – от 0 до 0,01 %; этиловый спирт – от 0 до 0,1 %; хлорид натрия – от 0 до 0,4 %.

Характеристики кормовой добавки и показатели ее безопасности (при наличии): содержание токсичных элементов мг/кг: мышьяк – 2,9, свинец – 6,7, кадмий – 0,038, ртуть – менее предела чувствительности метода (менее 0,01); радионуклидов Бк/кг: стронций-90 – 750, цезий-137 – 150; содержание влаги – не более 0,9%.

Серия/номер партии: № 012023, дата выпуска: 11.01.2023 г., срок хранения – 36 месяцев, 3 опытных образца по 200 г, расфасованы в полиэтиленовые пакеты.

Заказчик гарантирует качество представленного образца кормовой добавки. Паспорт качества на испытуемый препарат предоставляется Заказчиком.

Изучение токсических свойств кормовой добавки является неотъемлемой частью ее разработки и необходимо для оценки ее безопасности. Основное действующее вещество: 3,3',5,5'-тетра-*трет*-бутил-

4,4'-дигидроксибифенил – является фенольным жирорастворимым антиоксидантом, обладает стабилизирующим действием, за счет данных свойств применяется для стабилизации каучуков, пластмасс, смазочных масел. Согласно данным, представленным в проекте инструкции, при добавлении 3,3',5,5'-тетра-*трет*-бутил-4,4'-дигидроксибифенила в корма для животных, повышается ценность рациона, за счёт антиоксидантных свойств и ингибирования перекисного окисления липидов, приводя к активации обменных процессов. Обладает антиоксидантным действием, задерживает перекисное окисление липидов, нормализует обменные процессы, повышает естественную резистентность организма и продуктивность животных. Контрольный препарат: вазелиновое масло.

Оценка острой токсичности при однократном внутрижелудочном введении

Цель исследования – оценка острой токсичности и определение класса опасности при внутрижелудочном введении кормовой добавки в дозе 5000 мг/кг в соответствии с рекомендациями ГОСТ 32296-2013.

Опыт по оценке острой токсичности проводили в формате острого эксперимента при однократном внутрижелудочном введении с последующим наблюдением за состоянием опытных животных в течение 14 суток.

Содержание животных

Животных содержали в виварии согласно руководству по содержанию и уходу за лабораторными животными и на стандартном рационе [8,9].

При проведении исследований животных содержали в поликарбонатных клетках. В качестве подстила у мышей использовали древесные опилки. В течение всего опытного периода мыши получали стандартный комбикорм для лабораторных животных (мышей, крыс, хомяков) (ГЖ-120_152 ПРЕМИУМ, поставщик – ООО «Лабораторкорм») из расчета 8 г на 20 г веса. Вода для питья представляла собой питьевую воду [10], которую давали *ad libitum* из стандартных поилок.

Животных содержали в контролируемых условиях: температура воздуха – 20–24 °С, относительная влажность – 45–65 %.

Температуру и влажность воздуха контролировали в каждом помещении ежедневно и показания документируют. Освещение – естественно-искусственное (12 ч свет/12 ч темнота).

Распределение животных на группы

Подбор животных для эксперимента проводили по принципу аналогов. Количество животных, используемых в исследовании, достаточно для регистрации изучаемых эффектов и статистической обработки данных.

Идентификация животных

Каждое животное имело отчетливо детектируемую метку (раствором фукорцина). На клетку наклеивали этикетку с указанием названия опыта, его продолжительности, номера группы, количества животных в группе.

Подготовка опытного образца к введению/нанесению

При исследовании острой и хронической токсичности при внутрижелудочном введении кормовую добавку смешивали с вазелиновым маслом в объеме, равном 0,2 мл (расчет объема растворителя проводился из максимального объема, который возможно ввести в желудок мыши, на каждую голову индивидуально).

Результаты изучения острой токсичности кормовой добавки «Бисфенол-5» на белых мышах представлены в табл. 2.1.1.

Таблица 2.1.1

Острая токсичность кормовой добавки «Бисфенол-5» при однократном в/ж введении белым мышам

Доза, мг/кг	5000
Эффект, пало/всего	0/5

При внутрижелудочном введении кормовой добавки в дозе 5000 мг/кг летальных эффектов не зарегистрировано. Признаки ин-

токсикации не наблюдались. Введение кормовой добавки не привело к значимым нарушениям общего состояния и поведения животных. Во все дни наблюдения общее состояние и поведение опытных животных соответствовало норме. Наблюдался прирост средней массы тела мышей (табл. 2.1.2).

Таблица 2.1.2

**Индивидуальный прирост массы тела животных
при проведении опыта оценки острой токсичности
при внутривентриальном введении кормовой
добавки «Бисфенол-5»**

Вещество, доза	Номера животных	Дни наблюдения, масса, г					
		1	2	7	11	14	
Кормовая добавка «Бисфенол-5»	5000, мг/кг	1	23,5	23,3	23,7	23,3	23,7
		2	21,1	21,8	21,7	22,8	23,6
		3	23,4	23,5	23,3	23,3	22,7
		4	30,8	30,5	29,9	32,5	31,3
		5	28,5	29,5	29,6	30,1	31,1
		Среднее по группе	25,5±4,0	25,7±4,0	25,6±3,8	26,4±4,6	26,5±4,3
	Номера животных	Дни наблюдения, приросты массы тела, г					
			прирост на 2-й день	прирост на 7-й день	прирост на 11-й день	прирост на 14-й день	
		1	-0,2	0,2	-0,2	0,2	
		2	0,7	0,6	1,7	2,5	
		3	0,1	-0,1	-0,1	-0,7	
		4	-0,3	-0,9	1,7	0,5	
		5	1,0	1,1	1,6	2,6	
Среднее по группе	0,3±0,6	0,2±0,8	0,9±1,0	1,0±1,5			

Ввиду отсутствия гибели животных определить LD_{50} кормовой добавки при в/ж введении беспородным белым мышам не представляется возможным; LD_{50} превышает 5000 мг/кг.

Анализируя динамику прироста массы тела животных на второй день эксперимента, после внутривентриального введения кормовой до-

бавки в дозе 5000 мг/кг, средний показатель массы животных увеличился на 0,3 г. За 14-й день наблюдений прирост средней массы тела мышей составил 1,0 г, относительно исходного веса.

Выводы по результатам изучения острой токсичности кормовой добавки «Бисфенол-5»

Проведенные экспериментальные исследования показали, что кормовая добавка «Бисфенол-5» при однократном пероральном введении мышам не приводит к гибели животных. Уровни летальной дозы кормовой добавки «Бисфенол-5» для беспородных белых мышей при в/ж введении находятся выше 5000 мг/кг.

Таким образом, на основании наблюдений за экспериментальными животными в период опыта и после введения установлено, что кормовая добавка «Бисфенол-5» относится к 5 категории острой токсичности – практически нетоксичным веществам (по Системе классификации опасности и маркировки химической продукции (СГС); Hodge H., *Clinical Toxicology of Commercial Products. Acute Poisoning*. Ed. IV, Baltimore, 1975; Сидоров К.К., 1973). Состояние животных, переживших острый эксперимент, свидетельствует о хорошей переносимости и безопасности кормовой добавки.

В соответствии с ГОСТ 32296-2013 [7], при значении LD_{50} при внутрижелудочном введении более 5000 мг/кг вещество относят к 5 категории острой токсичности (малоопасные вещества).

2.2. ИССЛЕДОВАНИЕ ХРОНИЧЕСКОЙ ТОКСИЧНОСТИ ПРЕПАРАТА «БИСФЕНОЛ-5» НА МЫШАХ

Для определения показателей хронической токсичности кормовой добавки «Бисфенол-5». Кормовую добавку вводили внутрижелудочно, ежедневно, в течение 90 дней.

Было сформировано 5 групп по 10 голов в каждой (4 группы – опытные, 1 – контрольная). Информация о группах и испытанных дозах представлена в табл. 2.2.1.

Перед введением каждое животное взвешивали и рассчитывали индивидуальную дозу кормовой добавки.

Животным контрольной группы вводили вазелиновое масло в объеме 0,2 мл на голову (максимально возможный объем для внутрижелудочного введения).

Таблица 2.2.1

Группы и дозы

I группа	II группа	III группа	IV группа	V группа
Кормовая добавка «Бисфенол-5» 500 мг/кг	Кормовая добавка «Бисфенол-5» 500 мг/кг	Кормовая добавка «Бисфенол-5» 1000 мг/кг	Кормовая добавка «Бисфенол-5» 1000 мг/кг	Вазелиновое масло. Контроль

Убой первой и третьей группы животных, а также половину (5 голов) животных контрольной группы проводили на 91-й день эксперимента. У животных отбирали кровь для проведения биохимического исследования крови. Проводили патологоанатомическое исследование, отбирали органы для определения массовых коэффициентов.

Оставшихся животных умерщвляли после периода восстановления (в течение 10 дней) для оценки обратимости токсических эффектов. В течение восстановительного периода животных взвешивали, по окончании периода восстановления отбирали кровь для биохимического исследования, животных умерщвляли гуманным способом (декапитацией), отбирали и взвешивали внутренние органы для определения их коэффициентов.

Результаты исследования хронической токсичности

На протяжении 90 дней выраженных клинических признаков интоксикации не отмечалось. Регистрировалась гибель одного животного в опытной группе, получавших КД в дозе 1000 мг/кг на 67 день опыта. По результатам патологоанатомического вскрытия смерть наступила в результате острой сердечно-легочной недостаточности.

Результаты средней массы тела мышей и среднего прироста массы по группам представлены в табл. 2.2.2–2.2.3.

На протяжении опыта, животные опытных и контрольной групп набирали массу тела. Прирост средней массы тела мышей в опытных группах был ниже относительно прироста средних масс тел в контрольной группе, однако, различия статистически недостоверны ($p \geq 0,05$). Максимальный прирост средней массы тела в опытных группах наблюдался на 101 день опыта, после периода восстановления.

Результаты определения средних биохимических показателей крови мышей на 91 и 101 дни опыта указаны в табл. 2.2.4.

Таблица 2.2.2

Средняя масса тела мышей на разные дни опыта, г

День исследования	1	7	10	14	20	30	40	50	60	70	80	91	101
	доза 1000 мг/кг												
Средняя масса тел	25,0	25,2	25,4	25,6	25,7	26,2	26,6	26,7	27,2	27,7	27,8	27,8	30,0
СО	2,2	2,1	2,3	2,6	2,4	3,0	2,9	3,2	3,1	2,9	3,3	3,2	2,7
доза 500 мг/кг													
Средняя масса тел	25,3	25,0	25,1	25,6	25,7	26,4	27,0	27,5	28,1	28,2	28,6	28,6	29,6
СО	2,0	1,9	1,9	2,2	2,1	2,6	2,3	2,6	2,8	2,7	2,8	3,1	3,9
контроль													
Средняя масса тел	25,1	25,0	25,1	25,6	26,3	27,1	27,9	27,9	28,8	29,4	29,3	29,5	29,5
СО	1,8	2,1	1,9	1,9	1,9	1,7	2,2	2,2	2,4	2,5	2,3	2,3	2,4

Таблица 2.2.3

Приrost средней массы тела мышей относительно первого дня опыта, г

День исследования	доза 1000 мг/кг											
	7	10	14	20	30	40	50	60	70	80	91	101
Приrost средней массы тела	0,2	0,4	0,6	0,7	1,1	1,6	1,7	2,2	2,5	2,7	2,7	4,7
СО	0,8	1,1	1,3	1,4	2,1	2,5	2,8	2,8	3,0	2,9	3,0	2,3
доза 500 мг/кг												
Приrost средней массы тела	-0,3	-0,2	-0,2	0,4	1,1	1,7	2,2	2,9	3,0	3,3	3,4	4,5
СО	0,8	1,0	1,0	1,6	2,0	2,0	2,2	2,4	2,4	2,5	2,8	2,8
контроль												
Приrost средней массы тела	0,0	0,0	0,6	1,2	2,1	2,9	2,9	3,8	4,4	4,2	4,4	5,3
СО	0,8	0,9	1,2	1,3	1,2	1,3	1,8	1,9	1,9	1,7	1,8	1,5

Таблица 2.2.4

**Средние биохимические показатели гемоглобина крови мышей
после 90-дневного введения на 91 и 101 дни опыта**

Показатель	1000 мг/кг		500 мг/кг		Контроль	
	91 сут	101 сут	91 сут	101 сут	91 сут	101 сут
	Общий белок, г/л	70,8±3,3*	70,7±7,0	68,3±6,0*	71,3±2,5	63,3±1,8
Общий билирубин, мкмоль/л	1,9±0,9	1,4±0,4	1,5±0,6	1,3±0,3	1,4±0,3	1,0±0,5
Прямой билирубин, мкмоль/л	0,5±0,2	0,5±0,1	0,4±0,2	0,4±0,1	0,4±0,1	0,4±0,1
АСТ, ЕД/л	570,1±144,4	759,8±362,6	717,7±130,9	668,7±129,8	576,0±69,7	667,7±117,3
АЛТ, ЕД/л	83,2±16,2	100,6±37,9	92,6±12,6	105,0±13,5	80,6±13,3	112,6±20,3
Щелочная фосфатаза (ЩФ), ЕД/л	63,6±18,3	56,5±20,9	63,8±17,0	66,0±11,1	61,9±14,9	95,9±41,9
ДХЭ, ЕД/л	1955,0±487,7	2215,0±493,2	2189,6±418,1	2199,2±354,4	2170,9±257,1	2318,6±269,1
Креатинин, мкмоль/л	28,6±7,0	25,4±2,1	30,4±5,0	24,8±1,5	26,6±1,8	23,2±1,3
Мочевина, ммоль/л	6,3±0,6	7,6±1,3	6,2±1,2	7,5±0,8	6,6±0,7	7,4±1,4
Глюкоза, ммоль/л	8,7±2,5	8,9±1,6	10,3±1,5	9,6±1,2	10,0±1,2	9,1±1,6
Холестерин, ммоль/л	1,9±0,3	2,0±0,3	2,0±0,4	2,2±0,5	1,9±0,4	2,2±0,6
Триглицериды, ммоль/л	1,2±0,3	1,0±0,1	1,4±0,3	1,0±0,3	1,2±0,2	1,2±0,3

Согласно данным табл. 3.2.4, при биохимическом исследовании крови животных установлены статистически достоверные различия между группами. Так, на 91-й день опыта отмечено повышение содержания общего белка в обеих опытных группах, а также увеличение уровня АСТ в группе, получавшей кормовую добавку в дозе 500 мг/кг. На 101-й день опыта установлено повышение уровня креатинина в опытной группе, получавшей кормовую добавку в дозе 1000 мг/кг, по сравнению с контролем.

В табл. 2.2.5 приведены результаты определения массовых коэффициентов внутренних органов подопытных мышей.

При анализе массовых коэффициентов внутренних органов также отмечены отдельные статистически значимые изменения. На 91-й день опыта в группе животных, получавших кормовую добавку в дозе 1000 мг/кг, наблюдалось снижение массового коэффициента печени и почек по сравнению с контрольной группой. При этом выявленные изменения не выходили за пределы физиологической нормы и не свидетельствовали о неблагоприятном влиянии кормовой добавки на организм животных.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В исследовании острой токсичности установлен класс токсичности препарата. При однократном внутрижелудочном введении кормовой добавки в дозе 5000 мг/кг гибели животных не наблюдалось, признаков интоксикации не зарегистрировано. LD₅₀ при внутрижелудочном введении значительно превышает 5000 мг/кг (максимальная тестируемая доза); следовательно, по параметрам острой токсичности препарат можно отнести к наименьшему 5 классу токсичности в соответствии с ГОСТ 32296-2013 («Основные требования к проведению испытаний по оценке острой токсичности при внутрижелудочном поступлении методом фиксированной дозы»). При проведении исследования по оценке хронической токсичности при многократном длительном внутрижелудочном введении и оценки восстановительного периода после отмены кормовой добавки в течение 10 дней наблюдался прирост средней массы тела мышей во всех группах. Прирост средней массы тела мышей в опытных группах был ниже относительно полученных результатов в контрольной группе, однако, различия статистически недостоверны ($p \geq 0,05$). Максимальный прирост сред-

Таблица 2.2.5

**Средние показатели массовых коэффициентов внутренних органов
мышей после введения кормовой добавки «Бисфенол-5»**

Показатель	1000 мг/кг		500 мг/кг		Контроль	
	91 день	101 день	91 день	101 день	91 день	101 день
Вес животного, г	26,01±2,18	30,00±2,67	27,94±3,17	29,574±3,88	30,244±1,92	29,484±2,58
Масса сердца, г	0,09±0,01	0,10±0,04	0,104±0,01	0,114±0,02	0,114±0,01	0,114±0,01
МК сердца, %	0,33±0,08	0,33±0,12	0,35±0,04	0,364±0,05	0,364±0,05	0,374±0,03
Масса печени, г	1,38±0,12	1,72±0,19	1,60±0,27	1,714±0,25	1,914±0,16	1,834±0,20
МК печени, %	5,33±0,62	5,72±0,34	5,74±0,71	5,784±0,54	6,314±0,53	6,244±0,84
Масса почки, г	0,25±0,03	0,34±0,05	0,29±0,04	0,334±0,05	0,334±0,02	0,354±0,03
МК почки, %	0,984±0,10	1,124±0,15	1,03±0,14	1,104±0,12	1,114±0,11	1,184±0,13
Масса селезенки, г	0,20±0,10	0,22±0,08	0,17±0,10	0,204±0,06	0,214±0,08	0,194±0,08
МК селезенки, %	0,77±0,39	0,74±0,26	0,604±0,36	0,684±0,18	0,714±0,27	0,654±0,26

ней массы тела в опытных группах наблюдался на 101 день опыта, после периода восстановления.

Регистрировалась гибель одного животного в опытной группе, получавших КД в дозе 1000 мг/кг на 67 день опыта. По результатам патологоанатомического вскрытия смерть наступила в результате острой сердечно-легочной недостаточности.

При биохимическом исследовании крови животных установлены статистически достоверные различия между группами. Так, на 91-й день опыта отмечено повышение содержания общего белка в обеих опытных группах, а также увеличение уровня АСТ в группе, получавшей кормовую добавку в дозе 500 мг/кг. На 101-й день опыта зарегистрировано повышение уровня креатинина в опытной группе, получавшей кормовую добавку в дозе 1000 мг/кг, по сравнению с контрольной группой.

При анализе массовых коэффициентов внутренних органов также отмечены отдельные статистически значимые изменения. На 91-й день опыта в группе животных, получавших кормовую добавку в дозе 1000 мг/кг, наблюдалось снижение массовых коэффициентов печени и почек по сравнению с контролем. На 101-й день опыта статистически достоверных различий не выявлено. При патологоанатомическом вскрытии макроскопические изменения внутренних органов не обнаружены.

Регулирующие стандарты

Исследования выполнены в соответствии со следующими документами:

1. Приказ МСХ РФ от 06.03.2018 №101 «Об утверждении правил проведения доклинического исследования лекарственного средства для ветеринарного применения, клинического исследования лекарственного препарата для ветеринарного применения, исследования биоэквивалентности лекарственного препарата для ветеринарного применения.

2. Директива 2010/63/EU европейского парламента и совета европейского союза от 22.09.2010 по охране животных, используемых в научных целях.

3. ГОСТ 33044 – 2014 «Принципы надлежащей лабораторной практики».

4. OECD, Test N 420 (2001) Оценка острой токсичности при внутрижелудочном поступлении методом фиксированной дозы (ГОСТ 32296-2013).

5. OECD, Test N 408:1998 «Повторное исследование пероральной токсичности на грызунах: 90-дневное» (ГОСТ 32637-2020).

6. ГОСТ 32419-2013 Классификация опасности химической продукции. Общие требования.

7. ГОСТ 32296-2013 «Продукция химическая. Метод определения острой пероральной токсичности».

8. ГОСТ 33215 2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила оборудования помещений и организации процедуры».

9. ГОСТ 33216-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила содержания и ухода за животными».

10. ГОСТ Р 51232-98 «Вода питьевая. Общие требования к организации и методам контроля качества».

11. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ // под ред. Р.У. Хабриева, М., «Медицина», 2005.

12. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая // под ред. А.Н. Миронова, изд-во: Гриф и К, Москва, 2012.

13. «Элементы количественной оценки фармакологического эффекта», Беленький М.Л. Л., 1963 г.

2.3. ИССЛЕДОВАНИЕ ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ КОРМОВОЙ ДОБАВКИ «БИСФЕНОЛ-5» НА КРОЛИКАХ

Клиническое состояние кроликов, получавших внутрижелудочно кормовую добавку «Бисфенол-5», не отличалось от контрольной группы. Внешнее состояние животных контрольной и опытных групп в первые минуты после внутрижелудочного введения раствора характеризовалось небольшим угнетением, вызванное механическим воздействием на животных. Через 5–10 минут состояние животных нормализовалось.

В течение всего эксперимента гибели животных в контрольной и опытной группах не отмечалось.

Изменения массы тела кроликов в ходе эксперимента представлены в табл. 2.3.1.

Таблица 2.3.1

**Динамика массы тела кроликов,
получавших кормовую добавку «Бисфенол-5» (n = 6)**

Группа	Масса тела, кг		
	исходные данные	на 7 сутки	на 14 сутки
Контрольная	2,30±0,04	2,34±0,05	2,37±0,04
Бисфенол-5	2,32±0,04	2,35±0,04	2,39±0,04

Согласно данным таблицы 2.3.1, динамика массы тела кроликов, получавших кормовую добавку «Бисфенол-5», достоверно не отличалась от показателей контрольной группы. Прирост живой массы кроликов опытной и контрольной групп на 14 сутки эксперимента составил 3,0 %.

Результаты исследования острой токсичности кормовой добавки «Бисфенол-5» на кроликах представлены в табл. 2.3.2.

Таблица 2.3.2

**Острая токсичность кормовой добавки
«Бисфенол-5» на кроликах (n = 6)**

Группа	Доза, мг/кг	Число животных / число погибших	LD ₁₀	LD ₁₆	LD ₅₀ с доверительным интервалом	LD ₈₄
Бисфенол-5	2000	6/0	>	>	>	>

Согласно данным таблицы 2.3.2, LD₅₀ кормовой добавки «Бисфенол-5» превышает 2000 мг/кг массы тела. Согласно руководству по проведению доклинических исследований лекарственных средств [9], если из-за низкой токсичности фармакологического вещества нельзя определить LD₅₀, следует указывать, что LD₅₀ превышает максимальную введённую дозу, но не менее 2 г/кг.

Через 14 суток провели эвтаназию и вскрытие животных контрольной группы и получавших кормовую добавку «Бисфенол-5». При

вскрытии отмечали следующую патологоанатомическую картину: трупы животных правильного телосложения, средней упитанности. Естественные отверстия: рот – закрыт, язык находится в ротовой полости, слизистая оболочка губ, десен бледно-розовая, гладкая, блестящая. Носовые отверстия – слизистая бледно-розовая, сухая, истечений нет, проходимость хорошая. Ушные раковины без изменений, наружный слуховой проход чистый. Анус – закрыт, слизистая оболочка бледно-розовая. Шерсть удерживается хорошо, шерстный покров блестящий. Кожа эластичная, подкожная клетчатка хорошо выражена, упругая. Мышцы красно-бурого цвета, хорошо развиты, волокнистость на разрезе выражена, сухожилия и связки белого цвета, эластичные, прочные. Конфигурация костей и суставов не нарушена. Кости твердые, ножом режутся с трудом, поверхность гладкая, блестящая. Целостность костей не нарушена. Надкостница серовато-белого цвета, влажная, блестящая. Целостность зубов не нарушена. Слизистая оболочка щек, десен, твердого и мягкого неба бледно-розовая, влажная, гладкая, блестящая. Положение органов грудной и брюшной полости анатомически правильное. Жидкости в грудной и брюшной полостях нет. Проходимость глотки и пищевода не нарушена, слизистая оболочка серо-розовая, влажная, гладкая, блестящая. Сердце в объеме не изменено. В полостях сердца содержится незначительное количество несвернувшейся крови, эндокард гладкий, блестящий. Миокард упругий, красного цвета. Легкие бледно-розового цвета, равномерно окрашенные, без признаков отека, дольчатость выражена хорошо, упругой консистенции. Селезенка среднего размера, продолговатой формы, упругой консистенции, красно-коричневого цвета, края острые. Печень в размере не увеличена, форма не изменена, консистенция упругая, цвет темно-коричневый, края острые. Желчь густая, темно-зеленого цвета, слизистая оболочка желчного пузыря гладкая, блестящая. Желудок содержит кормовую массу темно-зеленого цвета, однородной консистенции. Слизистая оболочка желудка бледно-розового цвета. Слизистая оболочка тонкого и толстого отделов кишечника серо-розового цвета. Почки бобовидной формы, темно-коричневого цвета, в околопочечной клетчатке содержится умеренное количество жира, капсула отделяется легко, граница между корковой и мозговой зонами выражена. Мочевой пузырь пустой или содержит мочу светло-желтого цвета, слизистая оболочка бледно-розового цвета. Половые органы без изменений. У самцов семенники упругой консистенции, находятся в полости мошонки, имеют эллиптическую форму.

У самок яичники и матка в норме. Головной мозг не отечен, долячательность выражена хорошо, мозговое вещество упругой консистенции, без кровоизлияний.

В эксперименте по оценке острой токсичности препарата «Бисфенол-5» на кроликах гибели животных не зарегистрировано.

Значение LD_{50} при внутрижелудочном введении превышает 2000 мг/кг массы тела.

Клинических признаков интоксикации не выявлено.

Патологоанатомическое исследование не выявило макроскопических изменений внутренних органов.

2.4. ИССЛЕДОВАНИЕ ХРОНИЧЕСКОЙ ТОКСИЧНОСТИ КОРМОВОЙ ДОБАВКИ «БИСФЕНОЛ-5» НА КРОЛИКАХ

2.4.1. Интегральные исследования при длительном внутрижелудочном введении препарата «Бисфенол-5» кроликам

Клиническое состояние кроликов, получавших кормовую добавку «Бисфенол-5» в исследуемых дозах, не отличалось от животных контрольной группы. Внешнее состояние животных обеих групп в первые минуты после внутрижелудочного введения раствора характеризовалось небольшим угнетением, вызванным механическим воздействием в ходе процедуры. Спустя 5–10 минут после введения наблюдалось восстановление общего состояния кроликов.

В течение опыта была проанализирована динамика массы тела кроликов, результаты представлены в табл. 2.4.1.1.

В ходе эксперимента у кроликов, получавших препарат «Бисфенол-5» в дозе 0,5 мг/кг, на 90 сутки масса тела была выше контроля на 1,0%. В группе кроликов, получавших «Бисфенол-5» в дозе 5 мг/кг, на 90 сутки масса тела была выше контроля на 12,1%. У кроликов, получавших препарат «Бисфенол-5» в дозе 200 мг/кг, на 90 сутки масса тела была ниже контрольных данных на 9,7%.

Таким образом, клиническое состояние животных, получавших препарат не отличалось от контрольной группы. Наилучшие показатели динамики живой массы отмечались в группе кроликов, получавших препарат «Бисфенол-5» в дозе 5 мг/кг.

Таблица 2.4.1.1

Динамика массы тела кроликов, получавших препарат «Бисфенол-5» (n = 6)

Препарат	Доза	Исходн. данные	15 сутки	30 сутки	45 сутки	60 сутки	75 сутки	90 сутки
Контроль		1,45 ±0,04	1,65 ±0,06	1,88 ±0,07	2,17 ±0,07	2,32 ±0,08	2,62 ±0,08	2,90 ±0,13
Бисфенол-5	0,5 мг/кг	1,47 ±0,03	1,66 ±0,05	1,91 ±0,09	2,19 ±0,08	2,30 ±0,08	2,65 ±0,11	2,93 ±0,13
	5 мг/кг	1,47 ±0,03	1,69 ±0,06	2,00 ±0,1	2,31 ±0,1	2,70 ±0,12*	2,90 ±0,13	3,25 ±0,16
	200 мг/кг	1,50 ±0,04	1,58 ±0,04	1,76 ±0,06	1,99 ±0,09	2,21 ±0,13	2,47 ±0,14	2,62 ±0,16

Примечание: * – различия с контролем достоверны $p \leq 0,05$.

2.4.2. Гематологические, биохимические и иммунологические исследования крови при длительном внутрижелудочном введении кроликам препарата «Бисфенол-5»

Одним из показателей клинического статуса организма является морфофункциональное состояние крови. Кровь выполняет очень важные и многообразные функции в организме. Изменение ее состава служат диагностическим признаком патологии органов и систем. Согласно данным, приведенным в табл. 2.4.2.1 значения изучаемых показателей крови кроликов опытных и контрольной групп на начало постановки эксперимента не имели достоверных отличий.

Таблица 2.4.2.1

Гематологические показатели кроликов при длительном внутрижелудочном введении «Бисфенол-5»

Группа	фон	15 сут	30 сут	45 сут	60 сут	75 сут	90 сут
Эритроциты, $10^{12}/л$							
контроль	5,10 ±0,11	5,56 ±0,11	5,99 ±0,12	6,14 ±0,09	6,28 ±0,11	6,48 ±0,09	6,64 ±0,07
0,5 мг/кг	5,11 ±0,12	5,59 ±0,14	6,04 ±0,12	6,17 ±0,09	6,31 ±0,14	6,54 ±0,10	6,68 ±0,11

Продолжение табл. 2.4.2.1

Группа	фон	15 сут	30 сут	45 сут	60 сут	75 сут	90 сут
5 мг/кг	5,12 ±0,12	5,73 ±0,11	6,35 ±0,10*	6,57 ±0,10*	6,82 ±0,11*	7,12 ±0,10*	7,30 ±0,10*
200 мг/кг	5,08 ±0,07	5,32 ±0,05	5,65 ±0,03*	5,94 ±0,07	5,70 ±0,09*	6,09 ±0,05*	6,06 ±0,08*
Гемоглобин, г/л							
контроль	111,83 ±2,11	116,50 ±1,97	120,50 ±1,35	122,33 ±1,22	124,00 ±1,13	124,50 ±1,16	124,67 ±1,32
0,5 мг/кг	113,67 ±2,85	117,00 ±3,16	121,67 ±2,07	123,33 ±1,80	124,33 ±1,54	125,67 ±1,43	125,33 ±1,51
5 мг/кг	112,00 ±2,68	121,67 ±2,69	126,83 ±3,76*	130,67 ±1,46*	133,67 ±1,62*	135,17 ±1,00*	135,00 ±0,80*
200 мг/кг	112,17 ±1,68	113,50 ±1,81	118,83 ±0,77	119,67 ±0,97	119,50 ±1,16*	120,33 ±1,15*	120,17 ±1,15*
Гематокрит, %							
контроль	32,78 ±1,15	35,37 ±1,00	37,33 ±0,95	37,98 ±0,84	38,92 ±0,81	39,73 ±0,82	40,68 ±0,81
0,5 мг/кг	33,27 ±1,86	35,47 ±1,40	37,45 ±1,42	38,10 ±1,35	39,08 ±1,23	40,03 ±1,25	40,85 ±1,21
5 мг/кг	32,82 ±1,03	36,70 ±0,78	39,38 ±0,71	40,37 ±0,68	42,30 ±0,69*	43,73 ±0,62*	44,70 ±0,62*
200 мг/кг	32,12 ±0,71	33,75 ±0,66	35,12 ±0,76	36,30 ±0,80	35,12 ±0,80*	37,40 ±0,75	37,80 ±0,61*
Лейкоциты, 10 ⁹ /л							
контроль	7,13 ±0,26	7,33 ±0,25	7,56 ±0,16	7,69 ±0,09	7,80 ±0,06	7,88 ±0,05	8,00 ±0,04
0,5 мг/кг	7,13 ±0,27	7,37 ±0,22	7,70 ±0,11	7,80 ±0,07	7,89 ±0,05	8,02 ±0,04	8,11 ±0,04
5 мг/кг	7,22 ±0,12	7,63 ±0,13	7,89 ±0,09	7,97 ±0,06*	8,07 ±0,04*	8,18 ±0,04*	8,28 ±0,05*
200 мг/кг	7,07 ±0,09	7,25 ±0,12	7,41 ±0,11	7,51 ±0,10	7,69 ±0,07	7,79 ±0,06	7,91 ±0,05
Лимфоциты, %							
контроль	63,47 ±2,54	58,50 ±2,00	55,24 ±1,95	53,41 ±1,11	51,36 ±1,00	48,83 ±0,97	46,07 ±0,95
0,5 мг/кг	62,90 ±2,40	57,66 ±2,20	54,00 ±2,04	53,43 ±1,07	51,89 ±0,95	50,11 ±1,04	47,92 ±0,80
5 мг/кг	64,47 ±2,10	58,42 ±2,10	51,71 ±1,82*	50,03 ±0,90*	46,96 ±0,97*	45,50 ±0,95*	43,67 ±0,76

Окончание табл. 2.4.2.1

Группа	фон	15 сут	30 сут	45 сут	60 сут	75 сут	90 сут
200 мг/кг	64,30 ±2,20	58,35 ±1,82	57,33 ±1,93	55,07 ±1,34	52,87 ±1,03	50,12 ±0,91	48,70 ±0,98
Моноциты, %							
контроль	3,13 ±0,07	3,00 ±0,10	2,83 ±0,20	2,83 ±0,14	2,97 ±0,20	3,17 ±0,20	3,00 ±0,25
0,5 мг/кг	3,15 ±0,06	3,17 ±0,20	3,00 ±0,14	2,87 ±0,20	2,83 ±0,17	2,99 ±0,34	3,17 ±0,23
5 мг/кг	3,48 ±0,07	3,30 ±0,15	3,02 ±0,16	3,00 ±0,50	2,99 ±0,31	3,25 ±0,20	3,20 ±0,20
200 мг/кг	3,35 ±0,12	3,32 ±0,11	2,94 ±0,12	2,82 ±0,16	2,80 ±0,21	2,91 ±0,27	3,03 ±0,21
Гранулоциты, %							
контроль	33,40 ±2,59	38,50 ±2,00	41,93 ±1,97	43,76 ±1,04	45,67 ±1,13	48,00 ±1,11	50,93 ±0,97
0,5 мг/кг	33,95 ±2,45	39,17 ±2,11	43,00 ±2,05	43,70 ±1,06	45,28 ±1,04	46,90 ±1,04	48,91 ±1,07
5 мг/кг	32,05 ±2,15	38,28 ±1,97	45,27 ±1,93*	46,97 ±1,00*	50,05 ±0,97*	51,25 ±0,96	53,13 ±1,11
200 мг/кг	32,35 ±2,26	38,33 ±2,17	39,73 ±2,03	42,11 ±1,23	44,33 ±0,97	46,97 ±1,03	48,27 ±1,03
Тромбоциты, 10 ⁹ /л							
контроль	291,67 ±25,10	277,00 ±21,86	297,33 ±20,21	302,33 ±15,79	328,50 ±10,21	343,50 ±9,01	341,00 ±14,02
0,5 мг/кг	282,50 ±28,83	277,00 ±21,04	303,50 ±15,88	314,83 ±22,20	324,33 ±17,60	341,67 ±16,20	348,83 ±17,06
5 мг/кг	287,17 ±26,15	273,50 ±22,56	312,83 ±11,25	320,50 ±18,18	333,83 ±18,96	359,67 ±23,48	359,00 ±22,46
200 мг/кг	284,83 ±25,84	274,83 ±21,02	294,67 ±11,27	301,50 ±11,76	325,17 ±14,81	350,83 ±13,48	340,33 ±12,90
СОЭ, мм/ч							
контроль	1,10 ±0,04	1,25 ±0,05	1,32 ±0,07	1,30 ±0,09	1,36 ±0,06	1,39 ±0,07	1,42 ±0,06
0,5 мг/кг	1,07 ±0,05	1,23 ±0,06	1,32 ±0,06	1,30 ±0,06	1,38 ±0,05	1,37 ±0,07	1,43 ±0,07
5 мг/кг	1,07 ±0,04	1,26 ±0,05	1,34 ±0,04	1,35 ±0,05	1,41 ±0,06	1,43 ±0,06	1,47 ±0,05
200 мг/кг	1,07 ±0,05	1,20 ±0,06	1,30 ±0,04	1,30 ±0,06	1,35 ±0,05	1,36 ±0,05	1,41 ±0,03

Примечание: * – различия с контролем достоверны с точностью $p \leq 0,05$.

Гематологические показатели животных, которые получали «Бисфенол-5» в дозе 0,5 мг/кг, в исследуемые сроки не имели достоверных отличий с контролем.

Потребление препарата в дозе 5 мг/кг массы тела способствовало повышению содержания эритроцитов в крови кроликов на 30; 45; 60; 75 и 90 сут исследования в сравнении с показателями контрольных животных на 6,0; 7,0; 8,6; 9,9 и 10,0%, соответственно, гемоглобина – на 5,2; 6,8; 7,8; 8,6 и 8,3%, лейкоцитов – на 4,4; 3,6; 3,5; 3,8 и 3,5%, тромбоцитов – на 5,2; 6,0; 1,6; 4,7 и 5,3%, гематокрита – на 5,5; 6,3; 8,7; 10,0 и 9,9%. Лейкограмма крови на 30 сут опыта характеризовалась понижением в сравнении с контролем уровня лимфоцитов на 6,4%, повышением доли моноцитов – на 6,7%, гранулоцитов – на 8,0%. На 45 сут отмечали снижение лимфоцитов на 6,3%, повышение моноцитов и гранулоцитов – на 6,0 и 7,3%, соответственно, на 60 сут: снижение лимфоцитов на 8,6%, повышение моноцитов и гранулоцитов на 0,7 и 9,6%, на 75 сут: снижение лимфоцитов на 6,8%, повышение моноцитов и гранулоцитов на 2,5 и 6,8%, на 90 сут: снижение лимфоцитов на 5,2%, повышение моноцитов и гранулоцитов на 6,7 и 4,3%. СОЭ не имела достоверных отличий от контроля.

У кроликов, которым «Бисфенол-5» вводили в дозе 200 мг/кг на 30; 45; 60; 75 и 90 сут исследования уровень эритроцитов снизился в сравнении с показателями контрольных животных, соответственно, на 5,7; 3,3; 9,2; 6,0 и 8,7%, гемоглобина – на 1,4; 2,2; 3,6; 3,3 и 3,6%, гематокрита – на 5,9; 4,4; 9,8; 5,9 и 7,1%. Значения остальных показателей не имели достоверных отличий с контролем.

На основании результатов исследований негативного воздействия на исследуемые гематологические показатели кроликов при длительном потреблении «Бисфенол-5» не выявлено. При этом при дозе 5 мг/кг отмечалось незначительное повышение уровня форменных элементов крови, что может указывать на активацию белкового обмена.

Изучение биохимических показателей сыворотки крови позволяет диагностировать нарушения обмена веществ, скрыто протекающие в организме. По результатам исследований, представленным в табл. 2.4.2.2, достоверных отличий показателей у кроликов при внутрижелудочном введении «Бисфенол-5» в дозах 0,5 и 200 мг/кг живой массы и контрольными животными не установлено, следовательно, не имеет место наличие скрыто протекающих патологических процессов и патологий обмена веществ.

На фоне применения «Бисфенол-5» в дозе 5 мг/кг отмечалось повышение содержания общего белка в сыворотке крови на 30, 45, 60, 75 и 90 сутки опыта на 4,3; 5,7; 9,6; 9,9 и 10,4%, альбуминов — на 5,1; 4,7; 4,4; 6,3 и 6,0% соответственно по сравнению с контролем. Полученные данные могут свидетельствовать об активации белкового обмена и возможном усилении белоксинтетических процессов в организме.

Повышение доли альбуминов может указывать на сохранение коллоидно-осмотического давления крови и отсутствие выраженных нарушений белкового обмена. Учитывая, что альбумины участвуют в транспорте жирных кислот, витаминов, гормонов, билирубина, кальция и магния, изменение их содержания может отражать особенности метаболических процессов в организме животных.

Динамика глобулинов не указывала на развитие выраженных патологических состояний, в том числе связанных с воспалительными процессами.

Таблица 2.4.2.2

**Биохимические показатели крови кроликов
при длительном внутривенном введении «Бисфенол-5»**

Группа	фон	15 сут	30 сут	45 сут	60 сут	75 сут	90 сут
Общий белок, г/л							
контроль	60,27 ±0,49	63,10 ±0,71	65,77 ±0,96	67,05 ±0,85	68,00 ±0,74	69,43 ±0,67	70,30 ±0,65
0,5 мг/кг	60,10 ±0,65	63,33 ±0,67	66,17 ±0,43	67,20 ±0,65	68,33 ±0,67	69,10 ±0,65	70,60 ±0,50
5 мг/кг	60,27 ±0,63	64,20 ±0,56	68,60 ±0,76	70,90 ±0,89	74,5 ±0,65*	76,3 ±0,67*	77,6 ±0,65*
200 мг/кг	59,6 5±0,57	63,00 ±0,50	65,00 ±0,65	65,90 ±0,50	67,17 ±0,63	68,20 ±0,56	68,97 ±0,63
Альбумины, %							
контроль	56,20 ±1,00	58,33 ±0,97	60,37 ±1,13	60,43 ±0,97	60,90 ±0,90	61,17 ±0,87	61,33 ±1,07
0,5 мг/кг	57,10 ±1,33	58,00 ±0,50	61,00 ±1,00	60,17 ±0,63	61,20 ±0,74	60,33 ±0,67	61,00 ±0,90
5 мг/кг	56,93 ±1,56	60,00 ±0,65	63,50 ±0,80	63,30 ±0,50	63,60 ±1,00	65,00 ±0,65	65,00 ±1,00
200 мг/кг	57,00 ±1,19	58,17 ±0,63	61,33 ±1,07	59,2 1±0,89	60,47 ±0,87	60,50 ±0,65	61,17 ±0,93

Продолжение табл. 2.4.2.2

Группа	фон	15 сут	30 сут	45 сут	60 сут	75 сут	90 сут
α-глобулины, %							
контроль	10,47 ±0,96	10,50 ±0,65	10,90 ±0,89	11,17 ±0,64	11,33 ±0,67	11,67 ±1,00	12,00 ±0,96
0,5 мг/кг	10,60 ±0,76	10,33 ±0,67	11,17 ±0,63	11,40 ±0,52	11,00 ±0,65	11,50 ±0,65	11,00 ±0,65
5 мг/кг	10,30 ±1,18	9,50 ±0,50	10,30 ±0,65	10,60 ±0,65	10,50 ±1,00	10,40 ±0,61	10,20 ±0,76
200 мг/кг	10,15 ±0,97	10,68 ±0,64	11,33 ±0,67	11,41 ±0,71	11,67 ±0,63	12,00 ±0,65	12,00 ±1,00
β-глобулины, %							
контроль	11,33 ±1,06	10,20 ±0,96	9,67 ±0,82	9,13 ±0,67	8,77 ±0,64	8,50 ±0,73	8,13 ±0,98
0,5 мг/кг	10,60 ±0,70	10,00 ±1,00	9,50 ±0,71	9,33 ±0,47	8,50 ±0,45	8,61 ±0,59	8,60 ±1,00
5 мг/кг	10,30 ±0,76	9,65 ±0,70	8,33 ±0,67	8,50 ±0,50	8,17 ±0,63	7,50 ±0,50	8,00 ±0,65
200 мг/кг	10,17 ±0,61	11,00 ±0,50	9,50 ±0,65	10,00 ±0,65	9,13 ±0,61	8,80 ±0,65	8,33 ±0,67
γ-глобулины, %							
контроль	22,00 ±1,22	20,97 ±1,03	19,06 ±1,00	19,27 ±0,93	19,00 ±1,02	18,66 ±0,97	18,54 ±1,04
0,5 мг/кг	21,70 ±1,57	21,67 ±0,81	18,33 ±0,97	19,10 ±0,89	19,30 ±1,05	19,56 ±0,74	19,40 ±0,96
5 мг/кг	22,47 ±1,43	20,85 ±0,80	17,87 ±1,03	17,60 ±1,00	17,73 ±0,97	17,10 ±1,00	16,80 ±1,00
200 мг/кг	22,68 ±1,65	20,15 ±0,95	19,84 ±0,96	19,40 ±0,91	18,73 ±0,93	18,70 ±0,90	18,50 ±0,95
Билирубин общий, мкмоль/л							
контроль	0,90 ±0,09	1,17 ±0,09	1,33 ±0,07	1,50 ±0,21	1,47 ±0,12	1,44 ±0,13	1,52 ±0,11
0,5 мг/кг	0,88 ±0,11	1,20 ±0,11	1,35 ±0,13	1,49 ±0,16	1,43 ±0,21	1,41 ±0,15	1,51 ±0,19
5 мг/кг	0,87 ±0,09	1,15 ±0,07	1,26 ±0,10	1,40 ±0,20	1,36 ±0,24	1,32 ±0,20	1,37 ±0,21
200 мг/кг	0,91 ±0,10	1,21 ±0,09	1,37 ±0,11	1,53 ±0,17	1,50 ±0,25	1,45 ±0,17	1,55 ±0,17

Продолжение табл. 2.4.2.2

Группа	фон	15 сут	30 сут	45 сут	60 сут	75 сут	90 сут
Мочевина, ммоль/л							
контроль	4,33 ±0,07	4,47 ±0,13	4,56 ±0,12	4,71 ±0,20	4,97 ±0,11	5,33 ±0,18	5,61 ±0,09
0,5 мг/кг	4,22 ±0,09	4,50 ±0,20	4,50 ±0,20	4,68 ±0,16	4,90 ±0,15	5,28 ±0,16	5,59 ±0,11
5 мг/кг	4,30 ±0,11	4,36 ±0,14	4,41 ±0,19	4,50 ±0,20	4,45 ±0,15	5,00 ±0,20	5,22 ±0,18
200 мг/кг	4,23 ±0,09	4,51 ±0,17	4,61 ±0,17	4,77 ±0,21	5,02 ±0,19	5,38 ±0,17	5,65 ±0,13
АЛТ, Ед/л							
контроль	10,63 ±0,67	11,00 ±0,76	11,68 ±0,83	11,61 ±1,00	11,59 ±0,81	11,67 ±1,03	11,83 ±0,64
0,5 мг/кг	10,30 ±0,56	11,21 ±0,69	11,61 ±0,67	11,65 ±0,95	11,67 ±0,71	11,79 ±0,81	11,95 ±0,65
5 мг/кг	10,00 ±0,69	10,03 ±0,77	11,17 ±0,63	11,00 ±1,00	11,33 ±0,67	11,20 ±0,90	11,33 ±0,67
200 мг/кг	10,47 ±0,68	10,97 ±0,63	11,33 ±0,87	11,50 ±0,65	11,60 ±0,75	12,00 ±1,00	12,98 ±0,92
АСТ, Ед/л							
контроль	13,61 ±0,59	14,17 ±1,03	14,90 ±0,97	15,13 ±0,61	15,26 ±1,30	15,35 ±1,05	15,43 ±0,97
0,5 мг/кг	13,53 ±0,67	14,40 ±0,65	14,81 ±0,89	15,07 ±0,71	15,29 ±1,11	15,40 ±0,70	15,50 ±1,00
5 мг/кг	13,37 ±0,90	14,22 ±0,96	15,00 ±1,00	14,67 ±0,43	15,00 ±0,65	15,17 ±0,63	14,80 ±0,70
200 мг/кг	13,10 ±0,77	14,00 ±0,80	14,50 ±0,95	15,00 ±0,50	15,33 ±0,97	15,41 ±0,89	15,51 ±0,89
Глюкоза, ммоль/л							
контроль	4,00 ±0,49	4,09 ±0,51	4,17 ±0,43	4,44 ±0,63	4,60 ±0,51	5,00 ±0,56	4,83 ±0,67
0,5 мг/кг	4,12 ±0,48	4,20 ±0,50	4,28 ±0,36	4,50 ±0,50	4,65 ±0,60	4,89 ±0,41	5,00 ±0,65
5 мг/кг	4,07 ±0,43	4,41 ±0,49	4,50 ±0,26	4,70 ±0,35	4,87 ±0,43	5,33 ±0,67	5,19 ±0,71*
200 мг/кг	4,17 ±0,53	4,15 ±0,35	4,20 ±0,45	4,16 ±0,42	4,10 ±0,57	4,40 ±0,50	4,67 ±0,63

Окончание табл. 2.4.2.2

Группа	фон	15 сут	30 сут	45 сут	60 сут	75 сут	90 сут
Щелочная фосфатаза, Ед/л							
контроль	160,00 ±4,89	158,23 ±5,17	156,30 ±4,60	154,71 ±4,89	150,17 ±5,43	153,00 ±5,79	152,90 ±6,11
0,5 мг/кг	163,30 ±3,97	159,17 ±4,63	157,20 ±4,65	153,89 ±5,11	150,60 ±5,20	148,33 ±5,17	147,20 ±5,22
5 мг/кг	162,47 ±3,12	159,90 ±4,50	155,17 ±4,63	149,00 ±4,50	146,81 ±4,49	145,20 ±5,26	143,00 ±4,65
200 мг/кг	159,20 ±4,59	158,00 ±5,00	158,28 ±4,72	155,50 ±4,65	150,00 ±5,50	155,17 ±4,83	151,80 ±5,35
Креатинин, мкмоль/л							
контроль	50,20 ±0,69	52,17 ±1,03	54,90 ±1,17	56,33 ±1,43	60,33 ±0,97	62,11 ±1,07	64,75 ±1,04
0,5 мг/кг	51,67 ±1,33	50,60 ±0,96	53,17 ±0,87	54,67 ±1,03	58,90 ±0,95	61,20 ±0,90	63,91 ±1,09
5 мг/кг	50,17 ±0,81	50,99 ±1,01	52,00 ±1,00	52,70 ±0,95	55,00 ±0,65	57,17 ±0,97	58,80 ±0,95
200 мг/кг	51,34 ±1,56	52,00 ±0,80	53,50 ±0,95	55,99 ±0,97	58,77 ±0,83	61,66 ±0,96	65,50 ±1,05
Холестерин, ммоль/л							
контроль	2,27 ±0,13	2,31 ±0,17	2,36 ±0,15	2,34 ±0,23	2,30 ±0,16	2,32 ±0,09	2,29 ±0,15
0,5 мг/кг	2,19 ±0,28	2,32 ±0,20	2,35 ±0,21	2,35 ±0,20	2,33 ±0,17	2,35 ±0,15	2,32 ±0,12
5 мг/кг	2,23 ±0,16	2,26 ±0,11	2,28 ±0,08	2,29 ±0,18	2,25 ±0,09	2,23 ±0,11	2,20 ±0,15
200 мг/кг	2,21 ±0,14	2,25 ±0,15	2,30 ±0,10	2,32 ±0,16	2,31 ±0,19	2,36 ±0,06	2,38 ±0,10
Амилаза, Ед/л							
контроль	90,10 ±2,29	94,17 ±2,43	96,00 ±2,16	98,00 ±2,26	97,17 ±2,43	99,43 ±3,17	98,69 ±2,61
0,5 мг/кг	91,33 ±2,62	93,33 ±2,67	93,80 ±2,65	96,89 ±1,98	98,00 ±2,50	98,20 ±2,65	99,00 ±2,80
5 мг/кг	90,98 ±1,87	91,90 ±2,00	92,17 ±1,87	91,77 ±2,03	92,81 ±2,09	93,31 ±2,89	93,03 ±1,97
200 мг/кг	91,17 ±2,13	94,00 ±1,80	95,30 ±2,10	96,82 ±2,08	99,07 ±1,87	101,20 ±2,42	102,65 ±2,5

Примечание: * – различия с контролем достоверны с точностью $p \leq 0,05$.

«Бисфенол-5» в исследуемых дозах не оказывал существенного влияния на активность различных ферментов организма. Так, активность аланин- и аспартатаминотрансферазы в сыворотке крови опытных и контрольных кроликов на протяжении всего опыта не имела существенных отличий, что является свидетельством отсутствия повреждений клеточных мембран и нарушений обменных процессов на уровне аминокислот.

Динамика активности щелочной фосфатазы, как фермента, преимущественно содержащегося в слизистой оболочке кишечника, костной ткани, клетках печени и почечных канальцев, указывала на отсутствие поражения этих органов и нарушений фосфорно-кальциевого обмена.

Билирубин является физиологическим компонентом крови, образующимся при распаде эритроцитов. Он поступает в печень, претерпевает там ряд сложных изменений, затем в желчный проток и в составе желчи направляется в двенадцатиперстную кишку. В связи с поражением паренхимы печени, происходит нарушение функции гепатоцитов, что приводит к накоплению избыточного количества билирубина в крови. Так, при потреблении кроликами «Бисфенол-5» в дозах 0,5 и 200 мг/кг отличия с контролем по уровню билирубина были недостоверны. В дозе 5 мг/кг содержание билирубина в сыворотке крови животных снижалось на 30-90 сутки опыта на 5,3; 6,7; 7,5; 8,3 и 9,9%, соответственно, что говорит об отсутствии патологий печени и наличии благоприятного действия на обменные процессы.

Уровни глюкозы и амилазы в сыворотке крови животных при дозах 0,5 и 200 мг/кг статистически значимо не отличались от контрольных значений. Повышение концентрации глюкозы при потреблении «Бисфенол-5» в дозе 5 мг/кг может свидетельствовать об активизации углеводного обмена, включая возможное усиление образования глюкозы из гликогена и других субстратов, а также ее поступления из кишечного тракта. Одновременно отмечено незначительное снижение уровня амилазы – фермента, катализирующего гидролитическое расщепление гликогена и крахмала, что может быть связано с ускорением ее элиминации.

Таким образом, результаты биохимического исследования сыворотки крови кроликов показали, что длительное внутрижелудочное введение «Бисфенол-5» не оказывает отрицательного воздействия на обмен веществ и основные системы организма и не оказывает отри-

цательного влияния на исследуемые показатели при введении в дозе 5 мг/кг живой массы.

Результаты иммунологического исследования крови при длительном внутрижелудочном введении кроликам «Бисфенол-5» представлены в табл. 2.4.2.3.

Таблица 2.4.2.3

**Иммунологические показатели крови кроликов
при длительном внутрижелудочном введении «Бисфенол-5»**

Группа	фон	15 сут	30 сут	45 сут	60 сут	75 сут	90 сут
Т-лимфоциты, %							
контроль	47,80 ±0,76	47,00 ±1,00	45,67 ±1,27	47,70 ±1,20	49,00 ±1,43	47,50 ±1,65	47,00 ±1,87
0,5 мг/кг	46,67 ±0,63	47,17 ±0,97	46,90 ±1,00	48,81 ±0,89	49,17 ±1,54	48,60 ±1,30	48,18 ±1,64
5 мг/кг	46,00 ±0,90	47,40 ±0,65	48,80 ±0,95	49,90 ±1,05	53,33 ±1,17	54,00 ±1,00	54,90 ±1,55
200 мг/кг	47,91 ±0,89	48,11 ±0,90	47,50 ±1,00	47,00 ±0,90	48,20 ±1,15	48,00 ±1,20	46,60 ±1,41
В-лимфоциты, %							
контроль	18,40 ±0,94	18,00 ±0,90	17,30 ±0,87	18,33 ±1,17	19,67 ±1,41	18,80 ±1,20	17,67 ±1,23
0,5 мг/кг	17,63 ±1,07	18,50 ±1,00	18,03 ±0,94	18,70 ±1,05	19,50 ±1,00	18,10 ±1,00	18,00 ±0,90
5 мг/кг	18,00 ±1,00	19,11 ±0,89	20,00 ±1,00	21,10 ±0,90	22,00 ±1,20	22,17 ±0,97	22,00 ±1,00
200 мг/кг	18,2 0±0,90	19,00 ±1,00	18,00 ±0,90	18,67 ±1,03	19,41 ±1,09	18,50 ±1,00	17,70 ±0,95
Фагоцитарная активность нейтрофилов, %							
контроль	52,33 ±0,68	52,00 ±0,65	52,00 ±1,22	53,30 ±1,00	55,33 ±2,35	56,00 ±1,25	56,67 ±1,68
0,5 мг/кг	53,17 ±0,83	54,10 ±0,70	53,00 ±1,00	53,50 ±1,00	55,20 ±1,40	55,89 ±1,21	56,90 ±1,50
5 мг/кг	52,00 ±0,65	55,00 ±1,00	55,33 ±0,97	56,90 ±0,65	58,77 ±1,43	60,00 ±1,00	61,00 ±1,25
200 мг/кг	53,00 ±1,00	53,33 ±0,97	53,10 ±0,90	52,90 ±0,91	52,50 ±1,50	54,90 ±1,10	56,00 ±1,30

Окончание табл. 2.4.2.3

Группа	фон	15 сут	30 сут	45 сут	60 сут	75 сут	90 сут
Фагоцитарное число							
контроль	2,12 ±0,04	2,17 ±0,05	2,24 ±0,07	2,45 ±0,25	2,71 ±0,33	2,81 ±0,19	2,90 ±0,21
0,5 мг/кг	2,20 ±0,10	2,20 ±0,08	2,27 ±0,09	2,43 ±0,17	2,75 ±0,35	2,80 ±0,25	2,86 ±0,19
5 мг/кг	2,05 ±0,08	2,17 ±0,09	2,29 ±0,11	2,60 ±0,20	2,83 ±0,22	2,95 ±0,20	3,02 ±0,20
200 мг/кг	2,11 ±0,07	2,15 ±0,07	2,25 ±0,10	2,40 ±0,19	2,60 ±0,25	2,70 ±0,21	2,80 ±0,16
Фагоцитарный индекс							
контроль	4,05 ±0,03	4,17 ±0,09	4,30 ±0,06	4,60 ±0,18	4,89 ±0,11	5,02 ±0,22	5,12 ±0,08
0,5 мг/кг	4,13 ±0,07	4,07 ±0,11	4,28 ±0,12	4,54 ±0,20	4,98 ±0,10	5,00 ±0,20	5,02 ±0,12
5 мг/кг	3,94 ±0,06	3,95 ±0,10	4,13 ±0,09	4,57 ±0,21	4,81 ±0,15	4,92 ±0,16	4,95 ±0,08
200 мг/кг	3,98 ±0,04	4,03 ±0,15	4,23 ±0,10	4,54 ±0,18	4,95 ±0,09	4,92 ±0,18	5,00 ±0,10
Фагоцитарная емкость, ×10 ⁵							
контроль	15,11 ±1,43	15,90 ±1,65	16,93 ±1,17	18,84 ±1,22	21,13 ±0,97	22,14 ±1,16	23,20 ±1,11
0,5 мг/кг	15,68 ±1,22	16,21 ±1,80	17,48 ±1,20	18,95 ±1,07	21,70 ±1,00	22,46 ±1,20	23,19 ±1,21
5 мг/кг	14,80 ±1,40	16,56 ±1,44	18,07 ±1,33	20,72 ±1,30	22,84 ±1,16	24,13 ±1,17	25,00 ±1,25
200 мг/кг	14,92 ±1,38	15,59 ±1,51	16,67 ±1,43	18,02 ±1,16	19,99 ±1,11	21,03 ±0,97	22,15 ±1,15

Значение показателей иммунной системы кроликов, которые получали «Бисфенол-5» в дозах 0,5 и 200 мг/кг живой массы не имели достоверных отличий с данными контрольных животных.

Результаты иммунологических исследований крови кроликов при введении препарата в дозе 5 мг/кг отражали незначительное повышение количественных и функциональных показателей иммунной системы.

Таким образом, длительное внутрижелудочное введение препарата «Бисфенол-5» кроликам в исследуемых дозах не оказывало отрицательного влияния на гематологические, биохимические и иммунологические показатели крови.

2.4.3. Сравнительный анализ морфологии органов при длительном внутрижелудочном введении кроликам препарата «Бисфенол-5»

После окончания введения веществ (3 месяца) провели эвтаназию и вскрытие животных контрольной группы и получавших «Бисфенол-5» в дозах 0,5; 5 и 200 мг/кг. При вскрытии отмечали следующую патологоанатомическую картину: трупы животных правильного телосложения, средней упитанности. Естественные отверстия: рот – закрыт, язык находится в ротовой полости, слизистая оболочка губ, десен бледно-розовая, гладкая, блестящая. Носовые отверстия – слизистая бледно-розовая, сухая, истечений нет, проходимость хорошая. Ушные раковины без изменений, наружный слуховой проход чистый. Анус – закрыт, слизистая оболочка бледно-розовая. Шерсть удерживается хорошо, шерстный покров блестящий. Кожа эластичная, подкожная клетчатка хорошо выражена, упругая. Мышцы красно-бурого цвета, хорошо развиты, волокнистость на разрезе выражена, сухожилия и связки белого цвета, эластичные, прочные. Конфигурация костей и суставов не нарушена. Кости твердые, ножом режутся с трудом, поверхность гладкая, блестящая. Целостность костей не нарушена. Надкостница серовато-белого цвета, влажная, блестящая. Целостность зубов не нарушена. Слизистая оболочка щек, десен, твердого и мягкого неба бледно-розовая, влажная, гладкая, блестящая. Положение органов грудной и брюшной полостей: анатомически правильное. Жидкости в грудной и брюшной полостях нет. Прходимость глотки и пищевода не нарушена, слизистая оболочка серо-розовая, влажная, гладкая, блестящая. Сердце в объеме не изменено. В полостях сердца содержится незначительное количество несвернувшейся крови, эндокард гладкий, блестящий. Миокард упругий, красного цвета. Легкие бледно-розового цвета, равномерно окрашенные, без признаков отека, дольчатость выражена хорошо, упругой консистенции. Селезенка среднего размера, края острые, продолговатой формы, упругой консистенции, красно-ко-

ричного цвета. Печень не увеличена в размере, края острые, форма не изменена, консистенция упругая, цвет темно-коричневый. Желчь густая, темно-зеленого цвета, слизистая оболочка желчного пузыря гладкая, блестящая. Желудок содержит кормовую массу темно-зеленого цвета, однородной консистенции. Слизистая оболочка желудка бледно-розового цвета. Слизистая оболочка тонкого и толстого отделов кишечника серо-розового цвета. Почки бобовидной формы, темно-коричневого цвета, в околопочечной клетчатке содержится умеренное количество жира, капсула отделяется легко, граница между корковой и мозговой зонами выражена. Мочевой пузырь пустой или содержит мочу светло-желтого цвета, слизистая оболочка бледно-розового цвета. Половые органы без отклонений. У самцов семенники упругой консистенции, находятся в полости мошонки, имеют эллиптическую форму. У самок яичники и матка в норме. Головной мозг не отечен, дольчатость выражена хорошо, мозговое вещество упругой консистенции, без кровоизлияний.

Масса сердца кроликов, получавших «Бисфенол-5», в дозе 0,5 мг/кг была ниже по сравнению с контрольной группой на 2,5%, в дозе 5 мг/кг ниже контроля на 12,8%, в дозе 200 мг/кг – ниже на 6,8% (рис. 2.4.3.1). Изменений кардиомиоцитов миокарда отмечено не было (рис. 2.4.3.2–2.4.3.5).

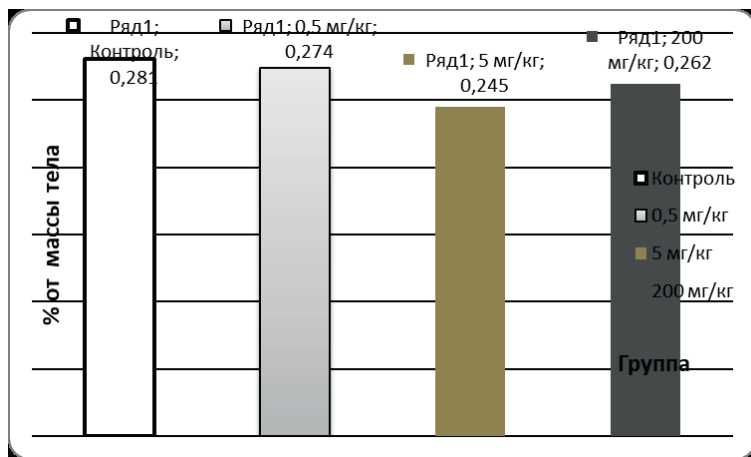


Рис. 2.4.3.1. Масса сердца кроликов при длительном внутрижелудочном введении препарата «Бисфенол-5»

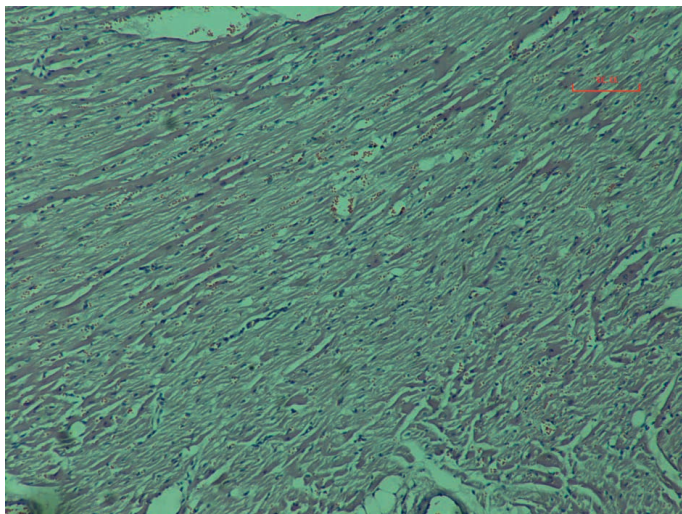


Рис. 2.4.3.2. Микрофотография сердца кролика контрольной группы.
Окраска гематоксилин-эозином. Ув. $\times 200$

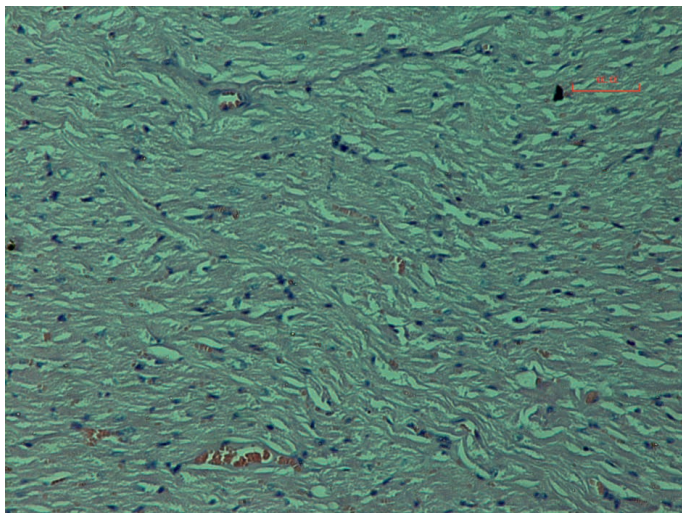


Рис. 2.4.3.3. Микрофотография сердца кролика, получавшего «Бисфенол-5» в дозе 0,5 мг/кг.
Окраска гематоксилин-эозином. Ув. $\times 200$

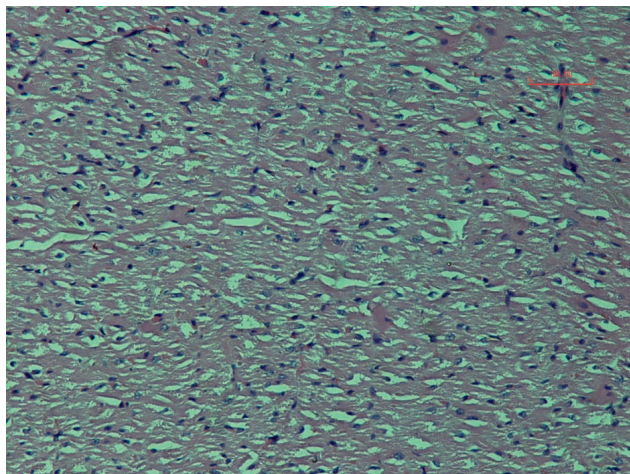


Рис. 2.4.3.4. Микрофотография сердца кролика, получавшего «Бисфенол-5» в дозе 5 мг/кг. Окраска гематоксилин-эозином. Ув. $\times 200$

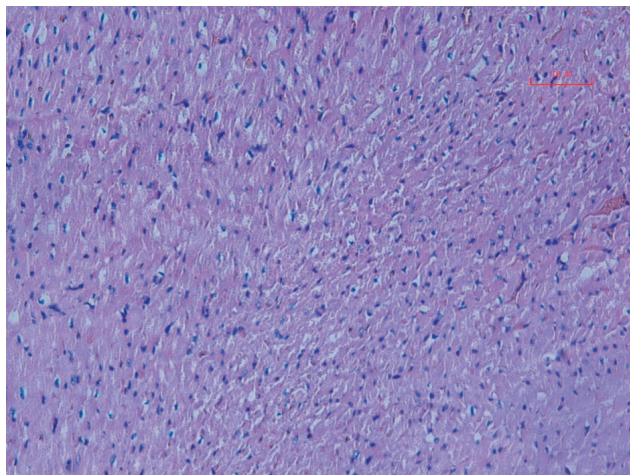


Рис. 2.4.3.5. Микрофотография сердца кролика, получавшего «Бисфенол-5» в дозе 200 мг/кг. Окраска гематоксилин-эозином. Ув. $\times 200$

Масса легких кроликов, получавших «Бисфенол-5», в дозе 0,5 мг/кг была ниже по сравнению с контрольной группой на 1,9%, в дозе

5 мг/кг ниже контроля на 8,9%, в дозе 200 мг/кг – выше на 11,0% (рис. 2.4.3.6). Строение легочных ацинусов у животных всех групп было без изменений (рис. 2.4.3.7–2.4.3.10).

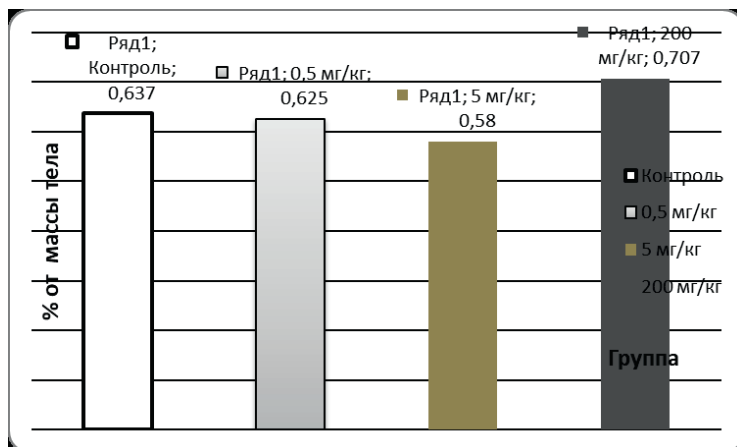


Рис. 2.4.3.6. Масса легких кроликов при длительном внутрижелудочном введении препарата «Бисфенол-5»

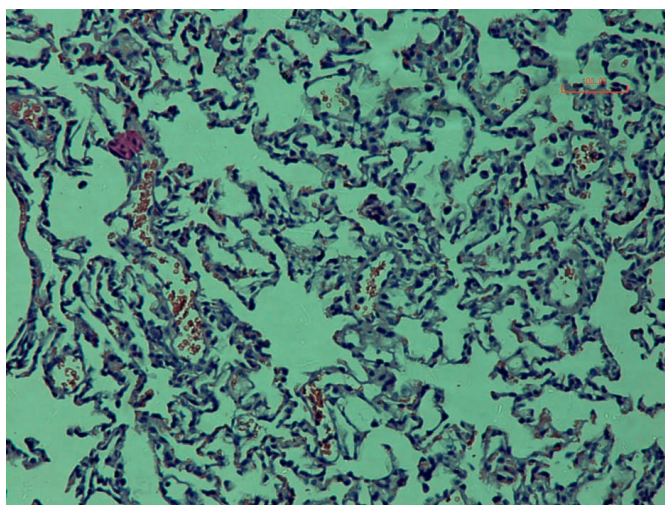


Рис. 2.4.3.7. Микрофотография легкого кролика контрольной группы. Окраска гематоксилин-эозином. Ув. ×200

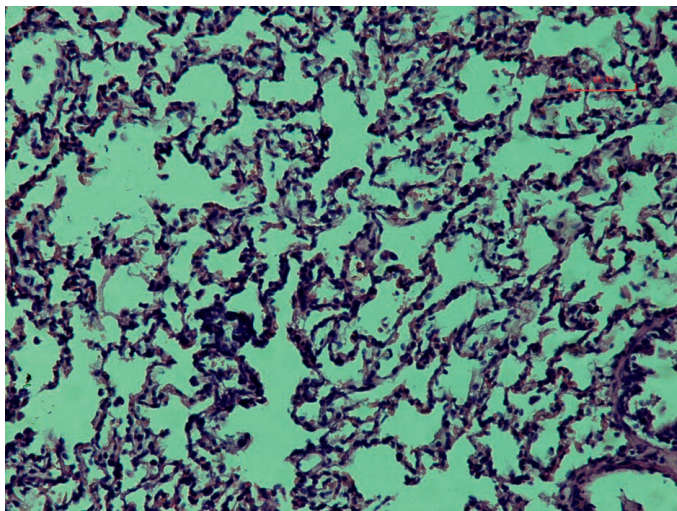


Рис. 2.4.3.8. Микрофотография легкого кролика, получавшего «Бисфенол-5» в дозе 0,5 мг/кг. Окраска гематоксилин-эозином. Ув. $\times 200$

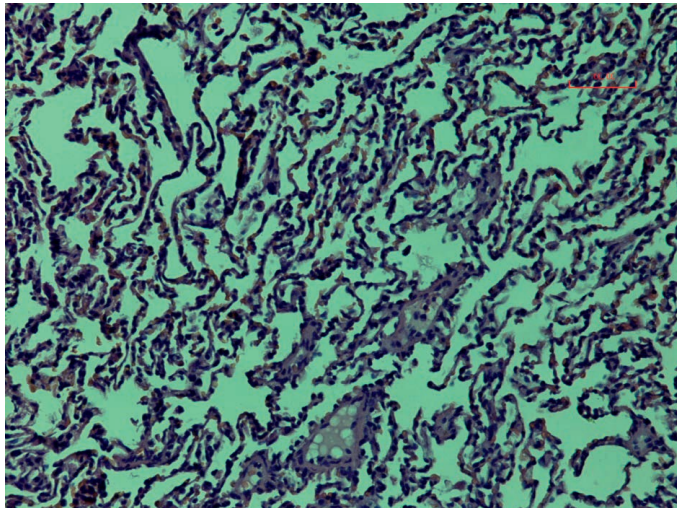


Рис. 2.4.3.9. Микрофотография легкого кролика, получавшего «Бисфенол-5» в дозе 5 мг/кг. Окраска гематоксилин-эозином. Ув. $\times 200$

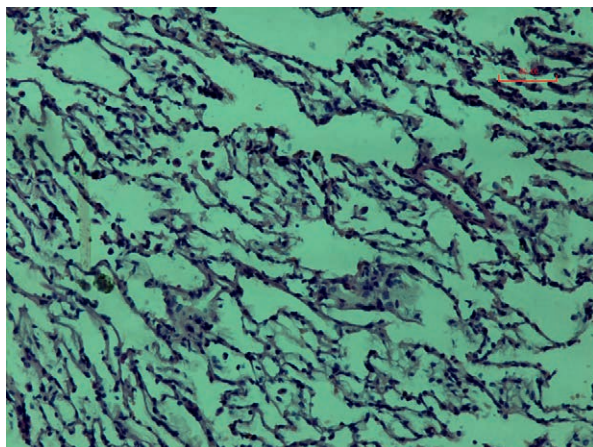


Рис. 2.4.3.10. Микрофотография легкого кролика, получавшего «Бисфенол-5» в дозе 200 мг/кг. Окраска гематоксилин-эозином. Ув. ×200

Масса селезенки кроликов, получавших «Бисфенол-5», в дозах 0,5 и 5 мг/кг была выше по сравнению с контрольной группой на 3,8%, в дозе 200 мг/кг – выше на 5,7% (рис. 2.4.3.11). Соотношение белой и красной пульпы у животных опытных и контрольной групп не имело отличий (рис. 2.4.3.12–2.4.3.15).

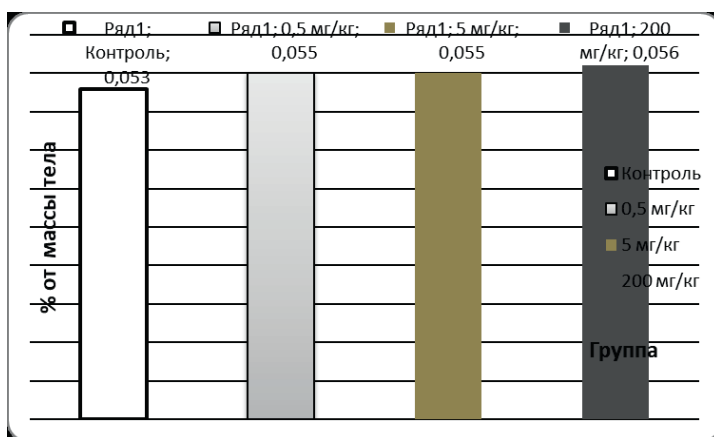


Рис. 2.4.3.11. Масса селезенки кроликов при длительном внутрижелудочном введении препарата «Бисфенол-5»

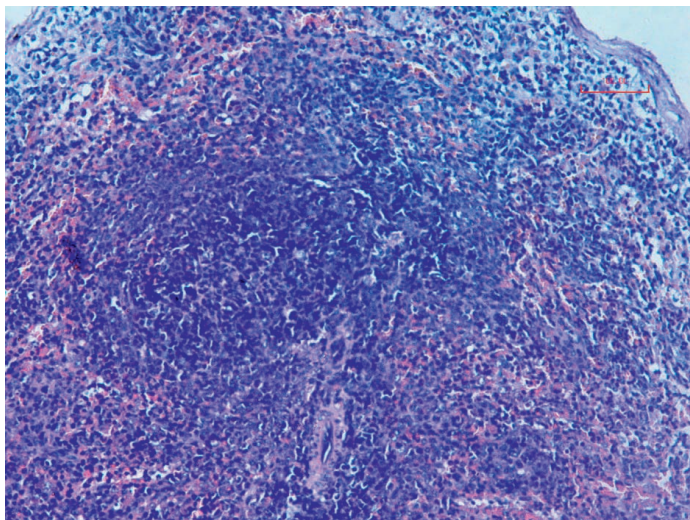


Рис. 2.4.3.12. Микрофотография селезенки кролика контрольной группы.
Окраска гематоксилин-эозином. Ув. $\times 200$

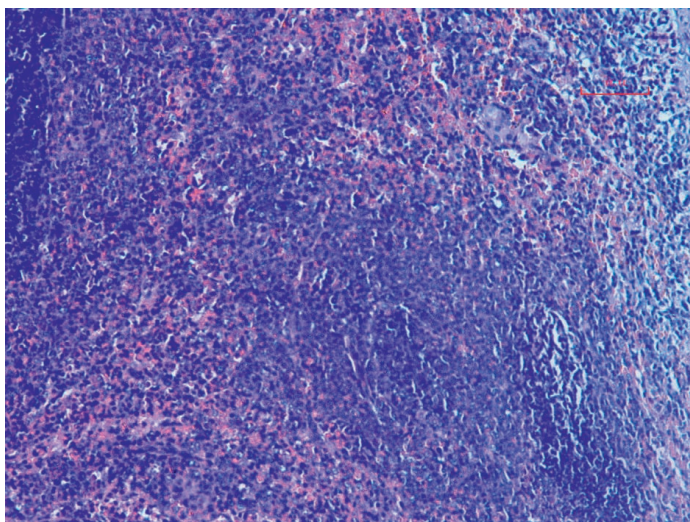


Рис. 2.4.3.13. Микрофотография селезенки кролика, получавшего «Бисфенол-5» в дозе 0,5 мг/кг.
Окраска гематоксилин-эозином. Ув. $\times 200$

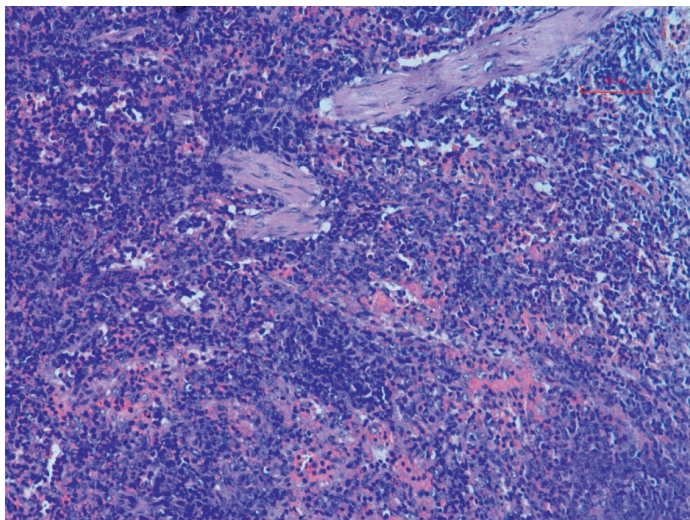


Рис. 2.4.3.14. Микрофотография селезенки кролика, получавшего «Бисфенол-5» в дозе 5 мг/кг. Окраска гематоксилин-эозином. Ув. $\times 200$

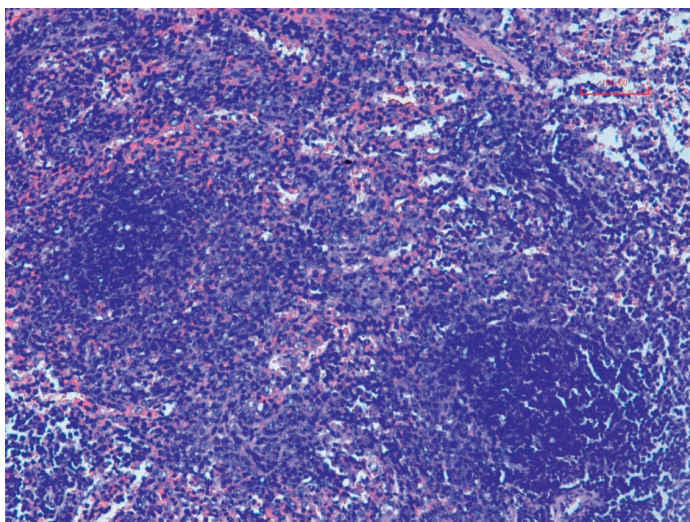


Рис. 2.4.3.15. Микрофотография селезенки кролика, получавшего «Бисфенол-5» в дозе 200 мг/кг. Окраска гематоксилин-эозином. Ув. $\times 200$

Масса печени кроликов, получавших «Бисфенол-5», в дозе 0,5 мг/кг была ниже по сравнению с контрольной группой на 12,8%, в дозе 5 и 200 мг/кг – ниже контроля на 8,9 и 14,1% (рис. 2.4.3.16). Строение печеночных долей и гепатоцитов у животных, получавших «Бисфенол-5», не имело отличий от контроля (рис. 2.4.3.17–2.4.3.20).

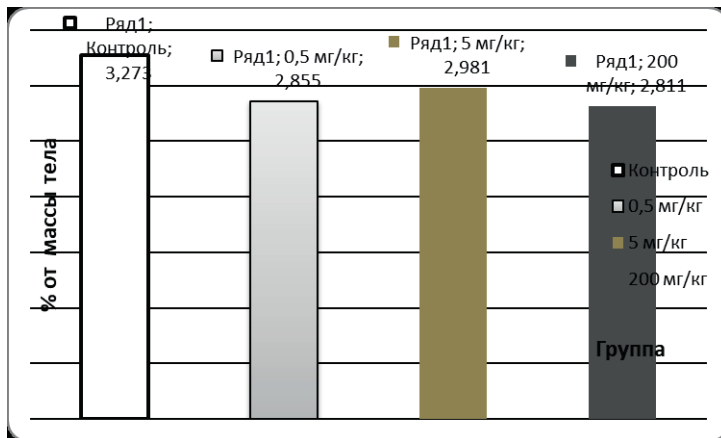


Рис. 2.4.3.16. Масса печени кроликов при длительном внутрижелудочном введении препарата «Бисфенол-5»

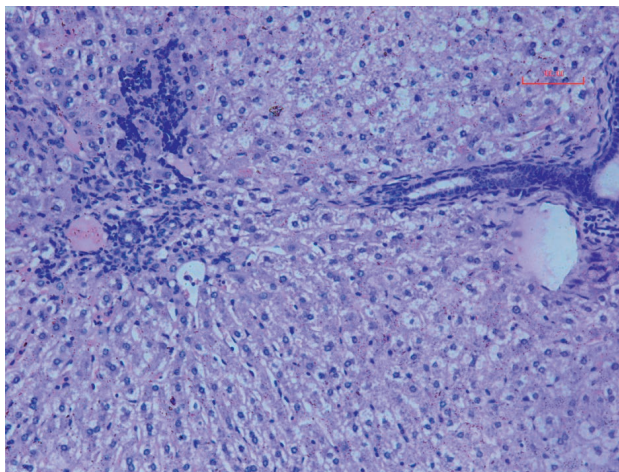


Рис. 2.4.3.17. Микрофотография печени кролика контрольной группы. Окраска гематоксилин-эозином. Ув. ×200

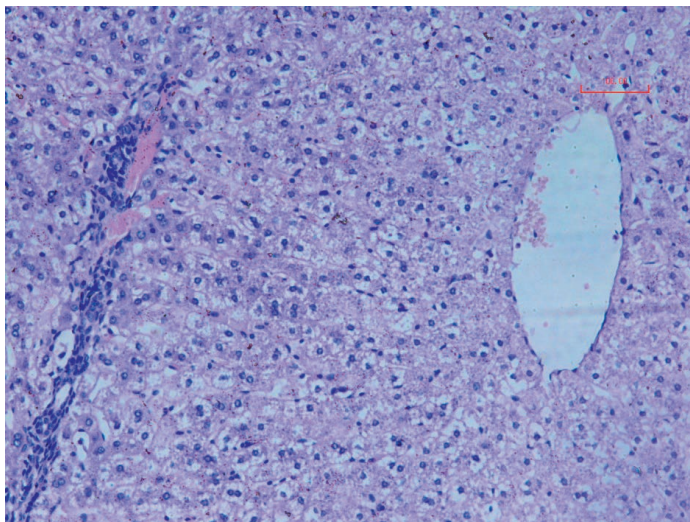


Рис. 2.4.3.18. Микрофотография печени кролика, получавшего «Бисфенол-5» в дозе 0,5 мг/кг. Окраска гематоксилин-эозином. Ув. $\times 200$

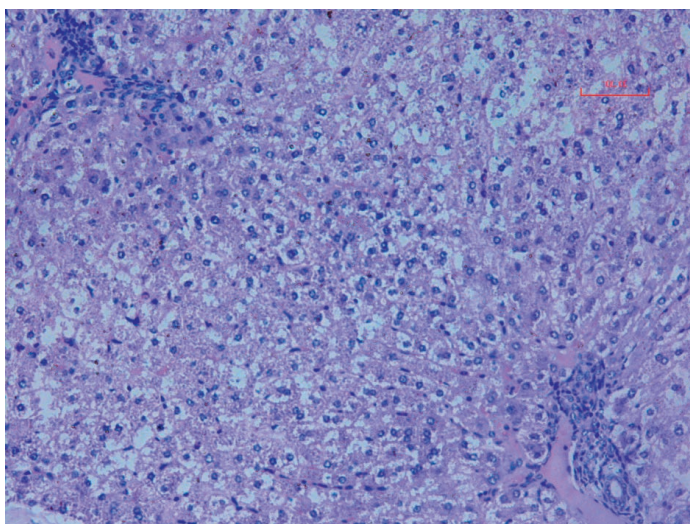


Рис. 2.4.3.19. Микрофотография печени кролика, получавшего «Бисфенол-5» в дозе 5 мг/кг. Окраска гематоксилин-эозином. Ув. $\times 200$.

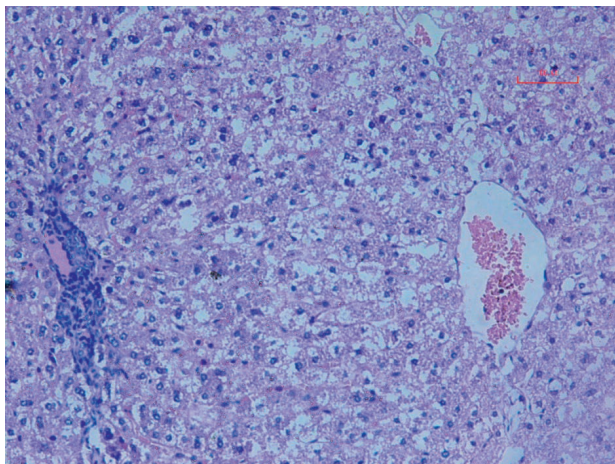


Рис. 2.4.3.20. Микрофотография печени кролика, получавшего «Бисфенол-5» в дозе 200 мг/кг. Окраска гематоксилин-эозином. Ув. $\times 200$

Масса надпочечников кроликов, получавших «Бисфенол-5», в дозах 0,5; 5 и 200 мг/кг была ниже по сравнению с контрольной группой на 10,7; 14,3 и 7,1%, соответственно (рис. 3.4.3.21). У животных всех групп строение коркового вещества: клубочковой, пучковой и сетчатой зон не имело отличий (рис. 3.4.3.22–3.4.3.25).

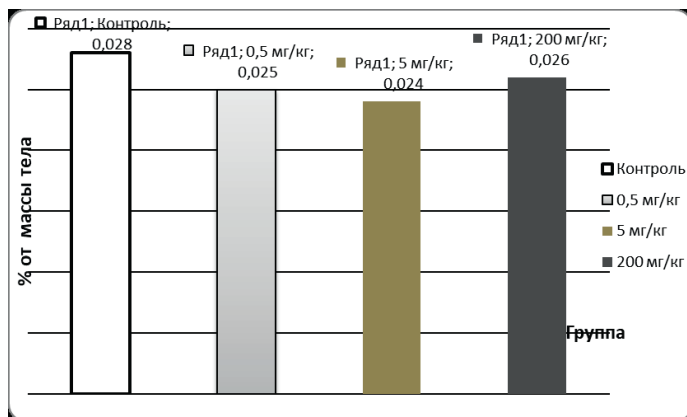


Рис. 2.4.3.21. Масса надпочечников кроликов при длительном внутрижелудочном введении препарата «Бисфенол-5»

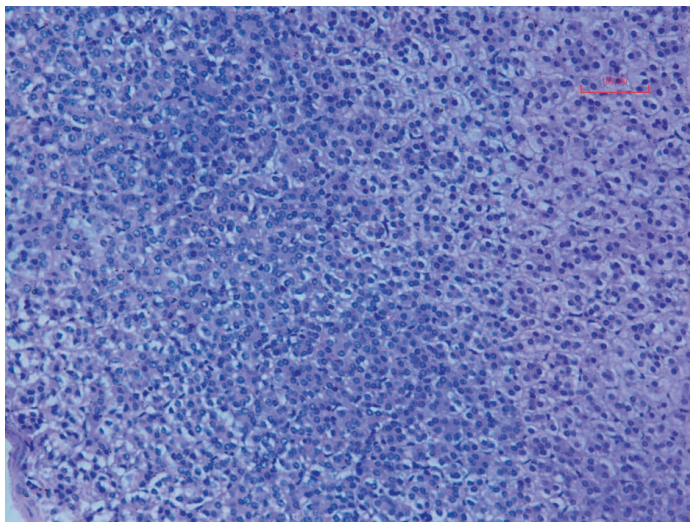


Рис. 2.4.3.22. Микрофотография надпочечника кролика контрольной группы.
Окраска гематоксилин-эозином. Ув. $\times 200$

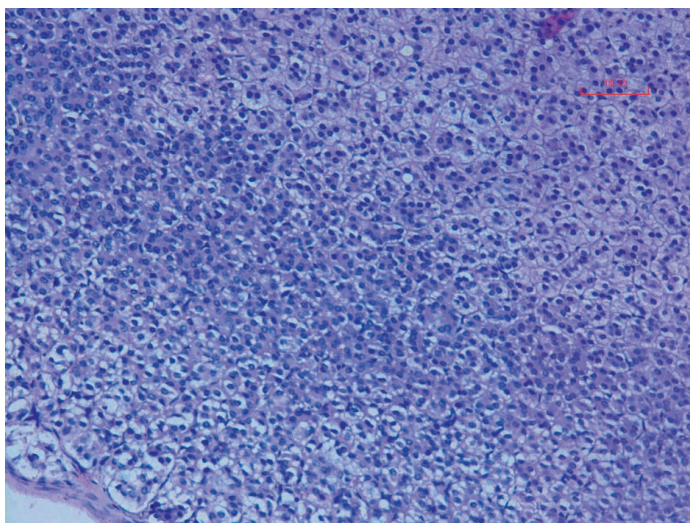


Рис. 2.4.3.23. Микрофотография надпочечника кролика, получавшего «Бисфенол-5» в дозе 0,5 мг/кг.
Окраска гематоксилин-эозином. Ув. $\times 200$

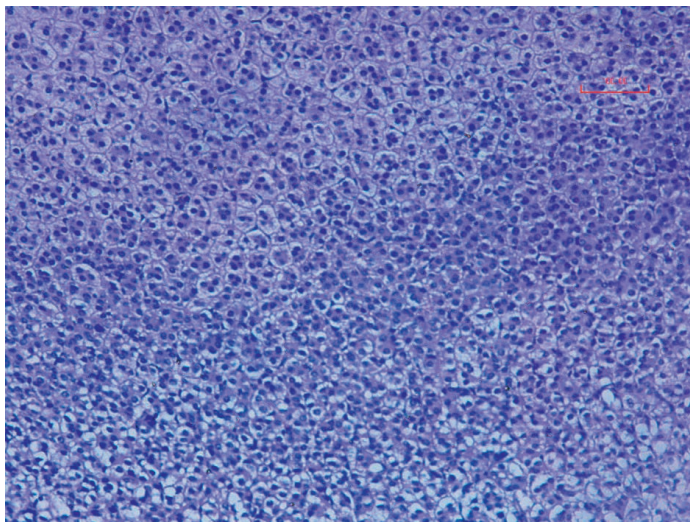


Рис. 2.4.3.24. Микрофотография надпочечника кролика, получавшего «Бисфенол-5» в дозе 5 мг/кг. Окраска гематоксилин-эозином. Ув. $\times 200$

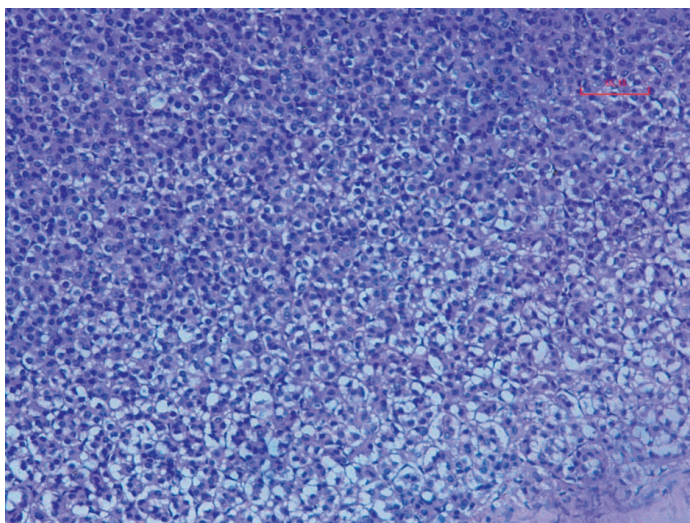


Рис. 2.4.3.25. Микрофотография надпочечника кролика, получавшего «Бисфенол-5» в дозе 200 мг/кг. Окраска гематоксилин-эозином. Ув. $\times 200$

Масса почек кроликов, получавших «Бисфенол-5», в дозах 0,5; 5 и 200 мг/кг была ниже по сравнению с контрольной группой на 13,2; 10,8 и 12,7%, (рис. 2.4.3.26). Строение почечных телец и эпителия канальцев почек животных не имели отличий (рис. 2.4.3.27-2.4.3.30).

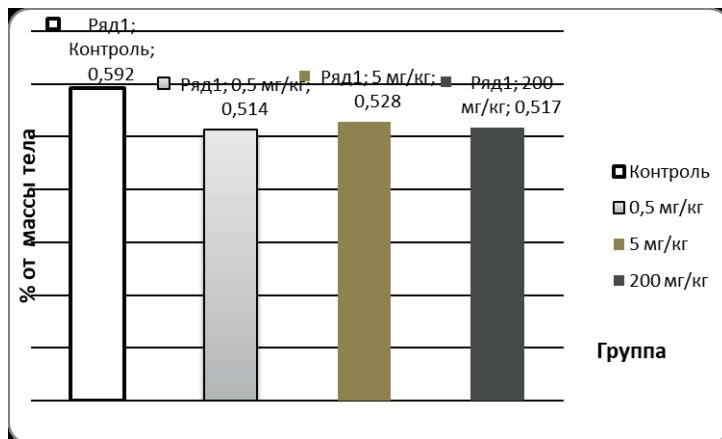


Рис. 2.4.3.26. Масса почек кроликов при длительном внутрижелудочном введении препарата «Бисфенол-5»

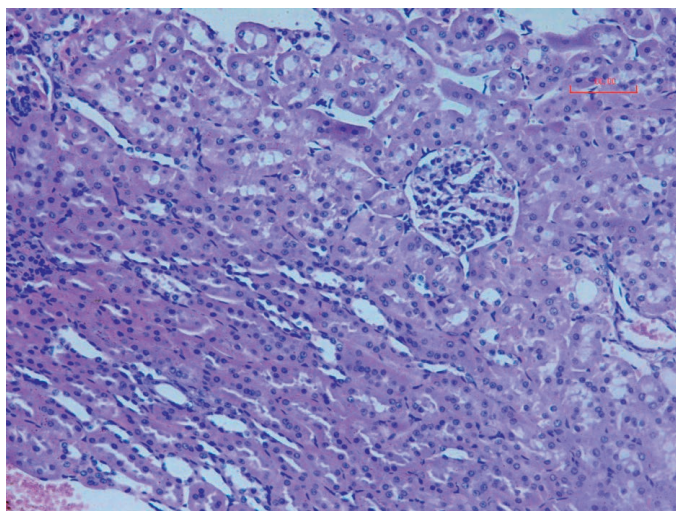


Рис. 2.4.3.27. Микрофотография почки кролика контрольной группы. Окраска гематоксилин-эозином. Ув. $\times 200$

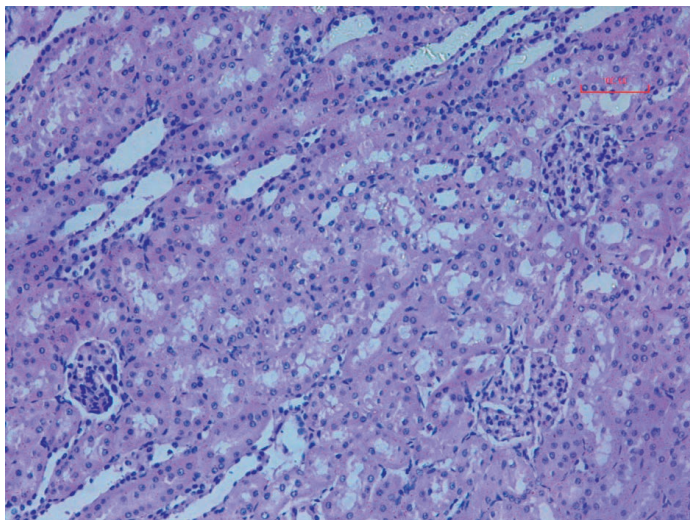


Рис. 2.4.3.28. Микрофотография почки кролика, получавшего «Бисфенол-5» в дозе 0,5 мг/кг. Окраска гематоксилин-эозином. Ув. $\times 200$

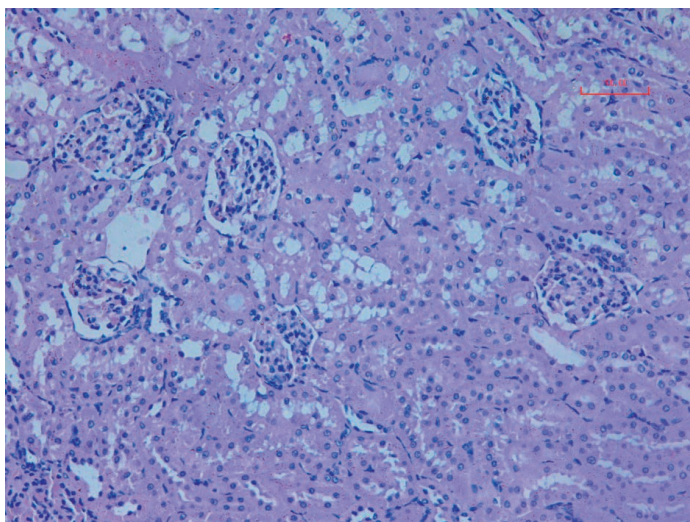


Рис. 2.4.3.29. Микрофотография почки кролика, получавшего «Бисфенол-5» в дозе 5 мг/кг. Окраска гематоксилин-эозином. Ув. $\times 200$

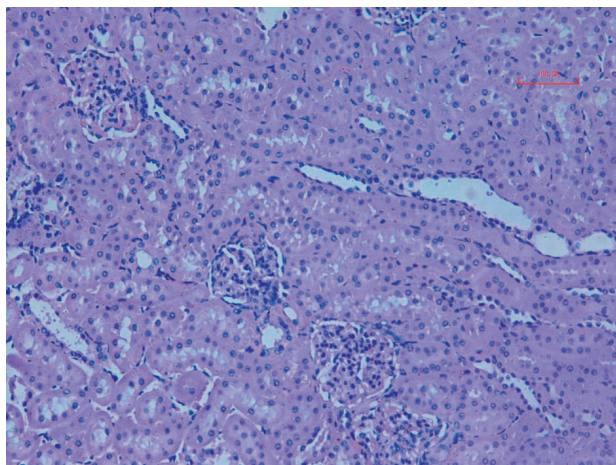


Рис. 2.4.3.30. Микрофотография почки кролика, получавшего «Бисфенол-5» в дозе 200 мг/кг. Окраска гематоксилин-эозином. Ув. ×200

Масса семенников кроликов, получавших «Бисфенол-5», в дозе 0,5 мг/кг была выше по сравнению с контрольной группой на 2,9%, в дозе 5 мг/кг ниже контроля на 2,2%, в дозе 200 мг/кг выше на 7,2% (рис. 2.4.3.31). У животных опытных групп строение сперматогенного эпителия не имело отличий с контролем (рис. 2.4.3.32–2.4.3.35).

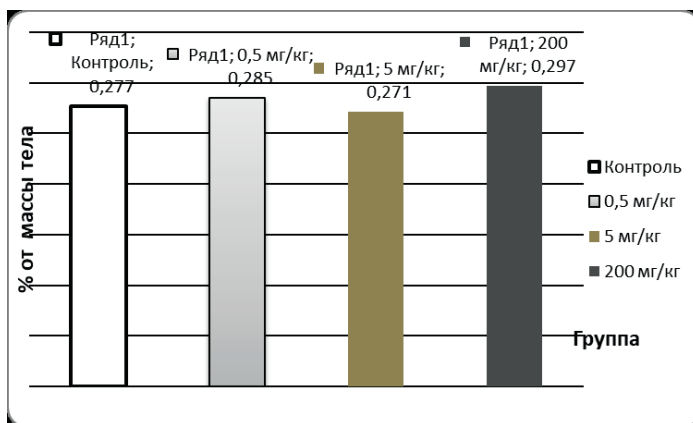


Рис. 2.4.3.31. Масса семенников кроликов при длительном внутрижелудочном введении препарата «Бисфенол-5»

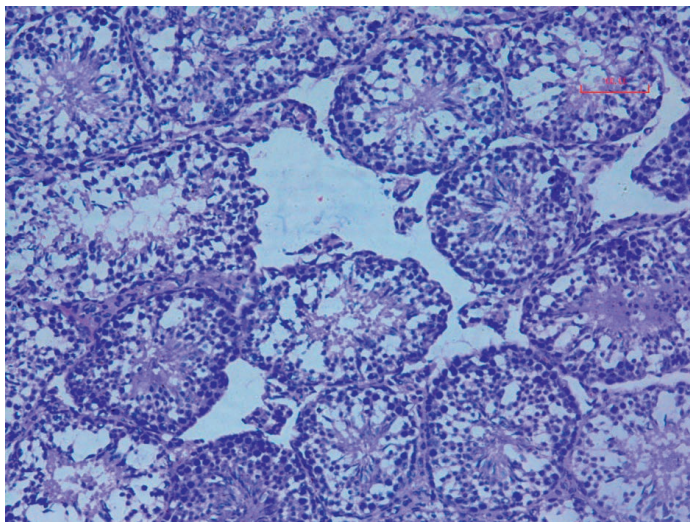


Рис. 2.4.3.32. Микрофотография семенника кролика контрольной группы.
Окраска гематоксилин-эозином. Ув. $\times 200$

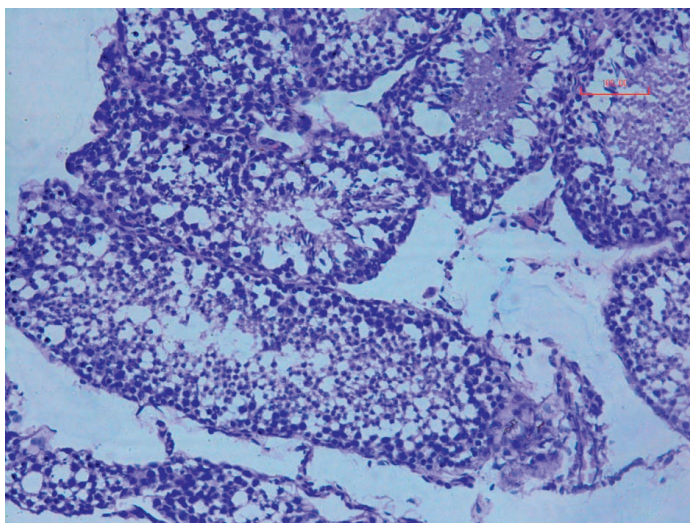


Рис. 2.4.3.33. Микрофотография семенника кролика, получавшего «Бисфенол-5» в дозе 0,5 мг/кг.
Окраска гематоксилин-эозином. Ув. $\times 200$

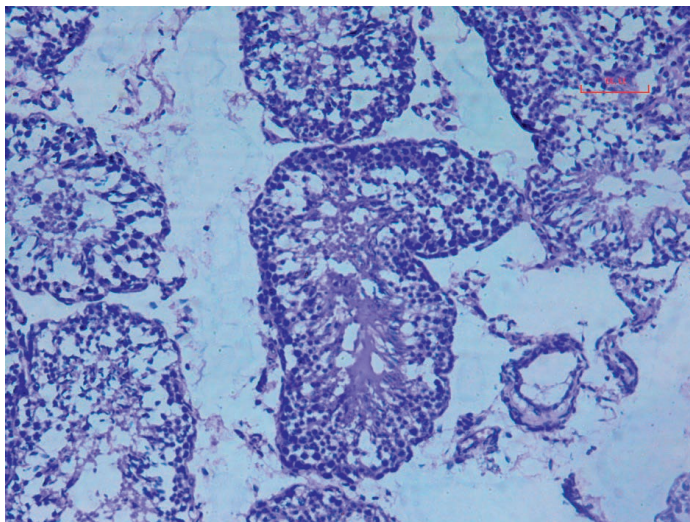


Рис. 2.4.3.34. Микрофотография семенника кролика, получавшего «Бисфенол-5» в дозе 5 мг/кг. Окраска гематоксилин-эозином. Ув. $\times 200$

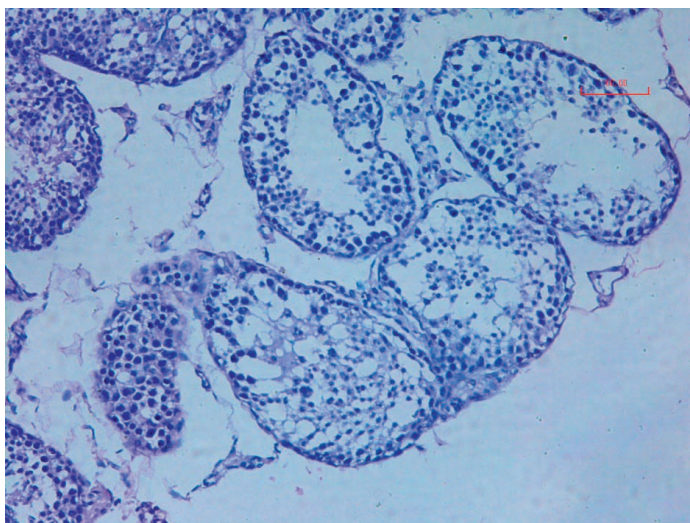


Рис. 2.4.3.35. Микрофотография семенника кролика, получавшего «Бисфенол-5» в дозе 200 мг/кг. Окраска гематоксилин-эозином. Ув. $\times 200$

Масса яичников кроликов, получавших «Бисфенол-5», в дозе 0,5 мг/кг была одинаковой с контрольной группой, в дозе 5 мг/кг ниже контроля на 5,6%, в дозе 200 мг/кг выше на 11,1% (рис. 2.4.3.36). В яичниках опытных животных определяются фолликулы на разных стадиях созревания, что соответствует морфологической картине контрольных животных (рис. 2.4.3.37–2.4.3.40).

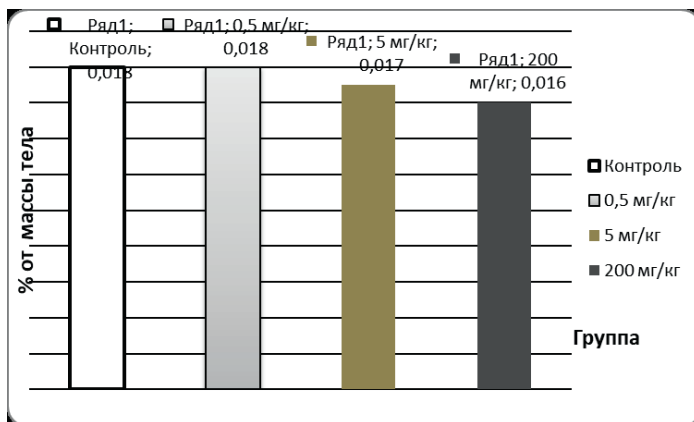


Рис. 2.4.3.36. Масса яичников кроликов при длительном внутривенном введении препарата «Бисфенол-5»

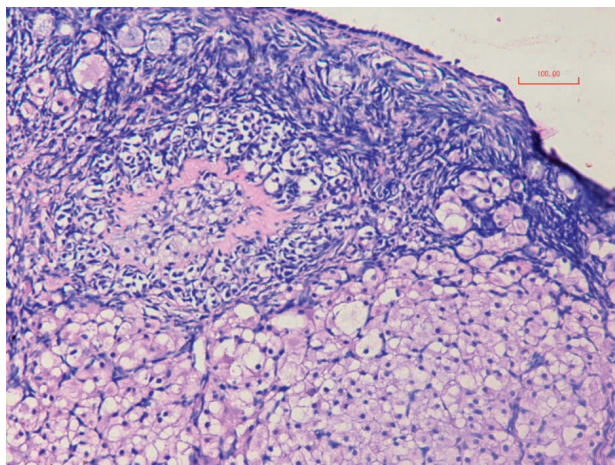


Рис. 2.4.3.37. Микрофотография яичника кролика контрольной группы. Окраска гематоксилин-эозином. Ув. ×200

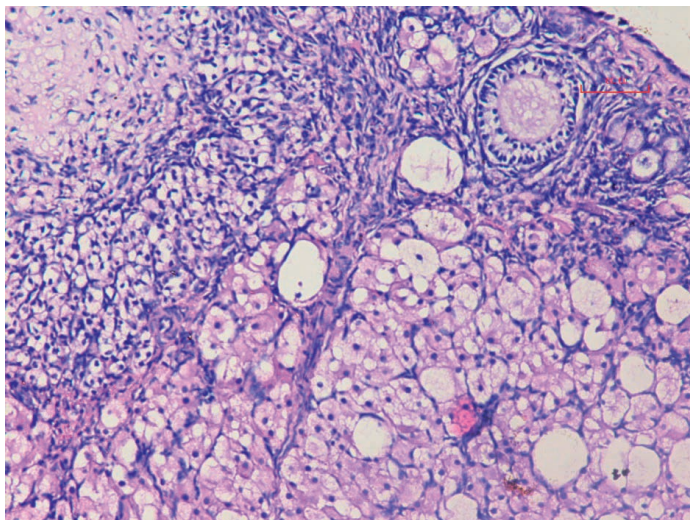


Рис. 2.4.3.38. Микрофотография яичника кролика, получавшего «Бисфенол-5» в дозе 0,5 мг/кг. Окраска гематоксилин-эозином. Ув. $\times 200$

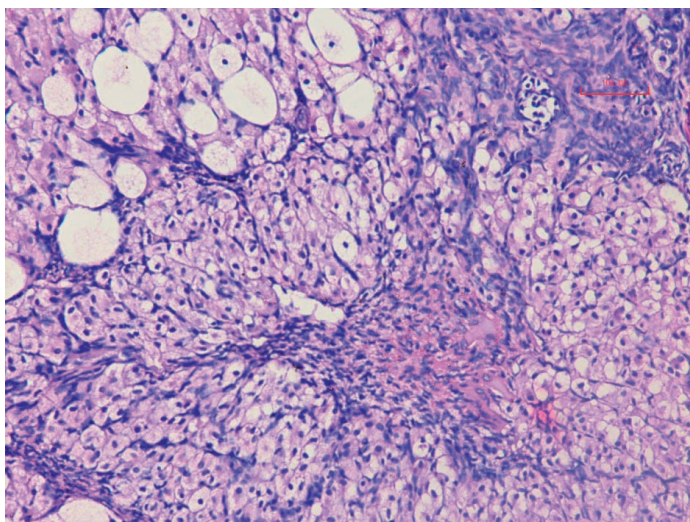


Рис. 2.4.3.39. Микрофотография яичника кролика, получавшего «Бисфенол-5» в дозе 5 мг/кг. Окраска гематоксилин-эозином. Ув. $\times 200$.

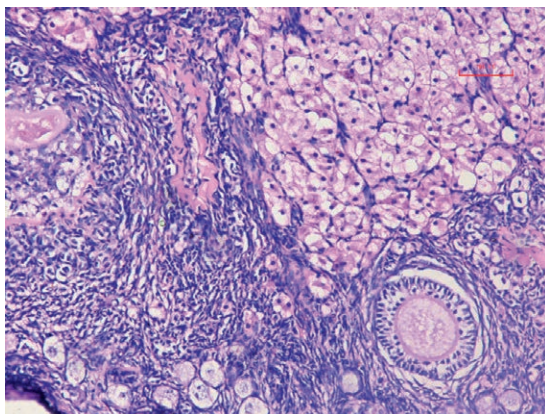


Рис. 2.4.3.40. Микрофотография яичника кролика, получавшего «Бисфенол-5» в дозе 200 мг/кг. Окраска гематоксилин-эозином. Ув. ×200

Масса головного мозга кроликов, получавших «Бисфенол-5», в дозе 0,5 мг/кг была выше по сравнению с контрольной группой на 2,9%, в дозе 5 мг/кг ниже контроля на 5,8%, в дозе 200 мг/кг ниже на 12,2% (рис. 2.4.3.41). Микрофотографии указывают на то, что строение слоёв коры головного мозга у подопытных животных не имело изменений, нейроны находились в интактном состоянии (рис. 2.4.3.42–2.4.3.45).

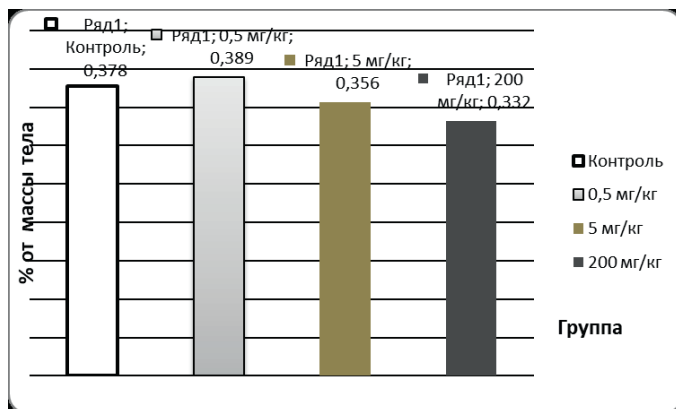


Рис. 2.4.3.41. Масса головного мозга кроликов при длительном внутрижелудочном введении препарата «Бисфенол-5»

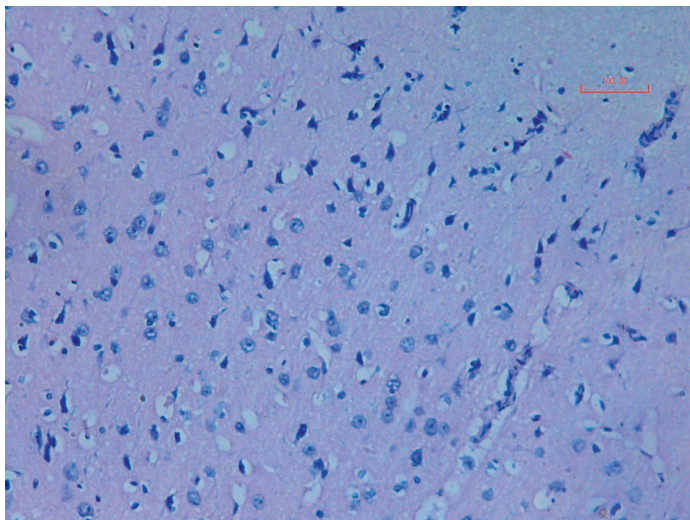


Рис. 2.4.3.42. Микрофотография головного мозга кролика контрольной группы.
Окраска гематоксилин-эозином. Ув. $\times 200$

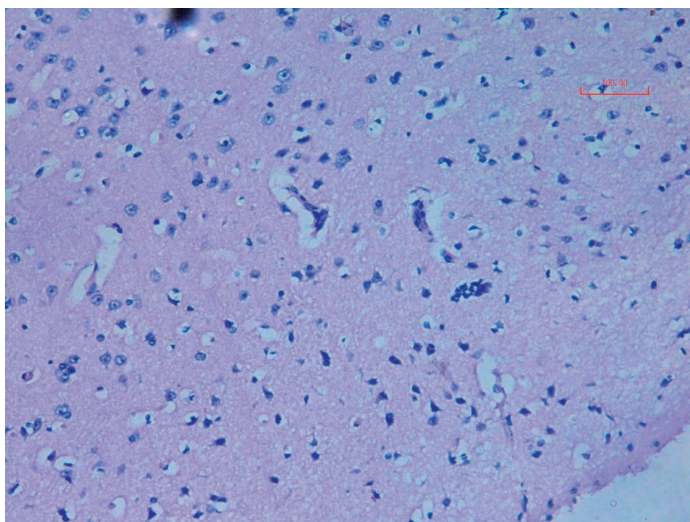


Рис. 2.4.3.43. Микрофотография головного мозга кролика, получавшего «Бисфенол-5» в дозе 0,5 мг/кг.
Окраска гематоксилин-эозином. Ув. $\times 200$

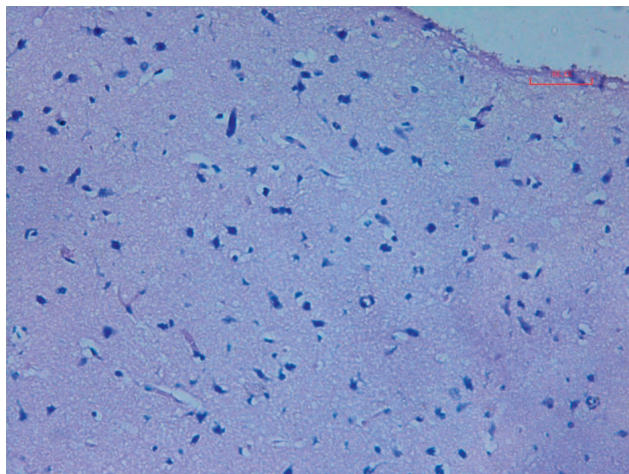


Рис. 2.4.3.44. Микрофотография головного мозга кролика, получавшего «Бисфенол-5» в дозе 5 мг/кг. Окраска гематоксилин-эозином. Ув. $\times 200$

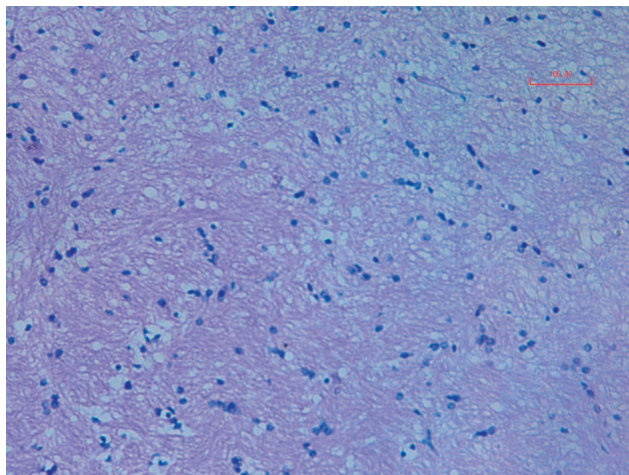


Рис. 2.4.3.45. Микрофотография головного мозга кролика, получавшего «Бисфенол-5» в дозе 200 мг/кг. Окраска гематоксилин-эозином. Ув. $\times 200$

Строение слизистой оболочки желудка у животных опытных и контрольной групп не имело отличий. В железах определялось схожее

количество главных, париетальных, слизистых и энтероэндокринных клеток (рис. 2.4.3.46–2.4.3.49).

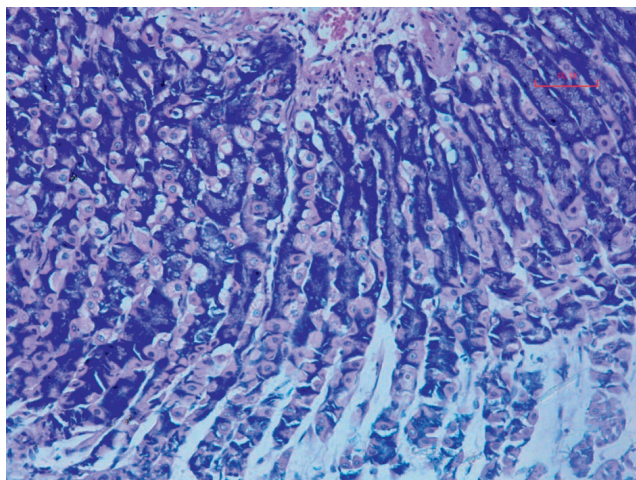


Рис. 2.4.3.46. Микрофотография желудка кролика контрольной группы. Окраска гематоксилин-эозином. Ув. $\times 200$

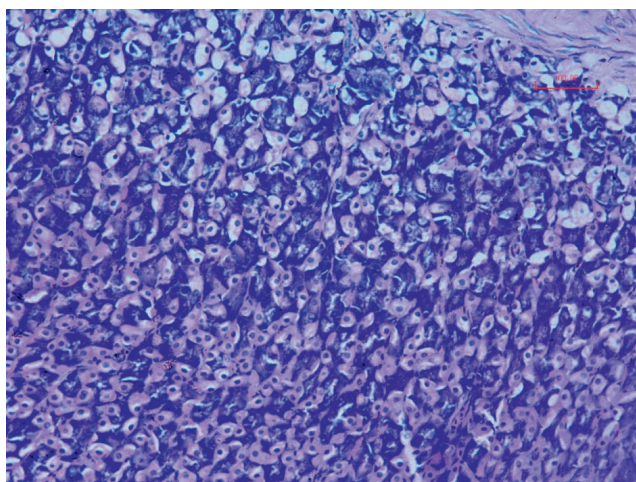


Рис. 2.4.3.47. Микрофотография желудка кролика, получавшего «Бисфенол-5» в дозе 0,5 мг/кг. Окраска гематоксилин-эозином. Ув. $\times 200$

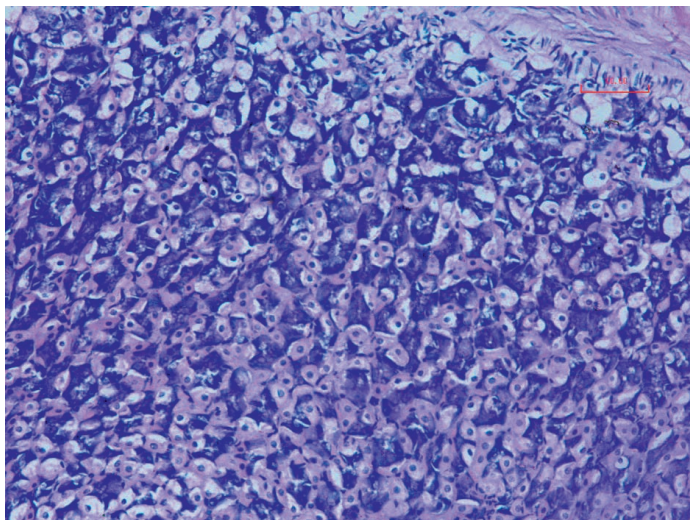


Рис. 2.4.3.48. Микрофотография желудка кролика, получавшего «Бисфенол-5» в дозе 5 мг/кг. Окраска гематоксилин-эозином. Ув. $\times 200$.

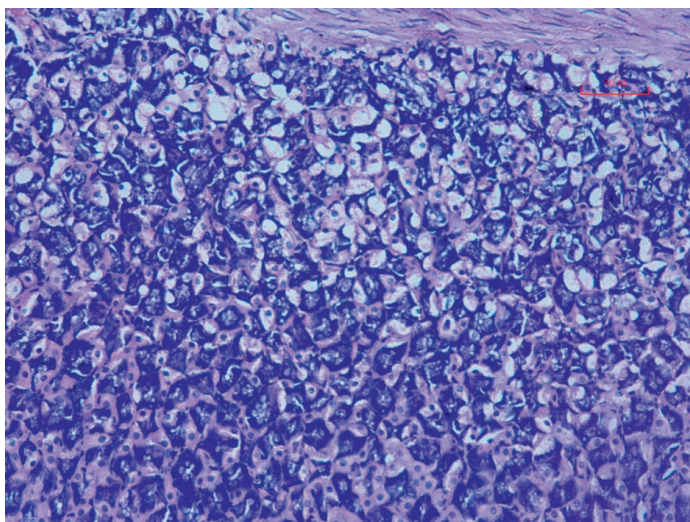


Рис. 2.4.3.49. Микрофотография желудка кролика, получавшего «Бисфенол-5» в дозе 200 мг/кг. Окраска гематоксилин-эозином. Ув. $\times 200$

Таким образом, длительное внутрижелудочное введение препарата «Бисфенол-5» в дозах 0,5; 5 и 200 мг/кг не оказывало отрицательного влияния, в сравнении с контролем, на клинический статус, гематологические, биохимические и иммунологические показатели крови. Вскрытие животных, получавших «Бисфенол-5», не выявило выраженных изменений во внутренних органах и тканях.

2.5. ИССЛЕДОВАНИЕ РЕПРОДУКТИВНОЙ ТОКСИЧНОСТИ ПРЕПАРАТА «БИСФЕНОЛ-5» НА КРЫСАХ

2.5.1. Оценка эмбриотоксического действия препарата «Бисфенол-5» на крысах

Определение репродуктивной токсичности проводили на 24 самках белых крыс половозрелого возраста, разделенных на две группы по 12 в каждой, живой массы 180-220 г. Первая группа служила биологическим контролем. Вторая группа внутрижелудочно получала в масляном растворе исследуемый препарат в дозе 5 мг/кг живой массы тела. Животным препарат вводили с 1 по 19 сутки беременности. На 20-й день беременности посредством декапитации умерщвляли по 6 крыс из каждой группы, определяли предимплантационную и постимплантационную гибель эмбрионов, общую эмбриональную смертность, нарушения формирования скелетной системы и внутренних органов.

Результаты изучения эмбриотоксических свойств препарата «Бисфенол-5» на крысах представлены в табл. 2.5.1.1.

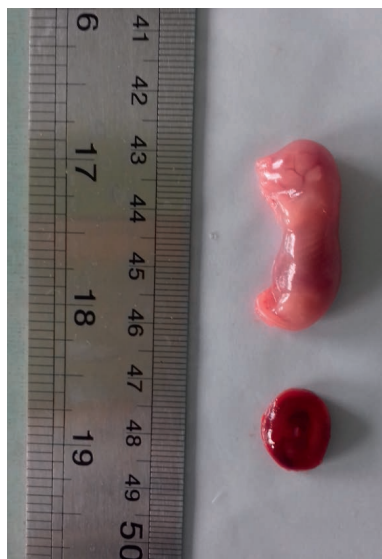
Согласно данным табл. 2.5.1.1 предимплантационная гибель в группе крыс, получавшей препарат «Бисфенол-5», была выше на 2,55 процентных пункта, чем в контроле. Постимплантационная гибель в опытной и контрольной группах была одинакова. Общая эмбриональная смертность в группе крыс, получавшей препарат «Бисфенол-5», была на 2,55 процентных пункта выше по сравнению с контролем. Выживаемость в опытной группе была на 2,9% ниже, чем в контрольной. Краниокаудальный размер и масса плода в группе крыс, получавшей препарат «Бисфенол-5», на 0,6 и 1,2%, соответственно, были ниже по сравнению с контролем.

Таблица 2.5.1.1

Эмбриотоксические свойства препарата «Бисфенол-5»

Показатель	Группа животных	
	контроль	Бисфенол-5
Количество желтых тел	9,83±0,44	8,83±0,66
Количество мест имплантаций	9,00±0,80	7,83±0,82
Количество живых плодов	8,67±1,05	7,50±0,97
Количество мертвых плодов	0,33±0,37	0,33±0,37
Предимплантационная гибель, %	8,70±6,13	11,25±6,07
Постимплантационная гибель, %	4,77±5,22	4,77±5,22
Общая эмбриональная смертность, %	12,03±9,22	14,58±8,96
Выживаемость, %	87,97±9,22	85,42±8,96
Краниокаудальный размер плода, см	2,87±0,17	2,85±0,17
Масса плода, г	1,62±0,22	1,60±0,22

В контрольной и опытной группах плоды были розового цвета, без видимых аномалий развития (рис. 2.5.1.1).



а) контрольная группа



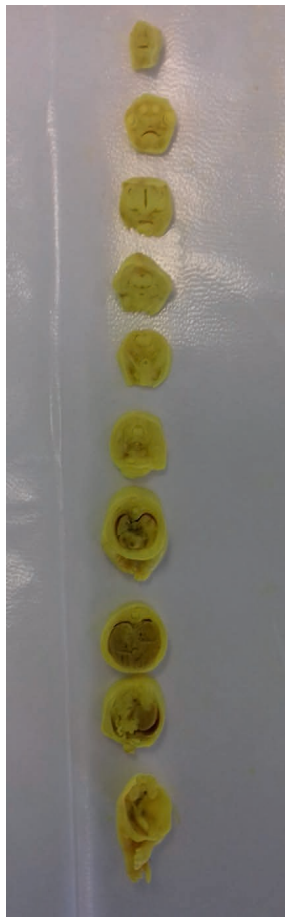
б) опытная группа

Рис. 2.5.1.1. 20-дневные плоды

Внешний осмотр плодов крыс, извлечённых из матки животных всех групп видимых морфологических изменений не выявил. В ходе исследования состояния внутренних органов плодов аномалий развития, а также нарушений их топографии не установлено (рис. 2.5.1.2).



а) контрольная группа



б) опытная группа

Рис. 2.5.1.2. Состояние внутренних органов 20-дневных плодов

Результаты исследования скелета 20-ти дневных плодов приведены в табл. 2.5.1.2 и рис. 2.5.1.3.

Таблица 2.5.1.2

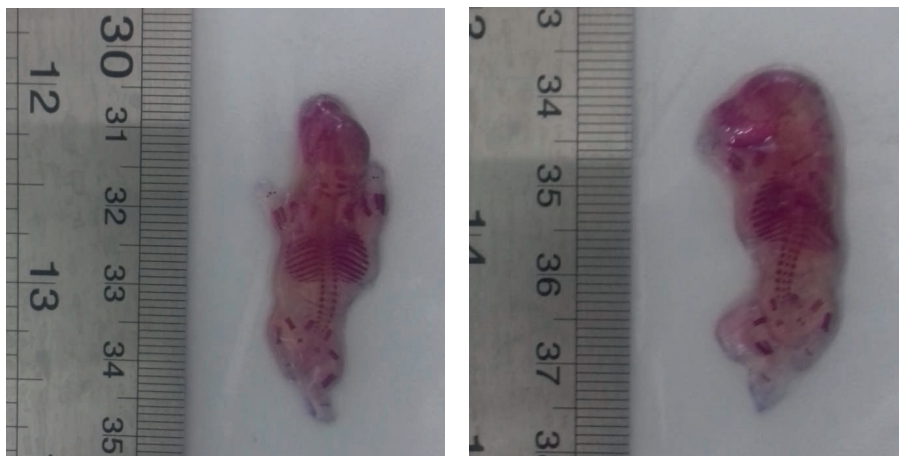
Анатомическое строение плодов крыс

Показатель		Группа	
		контроль	Бисфенол-5
Общее количество позвонков		31,03±0,16	30,83±0,16
Шейные		7,00±0,00	7,00±0,00
Грудные		13,00±0,00	13,00±0,00
Поясничные		6,00±0,00	6,00±0,00
Крестцовые		4,50±0,12	4,39±0,14
Хвостовые		0,53±0,06	0,44±0,06
Кости грудины		3,11±0,34	2,83±0,30
Рёбра	слева	13,00±0,00	13,00±0,00
	справа	13,00±0,00	13,00±0,00
Пястные кости	слева	2,89±0,08	2,84±0,08
	справа	2,89±0,08	2,84±0,08
Плюсневые кости	слева	3,00±0,00	3,00±0,00
	справа	3,00±0,00	3,00±0,00

По данным табл. 2.5.1.2 видно, что общее количество позвонков в группе крыс, получавшей препарат «Бисфенол-5», было на 0,5% ниже, чем в контрольной. Количество шейных, грудных и поясничных позвонков у плодов крыс в опытной и контрольной группах было одинаковым. Количество крестцовых и хвостовых позвонков в группе крыс, получавшей препарат «Бисфенол-5», на 2,4 и 17,0% соответственно было ниже, чем в контрольной. Количество ребер и плюсневых костей у плодов крыс в опытной группе было одинаковым с контролем. Количество пястных костей у плодов в группе крыс, получавшей препарат «Бисфенол-5», было на 1,7% ниже, чем в контрольной.

Таким образом, в опыте по исследованию эмбриотоксичности препарата «Бисфенол-5» достоверных отличий между опытной и контрольной группами не выявлено. Внешний осмотр плодов крыс, извлечённых из матки животных всех групп видимых морфологиче-

ских изменений не выявил. В ходе исследования состояния внутренних органов плодов аномалий развития, а также нарушений их топографии не установлено. При изучении состояния скелета плодов аномалий и нарушений в опытной и контрольной группах не обнаружено.



а) контрольная группа

б) опытная группа

Рис. 2.5.1.3. Состояние скелета 20-дневных плодов

2.5.2. Исследование развития потомства самок крыс, получавших препарат «Бисфенол-5»

Постнатальное развитие потомства крыс оценивали в течение первого месяца жизни по числу живых и мертвых новорожденных, динамике массы тела, общему физическому развитию (табл. 2.5.2.1).

Процесс родов у самок контрольной и опытной групп протекал без осложнений. Новорожденные контрольной группы были активны, сосательный рефлекс хорошо развит. Самки в течение всего периода наблюдения активно ухаживали за потомством.

Из табл. 2.5.2.1 видно, что продолжительность беременности самок крыс, получавших препарат «Бисфенол-5», была на 0,7% выше, чем в контроле. Число родившихся крысят в опытной группе было выше контрольной на 4,6%. Мертворождений в группе крыс, получав-

шей препарат «Бисфенол-5», было на 7,1% ниже, чем в контрольной. Краниокаудальный размер крысят обеих групп не имел достоверных отличий (рис. 2.5.2.1–2.5.2.3). Динамика массы тела крысят опытной и контрольной групп была положительной и не имела достоверных отличий. Масса тела крысят опытной группы была выше контрольной: у новорожденных – на 0,5%, в возрасте 3 сут – на 2,0%, 5 сут – на 9,6%, 13 сут – на 20,6%, 21 сут – на 13,5%, 28 сут – на 16,8%. Сроки отлипания ушей и опушения у крысят опытной группы были ниже, чем в контрольной на 4,8 и 6,5% соответственно. Срок прозрения потомства самок крыс, получавших препарат «Бисфенол-5», был на 1,0% выше, чем в контроле. Срок прорезывания резцов у крысят опытной и контрольной групп был одинаковым. Постнатальная смертность потомства к 28 сут в опытной группе была ниже контрольной на 25,4%.

Таблица 2.5.2.1

Результаты исследований развития потомства самок крыс, получавших препарат «Бисфенол-5»

Показатель	Группа животных	
	контроль	Бисфенол-5
Продолжительность беременности, дни	22,67±0,23	22,83±0,18
Число родившихся крысят на самку	7,17±0,59	7,50±0,47
Мертворождения, %	4,23±2,97	3,93±2,73
Масса тела, г		
новорожденные	5,96±0,09	5,99±0,21
3 сут	7,51±0,27	7,65±0,41
5 сут	8,74±0,43	9,59±0,16
13 сут	12,89±0,46	15,55±1,39
21 сут	17,41±0,13	19,76±2,27
28 сут	23,36±0,41	27,28±2,79
Срок отлипания ушей, сут	3,50±0,24	3,33±0,23
Срок опушения, сут	7,67±0,37	7,17±0,18
Срок прозрения, сут	16,83±0,34	17,0±0,28
Срок прорезывания резцов, сут	8,83±0,18	8,83±0,18
Постнатальная смертность к 28 сут, %	12,50±9,35	9,33±4,84

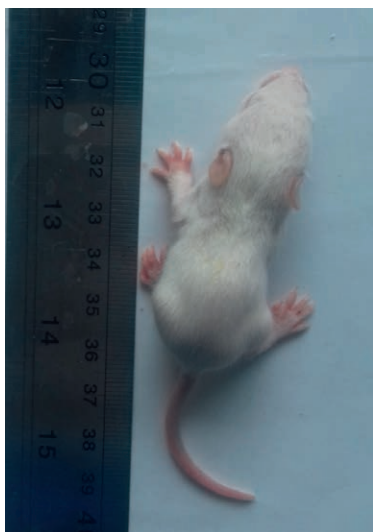


а) контрольная группа

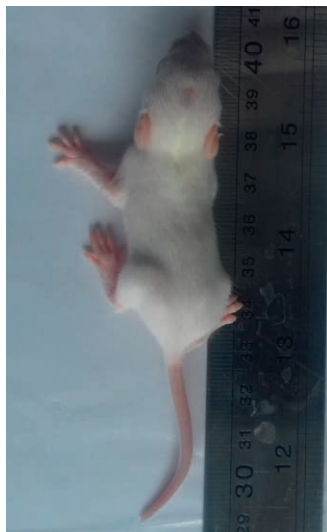


б) опытная группа

Рис. 2.5.2.1. Новорожденные детёныши крыс



а) контрольная группа



б) опытная группа

Рис. 2.5.2.2. Детёныши крыс в 13-дневном возрасте

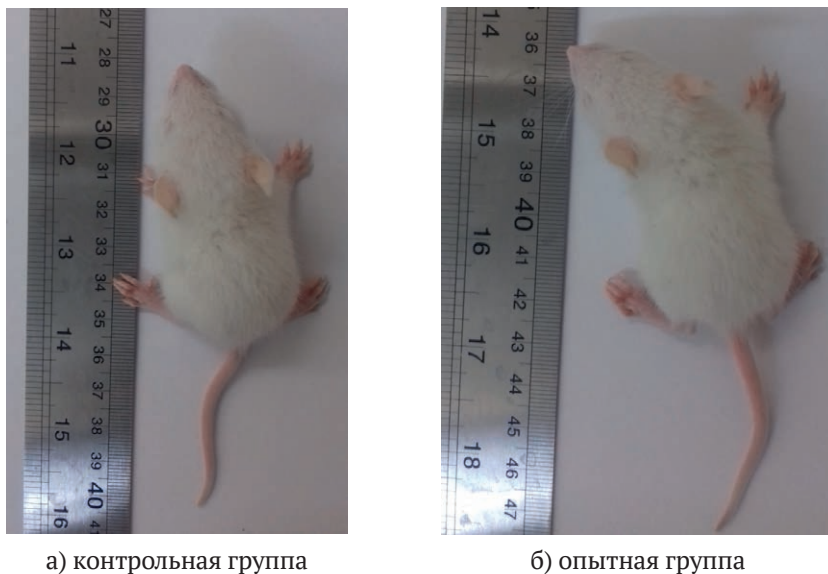


Рис. 2.5.2.3. Детеныши крыс в 21-дневном возрасте

Изучение постнатального развития потомства самок крыс, получавших препарат «Бисфенол-5», и контрольной группы по числу живых и мертвых новорожденных, общему физическому развитию достоверных отличий не выявило. Динамика массы тела крысят опытной и контрольной групп не имела достоверных отличий.

Таким образом, «Бисфенол-5» не обладает репродуктивной токсичностью.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе экспериментов установлено, что значение LD_{50} «Бисфенол-5» для кроликов превышает 2000 мг/кг массы тела. Согласно руководству по проведению доклинических исследований лекарственных средств [9], если из-за низкой токсичности фармакологического вещества нельзя определить LD_{50} , следует указывать, что LD_{50} превышает максимальную введённую дозу, введённую животным, но не менее 2 г/кг. Клиническое состояние животных, получавших препарат «Бисфенол-5», не отличалось от контрольной группы.

Длительное внутрижелудочное введение препарата «Бисфенол-5» в дозах 0,5; 5 и 200 мг/кг не оказывало отрицательного влияния, в сравнении с контролем, на гематологические, биохимические и иммунологические показатели. Вскрытие животных, получавших «Бисфенол-5», не выявило выраженных изменений во внутренних органах и тканях. На основании морфологических исследований показано, что препарат обладает низкой токсичностью.

При изучении репродуктивной токсичности препарата «Бисфенол-5», по показателям эмбриотоксичности, достоверных отличий между опытной и контрольной группами не выявлено. Внешний осмотр плодов крыс, извлечённых из матки животных всех групп видимых морфологических изменений не выявил. В ходе исследования состояния внутренних органов плодов аномалий развития, а также нарушений их топографии не установлено. При изучении состояния скелета плодов аномалий и нарушений в опытной и контрольной группах не обнаружено.

Изучение постнатального развития потомства самок крыс, получавших препарат «Бисфенол-5», и контрольной группы по числу живых и мертвых новорожденных, общему физическому развитию достоверных отличий не выявило. Динамика массы тела крысят опытной и контрольной групп была положительной и также не имела достоверных отличий.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Ахмадуллин, Р.М. Эффективность 4,4-бис(2,6-ди-*трет*-бутилфенола) при стабилизации изопренового каучука и полипропилена / Р.М. Ахмадуллин, Д.Р. Гатиятуллин, Л.А. Васильев, А.Г. Ахмадуллина, Н.А. Мукменёва, Е.Н. Черезова, М. Yang // Журнал прикладной химии. – 2015. – Т. 88, № 5. – С. 792–797.

2. Беленький, М.Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта / М.Л. Беленький. – Л.: Медицина, 1968. – 151 с.

3. Гуськова, Т.А. Токсикология лекарственных средств / Т.А. Гуськова. – М.: Медицина, 2008. – 196 с.

4. Зенков, Н.К. Фенольные биоантиоксиданты / Н.К. Зенков, Н.В. Кандалинцева, В.З. Ланкин, Е.Б. Меньщикова, А.Е. Просенко. – Новосибирск: СО РАМН, 2003. – 328 с.

5. Общая токсикология / под ред. Б.А. Курляндского, В.А. Филова. – М.: Медицина, 2002. – 606 с.

6. Липперт, Г. Международная система единиц в медицине / Г. Липперт. – М.: Медицина, 1980. – 208 с.

7. Лабораторные методы исследования в клинике: справочник / под ред. В.В. Меньшикова. – М.: Медицина, 1987. – 368 с.

8. Миронов, А.Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / А.Н. Миронов, Н.Д. Бунятян, А.Н. Васильев и др. – М.: Гриф и К, 2012. – 944 с. – ISBN 978-5-8125-1592-1.

9. Проблема нормы в токсикологии / под ред. И.М. Трахтенберга. – М.: Медицина, 1991. – 204 с.

10. Derelanko, M.J. Handbook of Toxicology / M.J. Derelanko, M.A. Hollinger. – 2nd ed. – Boca Raton: CRC Press, 2002.

11. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes (ETS No. 123). – Strasbourg: Council of Europe, 1986.

12. Richter, S. Capsule anchoring in *Bacillus anthracis* occurs by a transpeptidation reaction that is inhibited by capsidin / S. Richter, V.J. Anderson, G. Lu, L. Garufi, J.M. Budzik, A. Joachimiak, C. He, O. Schneewind, D. Missiakas // *Molecular Microbiology*. – 2009. – Vol. 71, No. 2. – P. 404–420.

13. Şentürk, M. Carbonic anhydrase inhibitors: inhibition of human erythrocyte isozymes I and II with a series of antioxidant phenols / M. Şentürk, İ. Gülçin, A. Daştan, Ö.İ. Küfrevioğlu, C.T. Supuran // *Bioorganic and Medicinal Chemistry*. – 2009. – Vol. 17, No. 8. – P. 3207–3211.

3. ИССЛЕДОВАНИЕ АЛЛЕРГИЗИРУЮЩИХ И МУТАГЕННЫХ СВОЙСТВ ПРЕПАРАТА «БИСФЕНОЛ-5» НА ЖИВОТНЫХ

3.1. ИССЛЕДОВАНИЕ МЕСТНО-РАЗДРАЖАЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ ПРЕПАРАТА «БИСФЕНОЛ-5» НА КРОЛИКАХ

Изучение влияния на слизистую глаза кроликов показало, что препарат «Бисфенол-5» в испытуемых дозах не вызывает раздражения конъюнктивы, как после инстилляций, так и на протяжении всего периода наблюдения. Покраснения (гиперемии) конъюнктивы, отека века, выделений, слезотечения, помутнения роговицы не отмечали. Результаты изучения местно-раздражающего действия препарата «Бисфенол-5» на глаза кроликов представлены в табл. 3.1.1.

В результате клинических исследований состояния организма кроликов после нанесения препарата «Бисфенол-5» на слизистую оболочку глаза не наблюдали изменений температуры тела, частоты пульса и количества дыхательных движений (табл. 3.1.2).

Общее состояние животных удовлетворительное, поведение соответствует данному виду животных, активное передвижение по клетке, судороги отсутствуют, движения животных скоординированы, реакция на звуковые, тактильные и болевые раздражители сохранена. Шерстный покров гладкий, блестящий, волосяной покров удерживается прочно. Слизистые оболочки бледно-розового цвета, без кровоизлияний и изъязвлений.

Таким образом, в результате исследования установлено отсутствие местно-раздражающего действия препарата «Бисфенол-5» на глаза кроликов.

Таблица 3.1.1

**Результаты изучения местно-раздражающего действия
препарата «Бисфенол-5» на глаза кроликов**

Группы животных	Время, ч	Конъюнктивита			Роговица	
		Покраснение века	Отек века	Выделения	Помутнение	Площадь поражения
Группа 1 (контроль)	1	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует
	6	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует
	24	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует
	48	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует
	72	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует
Группа 2 (2 мг/кг)	96	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует
	1	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует
	6	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует
	24	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует
	48	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует
	72	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует
	96	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует

Окончание табл. 3.1.1

Группы животных	Время, ч	Конъюнктивита				Роговица	
		Покраснение века	Отек века	Выделения	Помутнение	Площадь поражения	
Группа 3 (5 мг/кг)	1	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует	
	6	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует	
	24	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует	
	48	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует	
	72	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует	
	96	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует	
Группа 4 (20 мг/кг)	1	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует	
	6	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует	
	24	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует	
	48	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует	
	72	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует	
	96	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует	

Таблица 3.1.2

**Результаты клинических исследований состояния организма кроликов
после нанесения препарата «Бисфенол-5» на глаза**

Время, через	Препарат, доза											
	Контроль			2 мг/кг			5 мг/кг			20 мг/кг		
	Т, °С	Пульс	Дыхание	Т, °С	Пульс	Дыхание	Т, °С	Пульс	Дыхание	Т, °С	Пульс	Дыхание
До нанесения	39,1±0,4	138,0±2,4	54,8±1,2	38,9±0,2	134,4±3,9	52,1±0,8	39,3±0,2	143,2±1,8	57,5±1,7	39,2±0,3	141,7±2,1	56,9±1,4
15 мин	39,0±0,2	137,8±3,6	55,5±0,8	38,9±0,3	133,9±2,3	52,6±0,5	39,2±0,2	143,4±2,3	57,2±0,9	39,1±0,4	142,1±1,6	57,4±1,0
30 мин	39,0±0,3	137,5±1,9	53,9±1,3	39,0±0,3	133,2±3,5	53,3±0,6	39,2±0,3	143,0±1,4	56,8±1,7	39,2±0,4	141,4±1,3	56,7±1,6
1 ч	38,9±0,2	136,7±2,5	54,2±0,7	39,0±0,2	135,0±2,7	53,8±1,1	39,1±0,4	141,7±2,6	55,4±1,4	39,3±0,2	141,8±1,8	56,0±1,3
2 ч	39,0±0,3	138,3±1,8	55,1±0,9	39,1±0,4	134,7±2,9	54,1±0,7	39,1±0,3	141,5±1,3	56,9±1,9	39,3±0,3	140,4±1,5	55,8±0,9
4 ч	39,1±0,3	136,6±3,0	54,7±1,4	39,0±0,3	134,1±3,4	53,8±0,9	39,4±0,2	142,2±2,0	57,4±1,3	39,0±0,2	142,0±1,1	56,3±1,1
8 ч	38,9±0,2	137,1±2,7	54,4±1,0	39,1±0,3	133,8±2,9	52,7±1,0	39,2±0,3	142,8±2,3	56,2±2,1	39,1±0,3	141,2±1,7	57,1±1,5
24 ч	39,2±0,2	137,9±3,2	55,8±0,8	39,1±0,2	133,2±2,6	52,0±0,8	39,3±0,2	143,1±1,1	56,7±1,7	39,1±0,2	139,7±2,0	56,6±1,2
48 ч	39,0±0,3	138,2±2,8	54,3±1,6	39,0±0,3	135,3±3,3	52,4±0,6	39,1±0,2	142,7±1,5	57,6±1,2	39,2±0,2	140,9±1,4	55,5±1,4

3.2. ИЗУЧЕНИЕ АЛЛЕРГИЗИРУЮЩИХ СВОЙСТВ ПРЕПАРАТА «БИСФЕНОЛ-5» НА ЖИВОТНЫХ

3.2.1. Оценка анафилактогенной активности в реакции общей анафилаксии препарата «Бисфенол-5» на морских свинках

Оценку анафилактогенного действия препарата «Бисфенол-5» проводили в реакциях общей анафилаксии (анафилактический шок) у морских свинок. Морские свинки после прохождения карантина по принципу аналогов были разделены на 4 группы – опытную (2, 20 мг/кг) и контрольную по 8 голов в каждой. Экспериментальных животных первой серии экспериментов сенсibilизировали введением исследуемого соединения в дозе 2 мг/кг (терапевтическая доза) – первая инъекция подкожно, вторая и третья внутримышечно через день. Подопытных животных второй серии экспериментов сенсibilизировали введением препарата в дозе 20 мг/кг (в 10 раз превышающей терапевтическую) по той же схеме. Разрешающую инъекцию препарата вводили внутривенно на 21-й день от начала сенсibilизации. Животным контрольной группы по идентичной методике вводили 2 %-ный раствор спирта (негативный контроль) или 0,26%-ный раствор белка куриного яйца (позитивный контроль). Оценку реакции проводили в индексах по Weigle.

Оценка анафилактогенной активности в реакции общей анафилаксии показала, что тестируемое вещество не вызывает анафилактической реакции у морских свинок опытных и контрольных (негативный контроль) групп. Признаков беспокойства, учащенного дыхания, почесывания мордочки, непроизвольного мочеиспускания, дефекации, а также признаков одышки или судорог, выраженных явлениями бронхоспазма, отмечаемых в случае развития анафилаксии, не наблюдалось.

Общее состояние животных было удовлетворительным, масса животных соответствовала возрастной физиологической норме, изменений поведения и аппетита животных не выявлено. Не обнаружено достоверных различий также в температуре тела и живой массе в контрольных и опытных группах животных. Шерсть не взъерошена,

контактного дерматита не выявлено. Морские свинки не теряли способность удерживаться на лапах, все животные остались живы.

Результаты действия препарата «Бисфенол-5» на интенсивность анафилактического шока у морских свинок представлены в табл. 3.2.1.1.

Таблица 3.2.1.1

**Оценка реакции общей анафилаксии у морских свинок
после введения препарата «Бисфенол-5»**

Группы животных	Количество животных	Индекс реакции по Weigle
Группа 1 (отрицательный контроль)	8	0
Группа 2 (положительный контроль)	8	3,3 ± 0,2
Группа 3 (2 мг/кг)	8	0
Группа 4 (20 мг/кг)	8	0

В группах 3 и 4 инъекция исследуемого вещества в дозах 2 и 20 мг/кг, соответственно, не вызывала проявления анафилактической реакции ни у одного из животных. Индексы по Вейглю для каждого животного были равны 0. Средний индекс по Вейглю в группах 3 и 4 составил 0. Отсутствие анафилактогенной активности наблюдали и в группе 1 (отрицательный контроль), где средний индекс по Вейглю составил 0.

В группе 2 (положительный контроль) у всех морских свинок сенсибилизированных раствором белка куриного яйца развивалась анафилактическая реакция. Средний индекс по Вейглю в группе 2 составил $3,3 \pm 0,2$.

Таким образом, результаты постановки реакции общей анафилаксии (анафилактического шока) свидетельствуют об отсутствии анафилактогенных свойств препарата «Бисфенол-5» как в терапевтической дозе, так и дозе в 10 раз ее превышающей.

3.2.2. Изучение сенсibiliзирующего действия препарата «Бисфенол-5» на морских свинках и кроликах

В первой серии опыта сенсibiliзирующее (раздражающее) действие препарата «Бисфенол-5» определяли методом кожных аппликаций. Морские свинки и кролики после прохождения карантина по принципу аналогов были разделены на 4 группы – опытные (2, 5, 20 мг/кг) и контрольную по 6 голов в каждой. Кожно-сенсibiliзирующее действие препарата изучали путем его многократного нанесения на выстриженные участки спины морских свинок опытной группы. За два дня до начала эксперимента готовили участки спины, избегая механических повреждений кожных покровов. На эпилированную поверхность препарат наносили ежедневно в течение 2-х недель в количестве 2, 5, 20 мг на кг массы тела животного, равномерно распределяя его по всей поверхности. Сенсibiliзирующее действие образца сравнивали с контрольной группой морских свинок или кроликов, которым аналогично применяли вазелиновое масло. Реакцию кожи учитывали по шкале оценки кожных проб, отмечая время, характер и степень изменения кожного покрова.

Исследуя сенсibiliзирующее действие на кожу препарата «Бисфенол-5» при однократном и многократном использовании на морских свинках или кроликах в дозах 2, 5, 20 мг/кг учитывали, что функциональные нарушения кожи характеризуются появлением различной степени выраженности эритемы, отека, трещин, изъязвлений. Кроме того, для установления выраженности воспалительной реакции, до и после нанесения разрешающей дозы вещества проводилось определение изменения температуры кожи, массы животных, а также толщины кожной складки и состояния кожных покровов в месте нанесения препарата.

Оценка степени эритемы и отека суммировалась для каждого подопытного животного, после чего вычислялась средняя оценка выраженности раздражающего эффекта для группы экспериментальных животных.

В результате исследований по изучению сенсibiliзирующего эффекта препарата «Бисфенол-5» при однократной аппликации на кожные покровы животных не было выявлено признаков эритемы, отека и других патологических изменений кожного покрова, темпера-

тура тела в месте нанесения соединения не изменялась. Между контрольной и опытной группами животных отличий не выявлено (табл. 3.2.2.1 и 3.2.2.2).

Таблица 3.2.2.1

**Характеристика сенсibiliзирующего действия
препарата «Бисфенол-5» при однократной
аппликации на кожные покровы морских свинок
и кроликов после 6-часовой экспозиции**

Группы животных	Оценка в баллах		Раздражающий эффект	
	Морские свинки	Кролики	Морские свинки	Кролики
Группа 1 (контроль)	0	0	Отсутствует	Отсутствует
Группа 2 (2 мг/кг)	0	0	Отсутствует	Отсутствует
Группа 3 (5 мг/кг)	0	0	Отсутствует	Отсутствует
Группа 4 (20 мг/кг)	0	0	Отсутствует	Отсутствует

Таблица 3.2.2.2

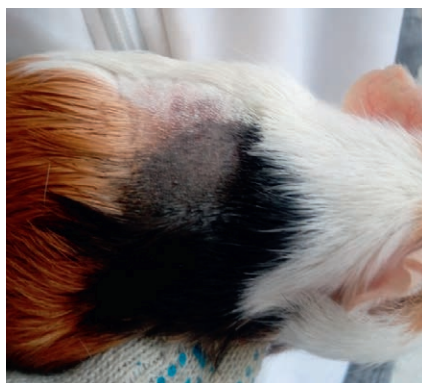
**Влияние препарата «Бисфенол-5»
при однократной аппликации на толщину
кожной складки морских свинок и кроликов (в мм)**

Группы животных	Толщина кожной складки, мм	
	Морские свинки	Кролики
Группа 1 (контроль)	2,31±0,04	3,17±0,09
Группа 2 (2 мг/кг)	2,34±0,05	3,11±0,07
Группа 3 (5 мг/кг)	2,30±0,03	3,14±0,07
Группа 4 (20 мг/кг)	2,37±0,04	3,18±0,08

Опираясь на полученные результаты, обнаружено, что однократное накожное нанесение препарата «Бисфенол-5» в дозах 2, 5, 20 мг/кг

морским свинкам и кроликам не приводит к повреждению их кожи в виде эритемы или отеков.

Результаты исследований по изучению сенсibiliзирующего эффекта препарата «Бисфенол-5» при многократном применении на кожные покровы животных были аналогичными данным, полученным при изучении раздражающего действия препарата при многократном применении (рис. 3.2.2.1).



1



2



3



4

Рис. 3.2.2.1. Оценка сенсibiliзирующего (раздражающего) действия препарата «Бисфенол-5» на кожу морских свинок:

- 1 – вазелиновое масло (контроль); 2 – препарат 2 мг/кг (опыт);
3 – препарат 5 мг/кг (опыт); 4 – препарат 20 мг/кг (опыт)

Таблица 3.2.2.3

**Характеристика сенсibilизирующего действия препарата «Бисфенол-5»
при многократной аппликации на кожные покровы морских свинок и кроликов**

Группы животных	После 10 повторных накожных аппликаций				После 20 повторных накожных аппликаций			
	Оценка в баллах		Раздражающий эффект		Оценка в баллах		Раздражающий эффект	
	Морские свинки	Кролики	Морские свинки	Кролики	Морские свинки	Кролики	Морские свинки	Кролики
Группа 1 (контроль)	0	0	Отсутствует	Отсутствует	0	0	Отсутствует	Отсутствует
Группа 2 (2 мг/кг)	0	0	Отсутствует	Отсутствует	0	0	Отсутствует	Отсутствует
Группа 3 (5 мг/кг)	0	0	Отсутствует	Отсутствует	0	0	Отсутствует	Отсутствует
Группа 4 (20 мг/кг)	0	0	Отсутствует	Отсутствует	0	0	Отсутствует	Отсутствует

Изучение сенсibiliзирующего действия препарата после 10 и 20 повторных на­кожных аппликаций показало, что видимых изменений в виде гиперемии, инфильтрации, шелушения не наблюдалось, что свидетельствует об отсутствии сенсibiliзации организма. Реакция кожи в опытных группах животных не отличалась от контрольных. Полученные результаты по шкале оценки кожных проб соответствуют 0 баллов (табл. 3.2.2.3).

Толщина кожной складки на выстриженных и выбритых участках у морских свинок и кроликов опытных групп также достоверно не отличалась от контрольных животных на протяжении двухнедельного срока наблюдения (табл. 3.2.2.4).

Таблица 3.2.2.4

**Влияние препарата «Бисфенол-5» при многократной
аппликации на толщину кожной складки
морских свинок и кроликов (в мм)**

Группы животных	Толщина кожной складки, мм	
	Морские свинки	Кролики
Группа 1 (контроль)	2,45±0,06	3,36±0,08
Группа 2 (2 мг/кг)	2,41±0,08	3,38±0,06
Группа 3 (5 мг/кг)	2,48±0,07	3,32±0,09
Группа 4 (20 мг/кг)	2,43±0,05	3,38±0,08

После на­кожного применения морским свинкам и кроликам препарата «Бисфенол-5» общее состояние животных было удовлетворительным, масса животных соответствовала возрастной физиологической норме, изменений поведения и аппетита у животных не выявлено. Не обнаружено достоверных различий также в температуре тела и живой массе в контрольных и опытных группах животных. Участки кожи после стрижки и бритья одинаково быстро зарастали молодой шерстью, не отличающейся по густоте у опытных и контрольных групп животных.

Таким образом, состояние кожи кроликов, получавших препарат «Бисфенол-5» в дозах 2, 5, 20 мг/кг, не изменялось (отсутствие реак-

ции), признаков гиперемии и других изменений состояния кожных покровов не отмечалось. Толщина кожной складки на месте нанесения вещества не увеличилась от исходного состояния. Следовательно, препарат «Бисфенол-5» не обладает аллергизирующим действием на ткани в зоне его применения, что позволяет отнести вещество к 1 классу веществ по степени выраженности раздражающих кожу свойств.

Во второй серии экспериментов сенсibiliзирующее (раздражающее) действие препарата «Бисфенол-5» определяли методом конъюнктивальных проб.

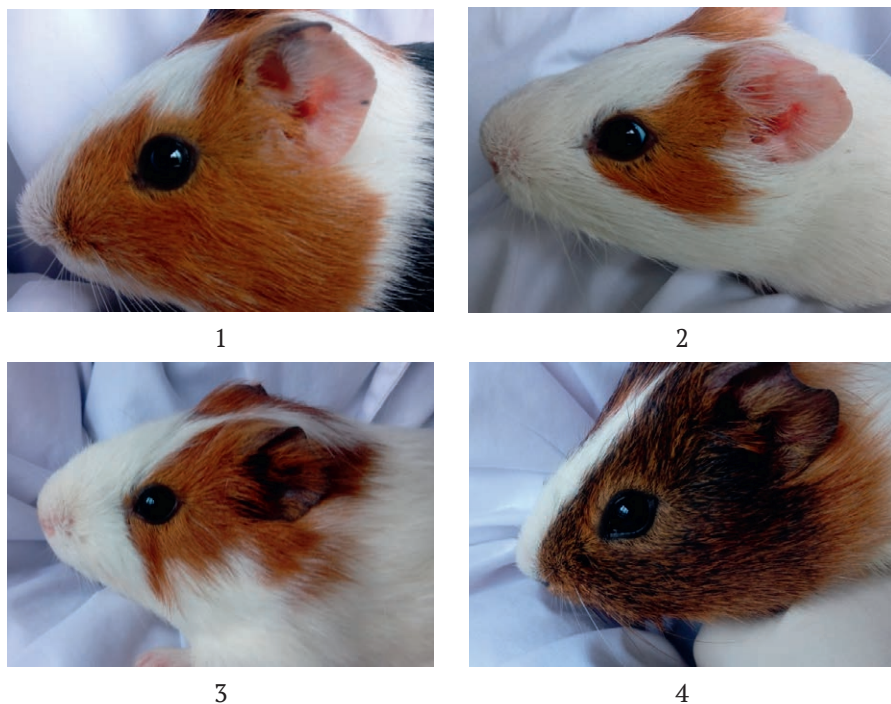


Рис. 3.2.2.2. Оценка сенсibiliзирующих свойств препарата «Бисфенол-5» методом конъюнктивальных проб:

1 – вазелиновое масло (контроль); 2 – препарат 2 мг/кг (опыт);
3 – препарат 5 мг/кг (опыт); 4 – препарат 20 мг/кг (опыт)

Изучение влияния препарата «Бисфенол-5» на конъюнктиву глаз морских свинок показало, что исследуемый препарат не вызы-

вает раздражения конъюнктивы, как сразу после инстилляции, так и на протяжении всего исследования. Через 15 минут после закапывания исследуемого средства в глаз не отмечали покраснения (гиперемии) конъюнктивы, слезотечения, помутнения роговицы; радужная оболочка без видимых изменений, хемоз (отек конъюнктивы) отсутствовал. Через 24-48 часов также не наблюдали помутнений роговицы, радужная оболочка без видимых изменений, отек конъюнктивы отсутствует. Результаты конъюнктивальной реакции представлены в табл. 3.2.2.5 и на рис. 3.2.2.2.

Как видно из данных табл. 3.2.2.5, нанесение исследуемого препарата опытным и контрольным животным не выявило различий в проявлении конъюнктивальной реакции, как немедленного, так и замедленного типа.

Результаты проведенного тестирования подтверждают отсутствие реакции конъюнктивы у кроликов через 15 минут и 24-48 часов на закапывание изучаемого препарата (табл. 3.2.2.6).

После визуальной оценки состояния конъюнктивы, роговицы и век глаз животных установлено, что отличий между контрольной и опытной группами не имеется. На протяжении всего исследования не наблюдали гиперемии, отека век и выделений из глаз, покраснений и отека слезного протока, конъюнктивы и склеры; случаев помутнения роговицы глаз также не выявлено. В ходе эксперимента отмечали нормальное состояние сосудов век (не расширены), бульбарной конъюнктивы и роговицы глаз подопытных животных.

В результате клинических исследований состояния организма морских свинок и кроликов после нанесения препарата «Бисфенол-5» не наблюдали изменений температуры тела, частоты пульса и количества дыхательных движений (табл. 3.2.2.7 и 3.1.2).

Общее состояние животных удовлетворительное, поведение соответствует данному виду животных, активное передвижение по клетке, судороги отсутствуют, движения животных скоординированы, реакция на звуковые, тактильные и болевые раздражители сохранена. Шерстный покров гладкий, блестящая, волосяной покров удерживается прочно. Слизистые оболочки бледно-розового цвета, без кровоизлияний и изъязвлений.

Таким образом, при проведении конъюнктивальных проб у опытных и контрольных животных не выявлено признаков гиперчувствительности немедленного и замедленного типа к препарату «Бисфенол-5», что свидетельствует об отсутствии токсической реакции.

Таблица 3.2.2.5

**Результаты проявления конъюнктивной реакции,
как немедленного, так и замедленного типа
при воздействии препарата «Бисфенол-5» на морских свинок**

Время, через	Препарат, доза									
	Контроль		2 мг/кг		5 мг/кг		20 мг/кг			
	Оценка в баллах	Раздражающий эффект	Оценка в баллах	Раздражающий эффект	Оценка в баллах	Раздражающий эффект	Оценка в баллах	Раздражающий эффект		
До нанесения	0	Отсутствует	0	Отсутствует	0	Отсутствует	0	Отсутствует	0	Отсутствует
15 мин	0	Отсутствует	0	Отсутствует	0	Отсутствует	0	Отсутствует	0	Отсутствует
50 мин	0	Отсутствует	0	Отсутствует	0	Отсутствует	0	Отсутствует	0	Отсутствует
1 ч	0	Отсутствует	0	Отсутствует	0	Отсутствует	0	Отсутствует	0	Отсутствует
2 ч	0	Отсутствует	0	Отсутствует	0	Отсутствует	0	Отсутствует	0	Отсутствует
4 ч	0	Отсутствует	0	Отсутствует	0	Отсутствует	0	Отсутствует	0	Отсутствует
8 ч	0	Отсутствует	0	Отсутствует	0	Отсутствует	0	Отсутствует	0	Отсутствует
24 ч	0	Отсутствует	0	Отсутствует	0	Отсутствует	0	Отсутствует	0	Отсутствует
48 ч	0	Отсутствует	0	Отсутствует	0	Отсутствует	0	Отсутствует	0	Отсутствует

Таблица 3.2.2.6

Влияние препарата «Бисфенол-5» на конъюнктиву кроликов

Время, через	Препарат, доза									
	Контроль		2 мг/кг		5 мг/кг		20 мг/кг			
	Оценка в баллах	Раздражающий эффект	Оценка в баллах	Раздражающий эффект	Оценка в баллах	Раздражающий эффект	Оценка в баллах	Раздражающий эффект		
До нанесения	0	Отсутствует	0	Отсутствует	0	Отсутствует	0	Отсутствует	0	Отсутствует
15 мин	0	Отсутствует	0	Отсутствует	0	Отсутствует	0	Отсутствует	0	Отсутствует
30 мин	0	Отсутствует	0	Отсутствует	0	Отсутствует	0	Отсутствует	0	Отсутствует
1 ч	0	Отсутствует	0	Отсутствует	0	Отсутствует	0	Отсутствует	0	Отсутствует
2 ч	0	Отсутствует	0	Отсутствует	0	Отсутствует	0	Отсутствует	0	Отсутствует
4 ч	0	Отсутствует	0	Отсутствует	0	Отсутствует	0	Отсутствует	0	Отсутствует
8 ч	0	Отсутствует	0	Отсутствует	0	Отсутствует	0	Отсутствует	0	Отсутствует
24 ч	0	Отсутствует	0	Отсутствует	0	Отсутствует	0	Отсутствует	0	Отсутствует
48 ч	0	Отсутствует	0	Отсутствует	0	Отсутствует	0	Отсутствует	0	Отсутствует

Таблица 3.2.2.7

Данные о клиническом состоянии организма морских свинок

Время, через	Препарат, доза															
	Контроль				2 мг/кг				5 мг/кг				20 мг/кг			
	Т, °С	Пульс	Дыхание	Т, °С	Пульс	Дыхание	Т, °С	Пульс	Дыхание	Т, °С	Пульс	Дыхание	Т, °С	Пульс	Дыхание	
До нанесения	38,3±0,8	283,7±7,2	116,4±3,6	37,8±0,4	268,8±6,0	104,1±2,5	39,0±0,5	291,6±8,5	126,2±3,6	38,0±0,7	275,4±7,8	108,9±2,3				
15 мин	38,2±0,5	281,5±6,6	116,8±2,9	38,0±0,6	268,2±6,8	103,7±2,1	38,8±0,7	293,3±7,8	126,0±3,2	38,2±0,9	276,6±8,4	110,0±2,9				
30 мин	38,2±0,9	284,1±7,8	114,6±4,0	37,8±0,4	270,4±5,4	104,0±2,7	38,9±0,4	293,9±8,4	128,6±4,1	38,1±0,6	277,2±7,2	109,6±2,1				
1 ч	38,4±0,7	282,3±7,0	115,1±3,5	37,9±0,3	269,7±6,2	105,1±3,2	38,8±0,6	292,0±7,7	128,1±3,9	37,9±0,4	274,8±7,5	107,6±2,7				
2 ч	38,2±0,8	283,4±6,3	115,9±3,1	37,9±0,5	267,9±5,7	104,8±2,6	39,1±0,3	289,8±8,2	126,5±2,4	37,8±0,6	273,6±6,9	107,1±2,6				
4 ч	38,1±0,6	284,2±6,4	116,7±3,8	37,6±0,3	267,3±7,1	105,6±3,1	38,8±0,5	290,6±9,1	125,8±3,6	38,2±0,7	275,9±7,1	108,4±3,0				
8 ч	38,3±0,9	283,9±7,1	117,3±4,2	37,8±0,5	270,6±5,3	103,4±2,4	39,0±0,3	291,5±8,9	126,3±4,5	38,2±0,4	277,1±6,7	107,8±1,8				
24 ч	38,4±0,4	282,5±8,1	116,0±3,3	37,7±0,4	269,1±6,1	102,3±1,9	39,1±0,4	293,7±8,3	128,1±2,8	38,1±0,5	275,7±6,6	108,2±2,4				
48 ч	38,3±0,9	284,6±7,5	117,6±3,0	37,9±0,6	268,4±5,9	104,9±2,3	39,0±0,4	292,2±9,0	127,4±3,3	37,9±0,3	274,3±8,0	107,9±1,9				

3.3. ИССЛЕДОВАНИЕ МУТАГЕННЫХ СВОЙСТВ ПРЕПАРАТА «БИСФЕНОЛ-5» НА КРЫСАХ

Клиническое состояние крыс, получавших перорально препарат «Бисфенол-5», не отличалось от животных контрольных групп. Внешнее состояние подопытных в первые минуты после внутривидеочного введения суспензии характеризовалось небольшим угнетением, вызванным механическим воздействием на животных, восстановление состояния наблюдалось спустя 5–10 минут. В течение всего эксперимента гибели животных в контрольных и опытных группах не отмечалось.

Результаты цитогенетического анализа костного мозга белых крыс, подвергнутых однократному воздействию препарата «Бисфенол-5», представлены в табл. 3.3.1.

Таблица 3.3.1

Частота и типы хромосомных aberrаций (на 100 клеток) в костном мозге белых крыс при однократном воздействии препарата «Бисфенол-5»

Группа	Гэпы, %	Одиночные фрагменты, %	Двойные фрагменты, %	Обмены, %	Клетки с множественными aberrациями, %	Количество клеток с хромосомными повреждениями, %
Интактный контроль	0,61 ±0,10	0,48 ±0,07	–	–	–	1,09 ±0,17
Отрицательный контроль (растворитель)	0,59 ±0,13	0,48 ±0,19	–	–	–	1,07 ±0,33
Положительный контроль (циклофосфан)	4,97 ±0,46*	37,00 ±12,08*	0,84 ±0,11*	8,47 ±0,36*	4,67 ±0,41*	55,94 ±11,65*
Препарат Бисфенол-5 в дозе 2 мг/кг	0,61 ±0,12	0,43 ±0,15	–	–	–	1,04 ±0,26
Препарат Бисфенол-5 в дозе 2000 мг/кг	0,62 ±0,13	0,47 ±0,11	–	–	–	1,09 ±0,24

Примечание: * – различия с контролем достоверны с точностью $p \leq 0,05$.

Как следует из табл. 3.3.1, частота и типы хромосомных повреждений клеток костного мозга у интактных животных и животных, получавших растительное масло (служившее растворителем препарата «Бисфенол-5»), не имели различий между собой и не превышали 1,52%.

Исследование препаратов костного мозга белых крыс после однократного воздействия циклофосфана в дозе 20 мг/кг показало, что значения изучаемых показателей достоверно превышали контрольные значения, а препарат обладал мутагенной активностью. Так, доля поврежденных клеток составила 55,94%, что превысило контроль на 54,87%. При этом основным типом aberrаций являлись одиночные фрагменты хромосом (на 36,52% больше в сравнении с контролем), появившиеся вследствие хроматидного разрыва, отмечена высокая частота обменов (8,47%). Количество клеток с ахроматическими пробелами составило 4,97%, что больше контроля на 4,38%. Обнаружены клетки с множественными aberrациями (4,67%).

Цитогенетический анализ влияния препарата «Бисфенол-5» на клетки костного мозга крыс при однократном его введении в дозах 2 и 2000 мг/кг массы тела показал, что процент клеток с aberrациями хромосом составил 1,04 и 1,09%, соответственно. Типы aberrаций были представлены одиночными фрагментами и ахроматическими пробелами. Парные фрагменты и aberrации обменного типа не выявлены. Статистический анализ полученных результатов не показал достоверных различий в сравнении с контрольными значениями. Следовательно, частота aberrантных метафаз клеток костного мозга белых крыс при однократном воздействии препарата «Бисфенол-5» не превышает уровень спонтанных хромосомных повреждений, что свидетельствует об отсутствии способности препарата индуцировать структурные нарушения хромосом.

Результаты цитогенетического анализа костного мозга белых крыс, подвергнутых длительному воздействию (в течение 5 суток) препарата «Бисфенол-5» представлены в табл. 3.3.2.

Анализ метафазных клеток костного мозга крыс на фоне длительного перорального введения препарата «Бисфенол-5» в дозах 2 и 2000 мг/кг массы тела показал, что частота встречаемости клеток со структурными aberrациями хромосом составила 1,21 и 1,25%, соответственно, против 1,20% в контроле. Повреждения хромосом характеризовались ахроматическими пробелами и одиночными фрагментами и также не имели достоверных отличий с контрольными значениями.

Таблица 3.3.2

**Частота и типы хромосомных aberrаций
(на 100 клеток) в костном мозге белых крыс
при длительном воздействии препарата «Бисфенол-5»**

Группа	Гэпы, %	Одиночные фрагменты, %	Количество клеток с хромосомными повреждениями, %
Отрицательный контроль (растворитель)	0,62 ±0,06	0,58 ±0,11	1,20 ±0,17
Препарат Бисфенол-5 в дозе 2 мг/кг	0,65 ±0,15	0,56 ±0,06	1,21 ±0,19
Препарат Бисфенол-5 в дозе 2000 мг/кг	0,68 ±0,12	0,57 ±0,08	1,25 ±0,19

Примечание: * – различия с контролем достоверны с точностью $p \leq 0,05$.

Таким образом, частота установленных хромосомных aberrаций в клетках костного мозга белых крыс подвергнутых однократному и длительному воздействию препарата «Бисфенол-5» в испытуемых дозах не имеет достоверных отличий с частотой спонтанных aberrаций. Следовательно, препарат в исследуемых дозах не индуцирует хромосомные нарушения и не представляет мутагенной опасности.

3.4. ИЗУЧЕНИЕ КУМУЛЯТИВНЫХ СВОЙСТВ ПРЕПАРАТА «БИСФЕНОЛ-5» НА КРЫСАХ

В результате ежедневного введения изучаемой лекарственной формы в дозировке 2000 мг/кг массы тела не выявлено изменений общего состояния и поведения у подопытных крыс.

Введение препарата не отразилось статистически значимым образом на текущих значениях роста. В табл. 3.4.1 приведены результаты мониторинга динамики прироста живой массы тела у крыс в сравнении с контролем.

При выборе доз для исследования хронической токсичности вещества следует учитывать его кумулятивные свойства. Поэтому до проведения хронических токсикологических экспериментов рекомендуется определить коэффициент кумуляции вещества, т.е. отношение LD_{50} при однократном введении к LD_{50} при кратном введении.

Схема изучения кумуляции методом субхронической токсичности по Lim'у представлена в табл. 3.4.2.

Таблица 3.4.1

Изменение живой массы тела у крыс, получавших препарат «Бисфенол-5» в течение 28 дней, г

Дни введения антиоксиданта	Группа			
	Контрольная		Опытная	
	Самки	Самцы	Самки	Самцы
1-4	191,7	180,3	214,5	234,5
5-8	185,9	177,4	225,6	231,1
9-12	186,7	180,5	224,6	229,9
13-16	188,3	185,3	228,3	230,3
17-20	198,8	191,1	234,3	232,1
20-24	198,4	195,3	233,6	225,6
25-28	196,3	183,9	227,8	217,8
Перед убоем	194,5	180,5	260,4	215,6

Примечание: * – $P \leq 0,05$; ** – $P \leq 0,01$; *** – $P \leq 0,001$; e = 0,02 г.

Таблица 3.4.2

Кумулятивные свойства препарата «Бисфенол-5»

Вещество	LD ₅₀ при однократном введении вещества	LD ₅₀ при n-кратном введении вещества	Коэффициент кумуляции
Бисфенол-5	2000 мг/кг	7920 мг/кг	3,96

Случаев гибели среди животных контрольной и опытных групп не наблюдали. Поскольку LD₅₀ при однократном введении препарата составляет 2000 мг/кг массы тела, по формуле Ю.С. Кагана, В.В. Станкевича [5], коэффициент кумуляции составил 3,96, следовательно препарат обладает слабовыраженными (умеренными) кумулятивными свойствами.

Ежедневное введение антиоксиданта не привело к изменению относительной массы органов у крыс, получавших дозу 2000 мг/кг массы тела (табл. 3.4.3).

Таблица 3.4.3

**Масса внутренних органов крыс
при введении препарата «Бисфенол-5» (г)**

Орган	Группа	
	Контрольная	Опытная
Сердце	0,68	0,74
Печень	4,33	6,30
Легкие	1,50	1,60
Почки	1,07	1,36
Мышечная ткань	6,47	7,40
Селезенка	0,50	0,59
Кости	1,72	1,99

Примечание * – $P \leq 0,05$; ** – $P \leq 0,01$; *** – $P \leq 0,001$; e = 0,02 г.

По результатам исследования по выявлению кумулятивного действия введение препарата не отразилось на общем состоянии и поведении крыс; они охотно потребляли корм и воду, прибавляли в массу тела, адекватно реагировали на внешние раздражители и т.п. На протяжении всего эксперимента гибели опытных животных не регистрировали.

Исходя из этого, можно сделать вывод о том, что препарат «Бисфенол-5» в виде порошка не обладает кумулятивными свойствами. Перед эвтаназией внешний осмотр животных показал, что все они нормально упитаны, имеют правильное телосложение, гладкий и блестящий шерстный покров, очагов облысения не отмечается. Зубы сохранены.

При вскрытии расположение внутренних органов правильное. Свободной жидкости в плевральной и брюшной полостях не обнаружено. При осмотре брюшины патологического выпота не обнаружено, брюшная полость чистая, блестящая, розового цвета. Печень, почки и селезенка полнокровные, без признаков отека.

При макроскопическом исследовании печени, легких, почек, сердца, селезенки и мышечной ткани, получавших препарат «Бисфенол-5» в течение 28 дней, отмечено следующее:

– печень животных контрольной группы имеет буро-коричневый цвет; у животных опытной группы отмечается более светлый оттенок печени по сравнению с контролем, кровеносные сосуды не визуализируются;

– легкие имеют вид пористой, губчатой структуры бело-розового цвета;

– почки темно-красного цвета, плотные на ощупь. По форме и величине не изменены. Поверхность гладкая, на разрезе органа хорошо различимы корковое и мозговое вещество, почечные лоханки свободны. Капсула почки снимается легко;

– сердце темно-красного цвета в форме неправильного конуса. Хорошо видны артериальные и венозные сосуды. Клапаны сердца тонкие, блестящие, гладкие. Признаков отека и гипотрофии нет;

– селезенка имеет блестящую поверхность темно-красного цвета с сероватым оттенком. Наружная поверхность селезенки гладкая и выпуклая;

– мышечная ткань розового цвета, волокнистого строения, поверхность гладкая и ровная, без шероховатостей.

Результаты исследований кумулятивного действия показали, что коэффициент кумуляции составил 3,96, что согласно принятой токсикологической классификации соответствует умеренной степени кумуляции и свидетельствует о слабовыраженных кумулятивных свойствах препарата.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе экспериментов установлено отсутствие местно-раздражающего действия препарата «Бисфенол-5» на слизистую оболочку глаза кроликов. В результате клинических исследований состояния организма кроликов после нанесения препарата «Бисфенол-5» на слизистую оболочку глаза не наблюдали изменений температуры тела, частоты пульса и количества дыхательных движений.

При постановке реакции общей анафилаксии (анафилактического шока) было установлено отсутствие анафилактогенных свойств препарата «Бисфенол-5», как в терапевтической дозе, так и дозе в 10 раз ее превышающей.

Изучение сенсибилизирующего действия препарата после 10 и 20 повторных накожных аппликаций показало, что видимых изменений в виде гиперемии, инфильтрации, шелушения не наблюдалось, что свидетельствует об отсутствии сенсибилизации организма. Реакция кожи в опытных группах животных не отличалась от контрольных. После накожного применения морским свинкам и кроликам

препарата «Бисфенол-5» общее состояние животных было удовлетворительным, масса животных соответствовала возрастной физиологической норме, изменений поведения и аппетита животных не выявлено. Не обнаружено достоверных различий также в температуре тела и живой массе в контрольных и опытных группах животных. Участки кожи после стрижки и бритья одинаково быстро зарастали молодой шерстью, не отличающейся по густоте у опытных и контрольных групп животных. В ходе постановки конъюнктивальных проб опытным и контрольным животным установлено отсутствие признаков гиперчувствительности как немедленного, так и замедленного типа в отношении препарата «Бисфенол-5». Отсюда следует, что исследуемый препарат не обладает раздражающим и сенсибилизирующим действием.

При оценке мутагенных свойств в опыте по учёту хромосомных aberrаций в клетках костного мозга млекопитающих установлено, что препарат «Бисфенол-5» в терапевтической (2 мг/кг живой массы) и субтоксической (максимальной – 2000 мг/кг) дозах не индуцирует хромосомные aberrации и, следовательно, не обладает цитогенетической (кластогенной) активностью.

Изучение кумулятивных свойств препарата «Бисфенол-5» на крысах показало, что коэффициент кумуляции составил 3,96, что соответствует умеренной степени кумуляции и свидетельствует о слабо выраженных кумулятивных свойствах препарата.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Ахмадуллин, Р.М. Эффективность 4,4-бис(2,6-ди-*трет*-бутилфенола) при стабилизации изопренового каучука и полипропилена / Р.М. Ахмадуллин, Д.Р. Гатиятуллин, Л.А. Васильев, А.Г. Ахмадулина, Н.А. Мукменёва, Е.Н. Черезова, М. Yang // Журнал прикладной химии. – 2015. – Т. 88, № 5. – С. 792–797.

2. Гуськова, Т.А. Токсикология лекарственных средств / Т.А. Гуськова. – М.: Медицина, 2008. – 196 с.

3. Зенков, Н.К. Фенольные биоантиоксиданты / Н.К. Зенков, Н.В. Кандалинцева, В.З. Ланкин, Е.Б. Меньщикова, А.Е. Просенко. – Новосибирск: СО РАМН, 2003. – 328 с.

4. МУ 1.2.1105-02. Оценка токсичности и опасности дезинфицирующих средств. – М., 2002.

5. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / под ред. Р.Ю. Хабриева. – М.: Медицина, 2005. – 829 с.

6. Липперт, Г. Международная система единиц в медицине / Г. Липперт. – М.: Медицина, 1980. – 208 с.

7. Лабораторные методы исследования в клинике: справочник / под ред. В.В. Меньшикова. – М.: Медицина, 1987. – 368 с.

8. Миронов, А.Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / А.Н. Миронов, Н.Д. Бунятян, А.Н. Васильев и др. – М.: Гриф и К, 2012. – 944 с. – ISBN 978-5-8125-1592-1.

9. Derelanko, M.J. Handbook of Toxicology / M.J. Derelanko, M.A. Hollinger. – 2nd ed. – Boca Raton: CRC Press, 2002.

10. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes (ETS No. 123). – Strasbourg: Council of Europe, 1986.

11. Lim, R.K. Method for the evaluation of cumulation and tolerance by the determination of acute and subchronic median effective doses / R.K. Lim, K.G. Rink, H.G. Glass, E.A. Soaje-Ehagye // Archives Internationales de Pharmacodynamie et de Thérapie. – 1961. – Vol. 130. – P. 336–352.

12. Şentürk, M. Carbonic anhydrase inhibitors: inhibition of human erythrocyte isozymes I and II with a series of antioxidant phenols / M. Şentürk, İ. Gülçin, A. Daştan, Ö.İ. Küfrevioğlu, C.T. Supuran // Bioorganic and Medicinal Chemistry. – 2009. – Vol. 17, No. 8. – P. 3207–3211.

4. ИССЛЕДОВАНИЕ КАНЦЕРОГЕННОГО ПОТЕНЦИАЛА ПРЕПАРАТА «БИСФЕНОЛ-5» ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ВВЕДЕНИИ ЛАБОРАТОРНЫМ ЖИВОТНЫМ

4.1. ОЦЕНКА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ ПРЕПАРАТА «БИСФЕНОЛ-5»

Оценку морфофункционального состояния лабораторных животных (крыс линии Wistar) при использовании препарата «Бисфенол-5» изучали при внутрижелудочном введении в течение 2 лет в различных дозах.

Экспериментальные животные были разделены на 2 группы, каждая из которых включала по 200 особей мужского пола и 200 особей женского пола. Каждая группа животных, в свою очередь, была разделена на 4 подгруппы:

1. Подгруппа 1 – животные, которым вводили ежедневно, внутрижелудочно, растительное масло (контроль) (n = 50).

2. Подгруппа 2 – животные, которым вводили ежедневно, внутрижелудочно, тестируемое вещество в дозе эквивалентной одной терапевтической дозе (2 мг/кг) (n = 50).

3. Подгруппа 3 – животные, которым вводили ежедневно, внутрижелудочно, тестируемое вещество в дозе эквивалентной десяти терапевтическим дозам (20 мг/кг) (n = 50).

4. Подгруппа 4 – животные, которым вводили ежедневно, внутрижелудочно, тестируемое вещество в дозе 200 мг на кг массы тела (n = 50).

В течение всего периода наблюдения не отмечено каких-либо изменений клинического состояния крыс как непосредственно после введения препарата «Бисфенол-5» в различных дозах, так и в последующие сроки. Во все периоды наблюдения общее состояние животных оставалось удовлетворительным; не выявлено изменений внешнего вида животных, состояния шерстного покрова и кожи, окраски слизистых оболочек, характера выделений, поведенческих реакций и реакции на внешние раздражители по сравнению с контролем.

Шерстный покров животных гладкий, блестящий; выпадения волос не отмечалось. Слизистые оболочки бледно-розового цвета, без признаков кровоизлияний и изъязвлений.

Поведение крыс соответствовало данному виду животного, активное передвижение по клетке, судороги отсутствовали, движения животных были скоординированы, реакция на звуковые, тактильные и болевые раздражители была сохранена.

Физиологические выделительные функции, функции сердечно-сосудистой и дыхательной систем были идентичными контрольным. Не было установлено отклонений в потреблении корма и воды, осложнений инфекционного характера, а также каких-либо клинических признаков интоксикации на фоне введения препарата в диапазоне исследуемых доз на протяжении всего исследования.

Изменения в динамике массы тела крыс находились в пределах физиологических колебаний и соответствовали физиологической норме [20]. На рис. 4.1.1 и 4.1.2 представлены результаты оценки динамики массы тела крыс линии Wistar обоего пола после внутрижелудочного введения препарата «Бисфенол-5» в течение 2-х лет в различных дозах.

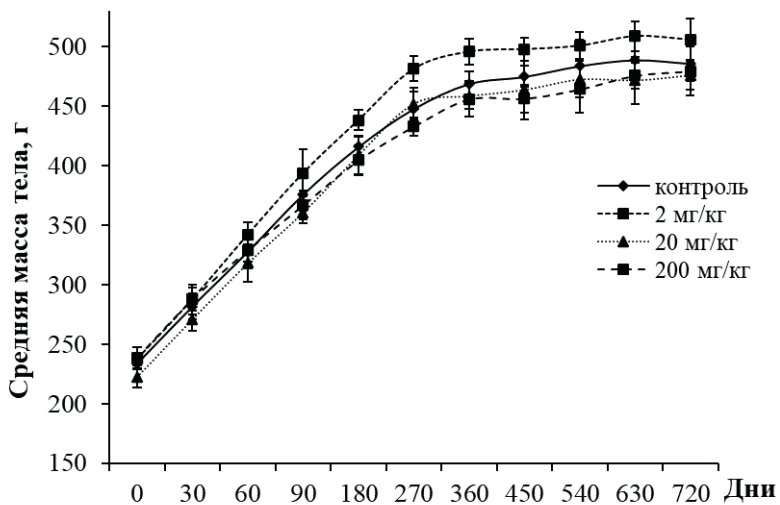


Рис. 4.1.1. Изменение массы тела самцов крыс на протяжении всего исследования

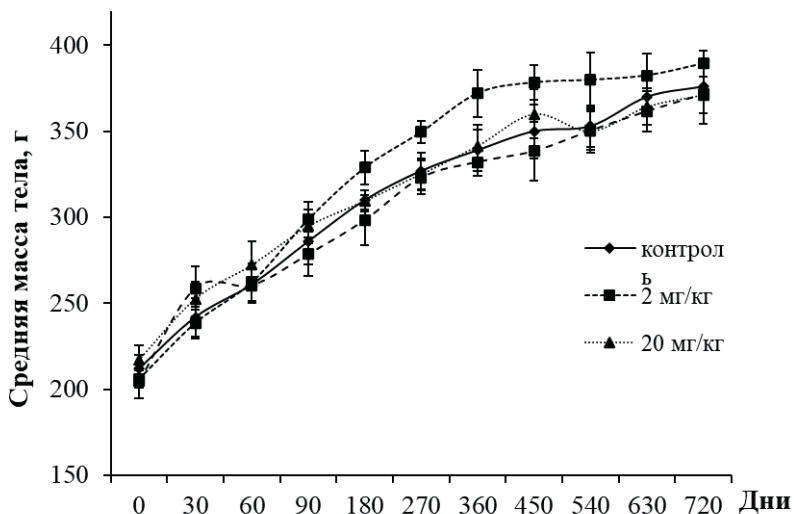


Рис. 4.1.2. Изменение массы тела самок крыс на протяжении всего исследования

Межгрупповое сравнение частоты летальных исходов подопытных животных обоих полов (подгруппы 2–4) (ANOVA, post-hoc тест Тьюки) показало отсутствие статистически значимых отличий от контрольной группы (подгруппа 1) на протяжении всего эксперимента.

При действии препарата в дозе 2 мг/кг массы тела у крыс (самцов и самок) отмечалась тенденция к увеличению массы тела. У самцов, получавших препарат в дозе 2 мг/кг массы тела, наблюдалось статистически значимое увеличение массы тела на 5,4–7,5 % ($p < 0,05$), у самок — на 6,1–9,8 % ($p < 0,05$). Данный эффект отмечался на 180–360 суток эксперимента (рис. 4.1.1 и 4.1.2).

При этом статистически значимых различий прироста массы тела у подопытных животных, получавших данную дозу вещества в интервалах 0–180 и 180–720 суток по сравнению с контролем не установлено.

Влияние препарата «Бисфенол-5» в дозе 200 мг/кг массы тела в ходе эксперимента приводило к незначительному снижению массы тела животных обоих полов (в подгруппах 2-4), однако достоверных различий между результатами контрольной подгруппы животных, получающих растительное масло, выявлено не было.

Частота летальных исходов во все дни наблюдения также статистически достоверно не отличалась между животными контрольных и опытных подгрупп. Уровень смертности по группам у самцов крыс составил 14-15%, у самок – 16-24%. Среди самцов и самок крыс уровень смертности был выше в опытных подгруппах 3 и 4. Тем не менее, статистически значимых различий между смертностью опытной и контрольной подгруппах не было обнаружено. За 2-4 дня до момента гибели у подопытных животных отмечалось угнетение общего состояния. Полученные данные согласуются с литературными источниками российских и зарубежных авторов, на основании которых можно заключить, что причиной смертности в течение всего периода опыта являлось естественное старение подопытных животных [21, 22, 23].

Критерием оценки общего состояния организма, степени воздействия на него различных факторов являются физиологические показатели, достаточно объективно отражающие основные физиологические и патологические изменения, которые могут происходить в организме [20].

В результате клинических исследований состояния организма крыс при применении препарата «Бисфенол-5» в течение двух лет в терапевтической и 10-, 100-кратно превышающих дозах не наблюдали изменений температуры тела, частоты сердечных сокращений и дыхательных движений. В табл. 4.1.1 представлены данные основных клинических показателей, характеризующих физиологическое состояние животных при применении синтетического антиоксиданта. Самки и самцы крыс были условно разделены на 4 группы по 100 в каждой (50 самок и 50 самцов): первая группа – контрольная (основа препарата), вторая, третья и четвертая – опытная (2 мг/кг, 20 мг/кг и 200 мг/кг массы тела, соответственно).

Дополнительным показателем при оценке безвредности лечебных препаратов для ветеринарного применения является изменение морфологического и биохимического состава крови животных. По изменению состава крови можно судить об интенсивности процессов обмена, функциональном состоянии важнейших органов и физиологических систем организма, приспособленности его к условиям окружающей среды [20]. В связи с этим проводили исследование биохимических и морфологических показателей крови, а также состояния антиоксидантной системы крыс после введения препарата «Бисфенол-5» в течение двух лет в терапевтической и 10- и 100-кратно превышающих дозах.

Таблица 4.1.1

**Основные клинические показатели крыс линии Wistar
при применении препарата «Бисфенол-5», М±m***

Показатель	Группа				Референсные значения ¹
	контрольная	опытная			
		2 мг/кг	20 мг/кг	200 мг/кг	
Температура тела, °С	37,1±0,3	37,0±0,2	37,0±0,4	37,2±0,2	До 37,5
ЧД, мин	89,6±1,8	86,3±1,6	91,1±1,5	93,8±1,9	80,0-150,0
ЧСС, мин	362,4±11,0	355,7±10,3	364,5±10,7	368,1±11,9	250,0-500,0

¹Миронов А.Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. М.: Гриф и К, 2012. 944 с.

*не выявлены достоверные различия между контрольной и опытными группами при $p \geq 0,05$.

Результаты исследования показали, что при использовании антиоксидантного препарата «Бисфенол-5», гематологические и показатели обмена веществ животных опытных групп находились в пределах референсных значений. Основные морфологические и биохимические показатели крови крыс после введения препарата «Бисфенол-5» в течение двух лет представлены в табл. 4.1.2 и 4.1.3.

Таблица 4.1.2

**Морфологические показатели крови крыс линии Wistar
при применении препарата «Бисфенол-5», М±m**

Показатель	Группа				Референсные значения ¹
	контрольная	опытная			
		2 мг/кг	20 мг/кг*	200 мг/кг*	
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	9,83±0,41	11,23±0,65	10,00±0,49	9,17±0,37	1,4-34,3
Лимфоциты, %	65,48±2,47	65,94±2,32	65,52±1,85	64,75±2,14	42,3-98,0
Гранулоциты, %	30,51±1,84	30,18±1,28	28,96±1,37	28,34±1,10	27,0-53,0
Эритроциты, 10 ¹² /л	8,04±0,11	8,66±0,14	8,09±0,12	7,83±0,13	4,4-9,9
Гемоглобин, г/л	146,1±1,6	152,2±2,1	146,9±2,9	143,6±1,8	86,0-177,0
Тромбоциты, 10 ⁹ /л	564,7±11	592,9±14	569,2±12	557,4±10	409,0-1250,0

¹(Мустафина О.К. и др. Гематологические показатели у крыс Вистар разного возраста, содержащихся на полусинтетическом полноценном виварном рационе. Вopr. пит. 2013. Т. 82. № 2. С. 10-16; Lewi P.J., Marsboom R.P. Toxicology reference data – Wistar rat. Elsevier/North-Holland biochemical Press, 1981. 358 p.; Suckow M.A. et al. The Laboratory Rat. Burlington: Elsevier Academic Press. 2006. 912 p.)

* не выявлены достоверные различия между контрольной и опытной группой при $p \geq 0,05$.

Анализ данных гематологических исследований крыс экспериментальных групп позволила установить прямую закономерность изменения морфологических показателей: с увеличением количества вводимого препарата уровень показателей крови снижался (табл. 4.1.2).

Морфологические показатели крови животных опытной группы, получавших антиоксидант в дозе 2 мг/кг массы тела, показали статистически значимые различия с аналогичными показателями у крыс контрольной группы (содержание лейкоцитов, эритроцитов и тромбоцитов). Выявленные различия находились в пределах физиологических норм и варьировали от 5 до 14 %.

Из всех гематологических показателей наиболее существенными изменениями характеризовались лейкоциты в опытной группе крыс, получавшей препарат в дозе 2 мг/кг живой массы. Содержание лейкоцитов в крови данной опытной группы животных превышало контроль на 14,2 % ($p < 0,05$). Следовательно, на фоне интрагастрального введения исследуемого антиоксиданта происходит лейкоцитоз, который не превышает физиологические нормы.

Значения показателей эритроцитарного профиля у крыс данной опытной группы были выше, чем у животных контрольной группы: концентрация гемоглобина – на 4,2 % ($p < 0,05$), общее количество эритроцитов – на 7,7 % ($p < 0,05$). Скорее всего, повышение абсолютной массы крыс на фоне исследуемого препарата можно объяснить, в том числе, и стимуляцией гемопоэза. Это способствует нормализации обмена веществ за счет лучшего поступления к клеткам нутриентов и кислорода. Более высокий уровень показателей эритроцитарного и лейкоцитарного профиля в крови может указывать на повышение неспецифической резистентности и уровня окислительно-восстановительных реакций организма.

Уровень тромбоцитов крови в опытной группе, получавших антиоксидант в дозе 2 мг/кг живой массы, превысил контроль на 5,0 % ($p < 0,05$).

При введении количеств, превышающих рекомендуемую дозу в 10 раз, препарата гематологические показатели крови крыс не имели достоверных отличий от контроля.

Морфологические показатели крови животных опытной группы, которые получали синтетический антиоксидант в количествах, превышающих терапевтическую дозу в 100 раз, были ниже контрольных значений на 1,3-7,1 % ($p > 0,05$).

Таким образом, длительное внутрижелудочное введение антиоксидантного препарата «Бисфенол-5» в дозах 2 мг/кг, 20 мг/кг и 200 мг/кг массы тела (не оказывало отрицательного влияния на морфологические показатели крови, характеризующие здоровье у крыс.

Дозозависимая динамика показателей крови является одной из наиболее информативных характеристик, которую необходимо учитывать при исследовании лечебных препаратов.

Показатели обмена веществ животных всех экспериментальных групп также проявляли линейные изменения (понижения активности или концентрации) в ряду повышения количества задаваемого антиоксиданта (табл. 4.1.3).

Таблица 4.1.3

Биохимические показатели сыворотки крови крыс линии Wistar при применении препарата «Бисфенол-5», $M \pm m$

Показатель	Группа				Референсные значения ¹
	контрольная	опытная			
		2 мг/кг	20 мг/кг*	200 мг/кг*	
Общий белок, г/л	83,57±1,78	87,03±1,20	83,96±2,03	82,41±1,66	56,0-108,0
АСТ, Е/л	138,1±4,4	139,5±3,2	137,8±5,1	135,6±3,8	60,0-236,0
АЛТ, Е/л	46,85±1,81	50,55±1,65	47,01±1,97	45,97±1,73	33,0-120,0
Щелочная фосфатаза (ЩФ), Е/л	179,3±2,3	184,5±2,6	179,2±4,0	176,8±3,4	112,0-814,0
Лактатдегидрогеназа (ЛДГ), Е/л	1277±18	1318±22	1270±35	1254±28	до 5800
α -амилаза, Е/л	551,2±9,6	603,6±12,9	562,9±10,4	537,3±9,3	489,0-609,0
Глюкоза, ммоль/л	7,80±0,19	9,57±0,17	8,38±0,25	7,71±0,21	4,5-10,0
Билирубин общий, мкмоль/л	3,28±0,11	3,36±0,08	3,32±0,13	3,17±0,06	1,0-4,0
Мочевина, ммоль/л	6,74±0,16	7,10±0,18	6,83±0,27	6,59±0,22	4,0-10,0

¹(Lewi P.J., Marsboom R.P. Toxicology reference data – Wistar rat. Elsevier/ North-Holland biochemical Press, 1981. 358 p.; Suckow M.A. et al. The Laboratory Rat. Burlington: Elsevier Academic Press. 2006. 912 p.; Tucker M.J. Diseases of the Wistar Rat. Lond.: Taylor & Francis Limited, 1997. 272 p.; Абрашова Т.В. и др. Физиологические, биохимические и биометрические показатели нормы экспериментальных животных: справочник. Под ред. Макарова В. Г., Макаровой М. Н. Санкт-Петербург: Лема, 2013. 116 с.)

*не выявлены достоверные различия между контрольной и опытной группами при $p \geq 0,05$.

Как видно из табл. 4.1.3, биохимические показатели сыворотки крови у крыс опытной группы, получавших антиоксидант в дозе 2 мг/кг массы тела, имели статистически значимые различия по сравнению с аналогичными показателями у животных контрольной группы (активность аланинаминотрансферазы, щелочной фосфатазы, лактатдегидрогеназы и α -амилазы, концентрация мочевины, глюкозы и общего билирубина). Выявленные различия превышали значения контрольной группы в среднем на 1,0–23 %, однако находились в пределах физиологических колебаний и не свидетельствовали о токсикологически значимом влиянии препарата.

Наибольший уровень ферментов крови наблюдался у крыс опытной группы, получавших исследуемый препарат в дозе 2 мг/кг живой массы. Уровень аспартатаминотрансферазы, аланинаминотрансферазы, щелочной фосфатазы, лактатдегидрогеназы и амилазы превышал контроль на 1,0 ($p>0,05$), 7,9 ($p<0,05$), 2,9 ($p<0,05$), 3,2 ($p<0,05$) и 9,5 % ($p<0,05$) соответственно. Повышение активности отдельных ферментов в сыворотке крови может свидетельствовать об изменении функционального состояния органов и тканей и требует дальнейшей интерпретации с учетом других биохимических показателей.

Уровень глюкозы у крыс опытной группы был выше, чем у животных контрольной группы, на 22,7 % ($p<0,05$), однако полученные значения находились в пределах референсных значений.

Уровень общего билирубина в сыворотке крови опытной группы, получавших синтетический антиоксидант в дозе 2 мг/кг живой массы, был выше на 2,4 % по сравнению с аналогичными показателями контрольной группы ($p<0,05$). Концентрация мочевины в крови крыс данной опытной группы крыс превышал уровень контрольной на 5,3 % ($p<0,05$). Повышение содержания мочевины, конечного продукта белкового метаболизма в организме, свидетельствует об усилении интенсивности обмена белков у животных.

Содержание общего белка было выше также в опытной группе крыс, получавших исследуемый препарат в дозе 2 мг/кг массы тела, на 4,1 % ($p<0,05$), что свидетельствует о более эффективном усвоении кормового рациона. Более высокий уровень белков может указывать о повышенных защитных возможностях организма животных данной опытной группы к выработке антител.

При введении количеств, превышающих рекомендуемую дозу в 10 раз, антиоксиданта показатели обмена веществ сыворотки крови крыс не имели достоверных отличий от контроля.

Биохимические показатели сыворотки крови животных опытной группы, которые получали препарат в количествах, превышающих рекомендуемую дозу в 100 раз, практически не отличались от показателей крыс контрольной группы. У животных данной опытной группы показатели обмена веществ были ниже контрольных значений на 1,2-3,4 % ($p > 0,05$).

Исходя из полученных данных следует, что длительное использование антиоксидантного препарата «Бисфенол-5» в дозах 2 мг/кг, 20 мг/кг и 200 мг/кг массы тела не вызывает обменных нарушений у животных. Отмечено преимущество опытной группы, получавших антиоксидант в дозе 2 мг/кг массы тела: введение исследуемого синтетического антиоксиданта в указанной дозе оказывает положительное влияние на организм, проявляющееся путем повышения обменных процессов и иммунных свойств животных.

Одним из существенных параметров оценки наличия окислительного стресса является накопление продуктов перекисного окисления липидов и снижение активности высокомолекулярных компонентов антиоксидантной системы защиты организма [24]. По изменению продуктов свободнорадикального окисления полиненасыщенных жирных кислот и активности антиоксидантных ферментов крови можно судить о функциональном состоянии и адаптационном потенциале, а также патологических изменениях, возникающих в различных органах и системах организма. В связи с этим проводили исследование по оценке активности супероксиддисмутазы и каталазы, содержания малонового диальдегида в эритроцитах крыс после интрагастрального введения препарата «Бисфенол-5» в течение двух лет в терапевтической и 10-, 100-кратно превышающих дозах.

Влияние исследуемого антиоксиданта на показатели продуктов свободнорадикального окисления полиненасыщенных жирных кислот крови и печени крыс экспериментальных групп в целом носило дозозависимый характер. Значения исследуемых показателей находились в пределах физиологических колебаний, которые характерны для животных данного возраста. В табл. 4.1.4 представлены результаты измерений содержания продуктов перекисного окисления липидов крыс при использовании синтетического антиоксидантного препарата.

Таблица 4.1.4

**Содержание продуктов перекисного окисления
липидов в крови и печени крыс линии Wistar
при применении препарата «Бисфенол-5», М±m**

Показатель	Группа			
	контрольная	опытная		
		2 мг/кг	20 мг/кг	200 мг/кг
МДА эритроцитов, нмоль/мл	4,92±0,06	4,01±0,09	4,86±0,07	5,14±0,08
МДА сыворотки, нмоль/мл	6,49±0,12	5,96±0,10	6,34±0,09*	6,60±0,14
МДА печени, нмоль/мл	410,5±5,8	329,6±4,3	384,3±5,1*	422,7±6,3

*не выявлены достоверные различия между контрольной и опытной группой при $p \geq 0,05$.

Содержание малонового диальдегида в эритроцитах крыс опытной группы, получавших антиоксидант в дозе 2 мг/кг массы тела, было ниже, чем у контрольных животных на 18,4 % ($p < 0,05$). При введении количеств, превышающих рекомендуемую дозу в 10 раз, препарата уровень этого показателя в крови крыс не имела значимых отличий от контроля. По отношению к контрольным значениям выявлено некоторое повышение содержания малонового диальдегида на 4,5 % ($p < 0,05$) в эритроцитах опытных групп животных, получавших антиоксидант в дозе 200 мг/кг массы тела.

Концентрация малонового диальдегида в сыворотке крови опытных групп крыс, получавших антиоксидант в дозах 2 и 20 мг/кг живой массы, была ниже: у животных отличия от данного показателя контрольной группы составляли 8,2 % ($p < 0,05$) и 2,3 % ($p > 0,05$), соответственно. По отношению к контролю наблюдали недостоверное повышение содержания малонового диальдегида на 1,7 % в крови животных опытных групп, получавших препарат в дозе 200 мг/кг массы тела.

Содержание малонового диальдегида в печени крыс опытных групп крыс, получавших антиоксидант в дозах 2 и 20 мг/кг живой массы, также была ниже: у животных отличия от данного показателя контрольной группы составляли 19,7 % ($p < 0,05$) и 6,4 % ($p < 0,05$), соответственно. Концентрация малонового диальдегида крови животных опытной группы, которые получали исследуемый препарат в количе-

ствах, превышающих терапевтическую дозу в 100 раз, была выше контрольных значений на 3,0 % ($p < 0,05$).

Функциональное значение антиоксидантной системы связана не только с диффузионными параметрами контакта с плазмой крови, которая содержит продукты свободнорадикального и перекисного окисления, но и с каскадом высокомолекулярных антиоксидантных ферментов, супероксиддисмутазы (КФ 1.15.1.1) и каталазы (H_2O_2 – оксидоредуктаза, КФ 1.11.1.6), катализирующие процесс дисмутации супероксида в кислород и пероксид водорода, и разложение последнего на воду и молекулярный кислород [24].

Изучение основных показателей системы антиоксидантной защиты эритроцитов показало, что при использовании препарата «Бисфенол-5» активность ферментов супероксиддисмутазы и каталазы эритроцитов у крыс контрольной и опытных групп не имели достоверных различий. Значения исследуемых показателей находились в пределах физиологических колебаний, которые характерны для животных данного возраста. На рис. 4.1.3 представлены результаты активности основных антиоксидантных ферментов в крови крыс при применении синтетического антиоксиданта.

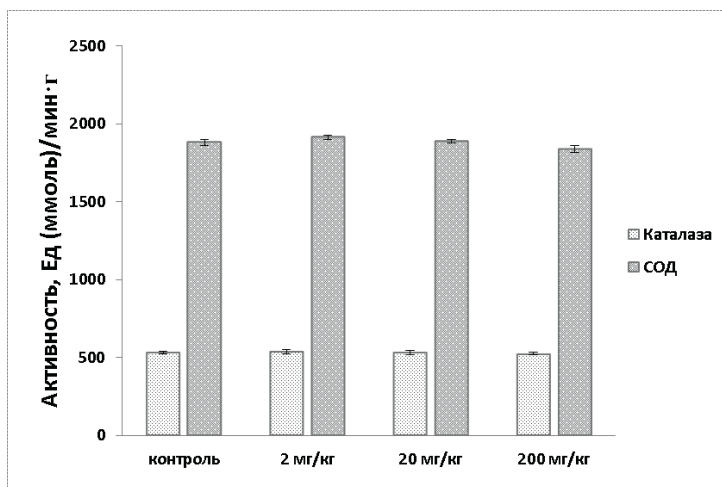


Рис. 4.1.3. Активность ферментов системы антиоксидантной защиты крови крыс линии Wistar при применении препарата «Бисфенол-5» ($M \pm m$)*

*не выявлены достоверные различия между контрольной и опытными группами при $p \geq 0,05$.

Как видно из рисунка, в экспериментальных группах крыс имеются тенденции к уменьшению активности ферментов системы антиоксидантной защиты крови с повышением количества вводимого препарата: по отношению к опытной группе, получавших терапевтическую дозу, – на 1,5 % и 4,1% ($p < 0,05$) для супероксиддисмутазы в опытных группах, получавших дозы 20 мг/кг и 200 мг/кг массы тела, и на 0,9 % и 1,7 % ($p < 0,05$) для каталазы в опытных группах, получавших 10 и 100-кратно превышающие дозы, соответственно. По отношению к контрольным значениям активность ферментов увеличивалась в опытных группах, получавших антиоксидант в дозах 2 мг/кг и 20 мг/кг живой массы, на 1,9 % и 0,3 % для супероксиддисмутазы, и на 1,3 % и 0,4 % для каталазы, соответственно. Тем не менее, наблюдаемое увеличение в опытных группах животных не являлось статистически значимым из-за высокой дисперсии полученных данных.

Результаты исследований активностей ферментов антиоксидантной системы показывают, что при введении исследуемого препарата животным в определенных дозах наблюдается повышение активности антиоксидантных ферментов (супероксиддисмутазы и каталазы), то есть стимуляция эндогенной антиоксидантной защиты, и, следовательно, понижение уровня оксидативного стресса, что, скорее всего, объясняет механизмы положительных наблюдаемых эффектов. Возможно, использование синтетического антиоксиданта в определенных количествах в той или иной степени способно индуцировать синхронный синтез эндогенных ферментов для поддержания стационарных условий, которые связаны с уменьшением уровня продуктов перекисного окисления.

Анализ полученных данных показал, что наблюдается взаимосвязь между приростом живой массы и состоянием антиоксидантной защиты крови крыс.

Таким образом, оценка морфофункционального состояния лабораторных животных показала, что при длительном применении антиоксидантного препарата «Бисфенол-5» в дозах 2, 20 и 200 мг/кг массы тела не выявлено со стороны основных систем организма патологии или серьезных отклонений в состоянии здоровья крыс линии Wistar. Общее состояние животных соответствовало ожидаемой клинической картине, изменений их поведения и аппетита не выявлено. Не обнаружено существенных различий в живой массе в контрольных и опытных группах животных, клинические показатели соответствовали

возрастной физиологической норме. Отмечено преимущество опытной группы животных, получавших антиоксидант в дозе 2 мг/кг живой массы: введение исследуемого синтетического антиоксиданта в указанной дозе оказывает положительное влияние на организм, проявляющееся повышением обменных процессов, иммунной резистентности и адаптационного потенциала крыс.

4.2. ОЦЕНКА КАНЦЕРОГЕННЫХ СВОЙСТВ ПРЕПАРАТА «БИСФЕНОЛ-5 ПРИ ВВЕДЕНИИ КРЫСАМ В ТЕЧЕНИЕ ДВУХ ЛЕТ

4.2.1. Оценка патологоанатомической картины внутренних органов лабораторных животных при применении препарата «Бисфенол-5»

Канцерогенное действие препарата «Бисфенол-5» оценивали в дозах 2, 20 и 200 мг/кг массы тела по частоте образования опухолей при внешнем осмотре крыс линии Wistar, патологоанатомическом и гистологическом исследованиях их внутренних органов при плановой эвтаназии.

На последние сутки эксперимента после оценки общего состояния, поведения, регистрации физиологических, гематологических, биохимических показателей крови, животные опытных и контрольных групп были подвергнуты эвтаназии и патологоанатомическому вскрытию с последующей оценкой микроскопической картины внутренних органов через 24 часа после заключительного введения исследуемого антиоксиданта.

Патоморфологическое исследование после окончания экспериментов включало в себя некропсию (аутопсия), макроскопическое изучение и взвешивание внутренних органов и тканей животных. На вскрытии осуществляли наружный осмотр трупа животного на предмет патологических признаков. Полная аутопсия осуществлялась не только у забитых в терминальном состоянии животных, но и павших до этого крыс. Результаты патоморфологического обследования крыс опытных групп, которым вводили антиоксидантный препарат в различных дозах, сравнивали с данными исследования животных контрольных групп.

Макроскопическому исследованию были подвергнуты кожа, головной мозг, лимфатические узлы, селезенка, тимус, легкие, бронхи, сердце, поджелудочная железа, печень, пищевод, желудок, двенадцатиперстная кишка, кишечник, надпочечники, почки, мочевой пузырь, яички, щитовидная железа.

Оценку весовых (массовых) показателей основных внутренних органов крыс проводили взвешиванием таких органов как головной мозг, печень, сердце, почки, надпочечники, легкие, селезенка, тимус, поджелудочная железа, желудок, яички и яичники.

В результате проведения патологоанатомического вскрытия у лабораторных животных, как опытных, получавших препарат «Бисфенол-5», так контрольных крыс, отклонений и изменений в их макроскопическом строении не выявлено, внутренние органы не увеличены, соответствовали физиологической норме. Жидкость в полостях не установлена.

Перед эвтаназией внешний осмотр животных показал, что крысы нормально упитаны, имеют правильное телосложение. Во всех изученных группах животных шерсть имела опрятный вид, была чистой, равномерной, гладкой, блестящей, без очагов облысения. Кожа розовая, подкожная клетчатка и мышцы изменений не отмечалось. Раздражение кожи, некроза тканей или уплотнения подкожной клетчатки и мышцы, а также других признаков раздражающего действия (отека, инфильтрации, изменения цвета мышц) не выявлено. Мышцы нормальной консистенции, бледные. Целостность зубов была сохранена. Анус во всех случаях был сомкнут. Выделения из естественных отверстий отсутствовали. Деформации конечностей или их отека не обнаружены. Покровы подошвенных частей стоп были бледными, без изменений.

При осмотре регионарных лимфатических узлов изменений не отмечалось. Слюнные железы и подчелюстные лимфатические узлы были также без изменений с умеренной плотностью, округлой или овальной формы, однородно розоватого или бледно-желтоватого цвета. Стенка вены гладкая, без уплотнений. Интима аорты была гладкой, блестящей, беловатой окраски. Диаметр аорты неизменен.

Грудная и брюшная полость в расположении внутренних органов были без нарушений. Брюшная полость чистая, блестящая, розового цвета. При вскрытии грудной полости обнаруживали гладкую, блестящую висцеральную и париетальную плевру, без наличия выпота в плевральной полости. Костно-суставной аппарат видимых изменений

не имел. Мягкие ткани шеи, трахеи, гортани, глотки без видимых изменений. Язык был чистый, без дефектов. Слизистые оболочки (рта, носа) без видимых патологических изменений, бледно-розового цвета, блестящие, гладкие.

Проведение некропсии и макроскопического обследования органов и тканей опытных и контрольных животных показало отсутствие патологических изменений, признаков воспаления, некроза, геморагии, отека, указывающих о неблагоприятном воздействии тестируемого препарата «Бисфенол-5» в различных дозах. При изучении брюшной полости выявлялось анатомически правильное расположение внутренних органов, у таких органов как желудок, печень, кишечник, почки, надпочечники, селезенка, сердце, легкие, тимус, щитовидная железа, мочевого пузыря и яички. Все органы были нормальных размеров, формы, характерной окраски и обычной консистенции; полости без выпота и спаек, париетальный и висцеральный листки плевры и брюшины тонкие, блестящие и гладкие. Сальник без морфологических изменений. Внутренние полости тела не содержали свободной или осумкованной жидкости у животных в опытных и контрольной группах. Раздражающего влияния изучаемого вещества или его растворителя на слизистую оболочку желудочно-кишечного тракта животных не наблюдалось. Пищевод видимых изменений не имел. Слизистая пищевода была блестящей, гладкой, бледно-розовой окраски.

На всём протяжении желудочно-кишечного тракта у крыс не было выявлено явлений частичной или полной непроходимости. Стенки желудочно-кишечного тракта были нормальной толщины, слизистая оболочка обычного цвета и вида. Серозные оболочки были гладкими, блестящими. Сосуды брыжейки умеренно инъецированы, абдоминальные лимфатические узлы обычных размеров и цвета.

Тимус опытных крыс не имел существенных морфологических различий от контрольных, был треугольной формы, беловатой окраски и умеренно плотной консистенции, обычных размеров.

Щитовидная железа была нормальной величины и формы, розовато-красноватого цвета и имела умеренно плотную консистенцию обычную плотность, и плотно прилегала к гортани.

Молочные железа самок была нормальной величины и формы, без уплотнений на ощупь, выделения из сосков отсутствовали.

Легкие были эластичными, имеют вид пористой, губчатой структуры, без уплотнений на ощупь; покрыты гладкой блестящей висце-

ральной плеврой, поверхность ткани имела бледно-розовую окраску. Нормальное кровенаполнение, без очагов некроза, спадались при вскрытии грудной клетки. Дыхательные пути были свободны. Просвет трахеи и крупных бронхов не изменен, гнойного и катарального экссудата, слизи в них не выявлено. Слизистая оболочка внелегочных бронхов была гладкой, блестящей, бледно-розового цвета.

Сердце было характерной окраски, величины и формы, умеренно полнокровным; мышца сердца была однородной коричневатой окраски, умеренно плотной. Ткань на разрезе имела однородную бледно-розовую окраску. Листки перикарда тонкие, прозрачные, гладкие. Клапаны сердца тонкие, блестящие, гладкие. Хорошо видны артериальные и венозные сосуды. Структура мышечной ткани и состояние соединительной ткани также не имели патологических изменений и морфологически не отличались от контроля.

Селезенка имела характерную форму, блестящую поверхность и окраску темно-красного или вишневого цвета, умеренно плотноватую эластичную консистенцию, умеренно полнокровная, без признаков отека. Поверхность органа гладкая и выпуклая, капсула тонкая. На разрезе на темно-красном фоне органа заметны мелкие сероватой окраски фолликулы.

Желудок имел обычную форму и размер, просвет был заполнен плотным пищевым содержимым. Орган был без кровоизлияний и наложений слизи. Слизистая тела желудка была бледно-розовой, блестящей, складчатой. В четырех случаях (в двух – контрольном варианте (1 и 2 группа), в двух-опытном варианте (20 и 200 мг/кг) (2 группа) был найден язвенный дефект слизистой оболочки).

Тонкий, толстый, слепая кишки имели обычную форму и размеры, без воспалений, кровоизлияний и наложений слизи. Слизистая оболочка тонкого кишечника была бледно-розовой окраски, блестящая, гладкая. Слизистая оболочка толстой кишки сероватого цвета, блестящая, гладкая. В тонком кишечнике содержалось нормальное количество физиологического кашецеобразного полужидкого содержимого, без специфического запаха, желтовато-коричневого цвета. Пейеровы бляшки были хорошо выражены. В контрольном и опытных вариантах (20 и 200 мг/кг) по одному животному обнаружены дефекты слизистой оболочки с красноватым оттенком 0,5x1 мм. Слепая кишка заполнена физиологическим содержимым, стенка ее видимых изменений не имела. Толстая кишка содержала оформленный кал.

Поджелудочная железа морфологически не отличилась от контрольных, плоской формы, дольчатая, нормальной консистенции, бледно-розового или беловато-желтого цвета, не имела внешних патологических изменений.

Печень была не увеличена, имела обычное строение, поверхность гладкая, края ровные или слегка закруглены; ткань умеренно плотной консистенции, блестящая, темно-вишневой, коричневатой окраски с сизым оттенком. Умеренно полнокровная и плотная, без признаков отека, без очагов некроза и дистрофических изменений. Дольчатая, более темные участки ткани соответствовали центральным зонам долек. Кровеносные сосуды были не видны. Капсула органа была тонкой, прозрачной. Структура печеночных долек не имела особенностей.

Почки были не увеличены в объеме, умеренно полнокровные, плотные на ощупь, ткань упругая. Общее строение органа, структура почечных клубочков и извитых канальцев были без особенностей. Поверхность органа была гладкой, однородного коричневато-сероватого цвета. Капсула органа тонкая, прозрачная, легко отделялась; почечные лоханки свободны, без особенностей. На разрезе органа четко различаются слои коркового и мозгового вещества. Как на поверхности органа, так и при разрезе кровоизлияний и макроскопических изменений ткани не обнаружили.

Надпочечники морфологически не отличилась от контрольных. Надпочечники округлой формы, с гладкой поверхностью, желтоватой или желтовато-коричневой окраски, соотношение коркового и мозгового вещества в норме, умеренно плотные. На разрезе четко выделяется темноокрашенное мозговое вещество.

Яичники или яички морфологически не отличилась от контрольных, видимых изменений не имели. Яичники темно-красной окраски, с неровной поверхностью, умеренно плотные. Тело матки самок нормальной величины и формы, обычной плотности. Рога матки тонкие, слизистая – блестящая, бледная. Яички самцов беловатого цвета, обычных размеров и плотности.

Мочевой пузырь был пуст, иногда содержал незначительное количество прозрачной мочи с желтоватым оттенком. Слизистая оболочка органа гладкая, блестящая, бледной окраски. Стенка макроструктурных изменений не имела.

Головной мозг анатомически не отличался от контрольных. Оболочки органа были тонкими, прозрачными; без сосудистых рас-

стройств, воспалительных и дистрофических изменений. Поверхность гладкая, полость черепа и твердая мозговая оболочка без патологических изменений. На фронтальных разрезах мозга отчетливо выделяются серое и белое вещество умеренной плотности. Желудочки мозга обычной величины, расширения не отмечалось.

Оценка весовых показателей основных внутренних органов крыс линии Wistar показало, что препарат «Бисфенол-5» в дозах 2, 20 и 200 мг/кг массы тела не влияет на массу внутренних органов. После взвешивания внутренних органов проводилась определение массовых коэффициентов по отношению массы органа к массе тела животного. В табл. 4.2.1.1 и 4.2.1.2 приведены весовые коэффициенты внутренних органов опытных крыс, получавших исследуемый синтетический антиоксидант в различных концентрациях, в сравнении с контрольными.

Таблица 4.2.1.1

**Значения массовых коэффициентов основных органов
лабораторных крыс группы 1 (самцов)
при применении препарата «Бисфенол-5»
в течение двух лет (г/кг массы тела, $M \pm m$, $n = 200$)**

Орган	Подгруппа животных, $M \pm m$			
	1 (контроль)	2 (2 мг/кг)	3 (20 мг/кг)	4 (200 мг/кг)
Головной мозг	7,7±0,9	7,8±1,0	7,5±1,1	7,9±0,7
Печень	48,9±5,6	50,1±5,4	46,9±5,8	44,4±6,1
Сердце	3,9±0,5	3,9±0,6	4,1±0,3	3,8±0,4
Почки	7,6±0,7	7,5±0,4	7,2±0,9	7,5±0,8
Надпочечники	0,4±0,06	0,5±0,04	0,3±0,08	0,3±0,09
Легкие	7,9±1,1	8,2±0,9	7,9±0,6	7,6±1,0
Селезенка	5,8±0,8	6,0±1,1	6,1±1,0	5,7±1,4
Тимус	2,1±0,5	2,1±0,2	2,0±0,3	1,9±0,7
Поджелудочная железа	1,7±0,6	2,1±0,4	1,6±0,4	1,3±0,8
Желудок	9,9±1,4	10,0±1,0	9,7±0,9	10,1±1,2
Яички	8,0±1,0	8,0±1,1	7,9±0,8	7,7±1,3

Таблица 4.2.1.2

**Значения массовых коэффициентов основных органов
лабораторных крыс группы 2 (самки)
при применении препарата «Бисфенол-5»
в течение двух лет (г/кг массы тела, $M \pm m$, $n = 200$)**

Орган	Подгруппа животных, $M \pm m$			
	1 (контроль)	2 (2 мг/кг)	3 (20 мг/кг)	4 (200 мг/кг)
Головной мозг	7,4±1,5	7,8±1,1	7,1±1,0	7,0±0,9
Печень	47,5±5,9	51,1±5,2	45,7±4,7	43,9±5,8
Сердце	3,8±0,6	3,7±0,3	3,8±0,7	3,5±0,6
Почки	7,6±0,9	7,9±1,4	7,5±0,8	7,5±1,1
Надпочечники	0,5±0,08	0,4±0,03	0,5±0,07	0,5±0,09
Легкие	7,7±1,2	7,9±1,3	8,0±0,7	7,5±1,2
Селезенка	5,9±1,8	5,9±1,2	5,5±1,1	5,3±1,6
Тимус	2,1±0,3	2,2±0,4	1,9±0,6	1,6±0,8
Поджелудочная железа	1,6±0,6	1,7±0,3	1,4±0,5	1,1±0,9
Желудок	9,6±1,7	9,2±1,0	9,6±1,2	9,5±1,5
Яичники	8,1±1,1	8,4±1,0	7,8±1,5	7,8±1,4

По результатам представленных данных у крыс, получавших препарат «Бисфенол-5» в дозах 2, 20 и 200 мг/кг, статистически достоверных изменений абсолютной массы внутренних органов не выявлено. При действии препарата в дозе 2 мг/кг массы тела на крыс группы 1 (самцы) и группы 2 (самки) отмечалась тенденция к повышению массы большинства внутренних органов подопытных животных. Однако эти изменения находились в пределах вариации данного показателя у контрольных животных. Таким образом, полученные данные по взвешиванию внутренних органов крыс линии Wistar свидетельствуют об отсутствии различий по массовым коэффициентам органов между экспериментальными группами животных, получавшими препарат «Бисфенол-5» в различных дозах, и контрольными.

Дальнейшее патоморфологическое обследование внутренних органов и тканей опытных и контрольных крыс линии Wistar показало,

что в органах исследуемых групп животных (самцов и самок) были выявлены новообразования (табл. 4.2.1.3). Патоморфологическое исследование изучаемого препарата проводили во время процедуры макроскопического и гистологического исследования внутренних органов и тканей крыс, а также всех макроскопически выявленных новообразований. Самки самцы крыс были условно разделены на 4 группы по 100 в каждой (50 самок и 50 самцов): первая группа – контрольная (основа препарата), вторая, третья и четвертая – опытная (2 мг/кг, 20 мг/кг и 200 мг/кг, соответственно).

Таблица 4.2.1.3

**Опухолевые изменения, обнаруженные
при плановой эвтаназии самцов и самок крыс**

Описание группы	Контроль (растительное масло) самцы/самки	Группа 2 (препарат Бисфенол-5 2 мг/кг) самцы/самки	Группа 3 (препарат Бисфенол-5 20 мг/кг) самцы/самки	Группа 4 (препарат Бисфенол-5 200 мг/кг) самцы/самки
<i>Кожа</i>				
Фиброма	0/0	1/0	1/0	0/0
Меланома	0/0	0/0	0/0	1/0
Гемангиома	1/0	0/1	0/0	0/0
<i>Подчелюстное пространство</i>				
Ангиоматоз	0/1	0/0	0/0	0/0
<i>Мягкие ткани</i>				
Фиброма	0/1	1/0	0/0	0/0
Липома	0/0	0/0	1/0	0/0
<i>Забрюшинная жировая клетчатка</i>				
Меланома	0/0	0/0	1/0	0/0
Лимфома	1/0	0/1	0/0	0/0
<i>Брюшная полость</i>				
Фибросаркома	0/0	0/0	0/0	0/1
<i>Средостение</i>				
Лимфоретикулосаркома	0/0	0/0	0/0	1/0
<i>Грудная полость</i>				
Ангиосаркома	0/0	0/0	1/0	0/0
<i>Щитовидная железа</i>				
Фолликулярная аденома	0/0	1/0	0/0	0/0

Продолжение табл. 4.2.1.3

Описание группы	Контроль (растительное масло) самцы/самки	Группа 2 (препарат Бисфенол-5 2 мг/кг) самцы/самки	Группа 3 (препарат Бисфенол-5 20 мг/кг) самцы/самки	Группа 4 (препарат Бисфенол-5 200 мг/кг) самцы/самки
Фолликулярно-папиллярный рак	0/1	0/0	0/0	1/0
Фолликулярный рак	2/0	0/1	1/4	3/2
Папиллярный рак	0/2	0/1	1/0	0/0
Медуллярный рак				
<i>Поджелудочная железа</i>				
Цистаденома	0/0	1/0	0/1	0/0
Эндокриноклеточная аденома	0/1	0/0	0/0	0/0
<i>Легкие с бронхами</i>				
Аденокарцинома	1/0	0/1	0/0	0/0
Лимфома	1/3	4/1	1/1	1/2
Лимфогранулематоз	0/1	0/0	1/0	0/0
Мелкоклеточный рак	0/0	0/1	0/0	0/0
Лимфоретикулосаркома	0/0	1/0	1/0	0/0
<i>Печень</i>				
Лимфома	1/0	0/0	0/0	0/1
Гемангиоэндотелиома	0/0	0/0	1/0	0/0
<i>Сальник</i>				
Лимфома	1/0	0/1	0/0	0/0
<i>Почки</i>				
Лимфома	0/0	0/0	1/0	0/0
Гамартома	1/0	1/0	0/0	0/0
<i>Надпочечники</i>				
Аденома	1/2	1/1	2/0	1/3
Ганглионеврома	0/0	1/0	0/0	0/0
<i>Тимус</i>				
Лимфома	1/0	0/2	0/0	0/0
Тимома (А, В1, АВ) типов	1/0	1/0	0/2	1/0
Злокачественная фиброзная гистиоцитома	1/0	0/0	0/0	0/0
<i>Селезенка</i>				
Лимфома	0/1	1/1	0/0	0/0
Меланома	0/0	0/0	1/0	0/0

Продолжение табл. 4.2.1.3

Описание группы	Контроль (растительное масло) самцы/самки	Группа 2 (препарат Бисфенол-5 2 мг/кг) самцы/самки	Группа 3 (препарат Бисфенол-5 20 мг/кг) самцы/самки	Группа 4 (препарат Бисфенол-5 200 мг/кг) самцы/самки
<i>Лимфатические узлы</i>				
Лимфома	0/0	0/0	0/1	1/0
Меланома	1/0	0/0	0/0	0/0
Лимфогранулематоз	0/1	0/0	0/0	1/0
<i>Головной мозг</i>				
Эпителиоидноклеточная ангиосаркома	0/0	0/0	1/0	0/0
Хромобная аденома	1/0	0/0	0/0	0/0
<i>Тонкая кишка</i>				
Лимфома	1/0	0/0	0/0	1/0
<i>Толстая кишка</i>				
Лимфогранулематоз	0/0	0/0	0/1	0/0
Лимфома	0/0	0/0	0/0	1/0
<i>Брыжейка кишечника</i>				
Полиморфноклеточная саркома	0/0	0/0	0/0	0/1
Липома	0/0	1/0	0/0	0/0
<i>Семенники</i>				
Лейдигома	1/-	0/-	0/-	0/-
<i>Молочные железы</i>				
Фиброма	-/2	-/0	-/0	-/1
Злокачественная фиброзная гистиоцитомы	-/1	-/1	-/1	-/0
Аденокарцинома	-/1	-/0	-/0	-/1
Периканаликулярная фиброаденома	-/0	-/1	-/0	-/0
<i>Яичники</i>				
Цистоаденома	-/0	-/0	-/1	-/0
<i>Матка</i>				
Кавернозная гемангиома	-/1	-/0	-/0	-/0
Лейомиосаркома	-/0	-/0	-/1	-/0

Окончание табл. 4.2.1.3

Описание группы	Контроль (растительное масло) самцы/самки	Группа 2 (препарат Бисфенол-5 2 мг/кг) самцы/самки	Группа 3 (препарат Бисфенол-5 20 мг/кг) самцы/самки	Группа 4 (препарат Бисфенол-5 200 мг/кг) самцы/самки
Аденокарцинома эндометрия/	-/0	-/0	-/0	-/2
Атипическая железистая гиперплазия эндометрия/	-/0	-/0	-/0	-/1
Стромальная гиперплазия эндометрия	-/0	-/0	-/1	-/0
Стромальная саркома эндометрия	-/0	-/0	-/0	-/1
Лейомиома	-/0	-/0	-/2	-/1
Фиброзные полипы	-/1	-/2	-/0	-/0

Результаты патоморфологических исследований органов и тканей подопытных животных показало, что в органах всех изучаемых групп было обнаружено более 35 вариантов различных новообразований. При сравнении результатов частоты образования опухолей и частоты встречаемости определенного вида опухоли в опытных группах изучаемого препарата с данными в контрольной группы животных, получавших основу препарата, с применением точного критерия Фишера, было установлено отсутствие статистически значимых межгрупповых различий. Наиболее распространенными новообразованиями у крыс обоих полов являлись такие опухоли, как злокачественная неходжкинская лимфома легких, фолликулярный рак щитовидной железы и аденома надпочечников. Тем не менее, характер распределения новообразований в контрольной и опытных группах животных был однородным, что указывает о спонтанном происхождении новообразований в результате естественного старения. Возникновение выявленных опухолей является характерным процессом для данного вида животных, и описаны отечественными и зарубежными исследователями как спонтанная возрастная патология [23, 25, 26].

Таким образом, сравнение частоты возникновения опухолей и встречаемости их определенного вида показало отсутствие статистически значимых различий между опытной и контрольной группами.

4.2.2. Оценка гистологической картины внутренних органов лабораторных животных при применении препарата «Бисфенол-5»

Патогистологическое исследование внутренних органов лабораторных животных было осуществлено с применением полученных образцов тканей от крыс линии Wistar, которым вводили препарат «Бисфенол-5» дозах 2, 20 и 200 мг/кг, а также образцов тканей от животных контрольных групп. Гистологическому исследованию подлежали головной мозг, язык, слюнные железы (подчелюстные, околоушные), щитовидная железа, аорта, сердце, трахея, бронхи, легкие, гортань, поджелудочная железа, печень, селезенка, лимфатические узлы (подмышечные и паховые), пищевод, желудок, тонкая кишка, толстая кишка, почки, надпочечники, мочевой пузырь, придатки, семенники, яичники, матка.

Гистологическое исследование образцов осуществляли по общепринятым методикам, включавшим фиксацию материала в 10 %-м растворе нейтрального формалина, промывку в проточной воде, обезвоживание в спиртовых растворах, пропитку в парафине, заливку в парафин, резку парафиновых блоков на микротоме, окраску срезов гематоксилином и эозином и их микроскопирование.

Оценка результатов гистологического исследования морфологических особенностей внутренних органов и тканей животных опытной группы после окончания введений препарата «Бисфенол-5» в различных дозах показало, что патологических изменений в органах крыс не было установлено, выявлялись отдельные индивидуальные морфологические особенности, не выходявшие за рамки видовых и возрастных особенностей, наблюдаемых у крыс. Гистологических изменений не установлено у животных контрольной группы: микроструктура органов и тканей у крыс данной группы также соответствовала их видовым и возрастным особенностям.

Кожа крыс контрольной и опытной групп была покрыта эпидермисом из отчетливых рогового, зернистого, шиповатого и базального слоев, строение которых не отличались от нормы. Морфология и целостность кератиноцитов были без патологических изменений, не нарушены. Дерма представляла собой волокнистую соединительную ткань, содержащая сальные железы и волосяные фолликулы обычно

го строения, без явлений фиброза, инфильтрации, или других патологий. В отдельных образцах имелась незначительное количество под-кожной жировой клетчатки.

Глаз и его придаточный аппарат контрольных и опытных крыс также не имела признаков патологических изменений. Роговица, передняя камера, радужка и цилиарное тело не имели видимых изменений, угол передней камеры глаза и фонтановы пространства были не склерозированы. Капсула хрусталика была отчетливо видна. Сетчатка имела типичное строение с хорошо выраженными ядерным, фоторецепторным, сетчатым и ганглионарным слоями, деструктивных и дистрофических изменений, инфильтрации не выявлялись. Сосудистая оболочка заднего сектора глаза, склера, пигментный эпителий, диск и начальный ретробульбарный отрезок зрительного нерва, а также веки и конъюнктивы не имели признаков патологических изменений.

Внутренняя оболочка аорты состояла из эндотелиальных клеток с четкими ядрами. Деструкций эластических волокон средней оболочки не выявлялось.

Лимфатические узлы имели правильное гистологическое строение. Снаружи лимфатические узлы были покрыты тонкой волокнистой соединительнотканной капсулой; четко выявлялось периферически расположенное более плотное темное корковое вещество, образованное большим количеством лимфатических фолликулов с слабо выраженными герминативными центрами, паракортикальная зона, обнаруживающая глубже, и центральное более светлое мозговое вещество, состоящее из мозговых тяжей и синусов. В отдельных случаях, у некоторых крыс, герминальные центры не обнаруживались. Внутри отходили тонкие соединительнотканые трабекулы, анастомозирующие между собой в глубоких частях узла. В корковом веществе обнаруживались лимфоидные фолликулы, представляющие собой крупные лимфоциты и плазматические клетки. Между лимфоидными фолликулами у контрольной группы животных отмечали островки плазмцитоподобных моноцитов.

Слюнные железы, такие как околоушная, поднижнечелюстная и подъязычная железы были построены по-обычному ацинарному типу с соответствующим каждой железе нормальным вариантом секреторного концевого отдела (серозного, серозномучинозного и мучинозно-

го соответственно). Паренхима и строма желез без патологических изменений.

При патогистологическом исследовании основных внутренних органов у экспериментальных групп животных, которым вводили препарат «Бисфенол-5» дозах 2 и 20 мг/кг массы тела и контрольных групп визуализировалась следующая гистологическая картина:

Головной мозг микроскопически не отличался от нормы. Цитоархитектоника коры больших полушарий мозга была не изменена, регрессивные нарушения глии отсутствовали. Мягкая мозговая оболочка мозга была не инфильтрирована. Сосуды мозговых оболочек были не гиперемированы, умеренно полнокровными; кортикальные сосуды равномерного диаметра. Содержали единичные эритроциты. Вещество мозга серовато-белого цвета, без явлений инфильтрации, гиперемии или отека. Признаки острого или хронического заболевания нейронов не наблюдалось. Нервные клетки во всех отделах были нормальных размеров и формы, обычного расположения, без каких-либо явлений дистрофии. Ядра нейронов были светлыми, ядрышки четкими, ядерная мембрана была тонкой. В цитоплазме выявлялась достаточное число хроматофильной зернистости Ниссля: пылевидной в цитоплазме нейронов 2-3-го слоев и более крупной – в цитоплазме нейронов 5-го слоя коры больших полушарий. Нейроны разных ядерных образований среднего и продолговатого мозга имели крупные глыбки тигроида. Ядра нервных и глиальных клеток были без изменений, их количество не увеличено; ядерная мембрана была тонкой, уровень хроматина нормальное, ядрышки четкими. В миокарде левого и правого желудочков сердца не выявлено признаков отека или гиперемии. В гипоталамусе, у двух-трех животных, как опытной, так и контрольной группы, в парафоронкулярной области, наблюдалось наличие небольших групп нейронов с повышенной базофильной цитоплазмой, имеющий однородный или зернистый материал. В головном мозге у самцов и самок крыс контрольной и опытной группы по одной в каждой выявлялись выраженный периваскулярный отёк, некробиоз и очаговый некроз. Результаты гистологического исследования головного мозга опытных групп (2 и 20 мг/кг) и контрольных групп крыс линии Wistar представлена на рис. 4.2.2.1.

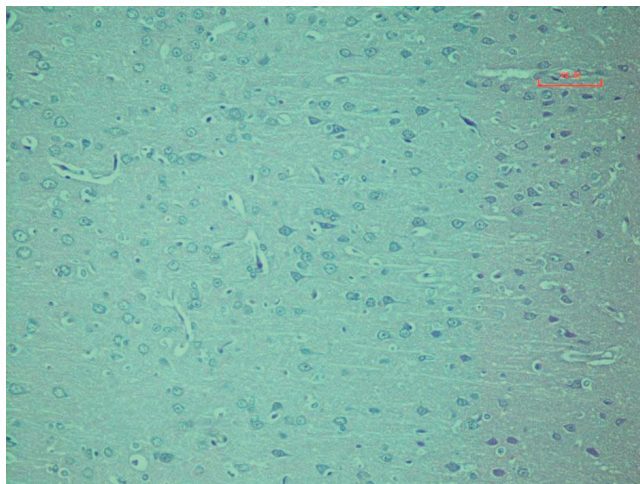


Рис. 4.2.2.1. Микрофотография головного мозга крысы.
Окраска гематоксилин-эозином. Ув. $\times 200$

Гипофиз состоял из передней части (аденогипофиз), промежуточной (аденогипофиз) и задней части (нейрогипофиз). В передней части эозинофильные и базофильные эндокринные клетки не отличались от нормы. Они состояли из зернистой цитоплазмы полигональной формы, округлого ядра, умеренно базофильных с пылевидным хроматином и мелких ядрышком. У самцов крыс выявлялись большое количество эозинофильных клеток по сравнению с самками. Хромобные клетки, расположенные в основном по периферии в аденогипофизе, были мелкими, в виде небольших групп с неокрашенной скудной цитоплазмой. Нейросекреторные клетки были рассеянными по всей паравентрикулярной области гипоталамуса. Передняя часть содержала развитую и полнокровную сеть кровеносных капилляров. Промежуточная часть из клеток, состоящих из светлого коллоида, который слабо окрашивался, и клеток среднего размера с базофильной цитоплазмой. Задняя доля (нейрогипофиз) имела рыхлое волокнисто-ячеистое строение и была представлена пучками аксонов и разбросанными среди них глиальными элементами. Нейрогипофиз содержал, как и аденогипофиз (передняя часть), развитую и полнокровную сеть кровеносных капилляров, значительное количество аксонов нейросекреторных клеток и гормон-содержащих булавовидных образований. Строма задней части была представлена нейроглиальными клетками.

Сердце состояло из плотно расположенных пучков мышечных волокон, равномерно окрашенных эозином; из эпикарда, миокарда, эндокарда (рис. 4.2.2.2). Мышечные волокна были с хорошо выраженной продольно-поперечной исчерченностью. В эпикарде выявлялись значительное количество жировой ткани и крупные кровеносных сосуды. На эндокарде наблюдалось ядра клеток эндотелия, ниже располагалось рыхлый слой волокнистой соединительной ткани, глубже – мышечно-эластический слой. Эпикард, миокард, эндокард (в том числе клапаны) и субэндокардиальный слой не имела патологических особенностей. Миокард был представлен пучками кардиомиоцитов, располагавшимися в продольном, поперечном и косом направлениях. Кардиомиоциты имели типичный вид, с четкими контурами и нормальное расположение. Они были удлиненоовальной формы, содержали богатые хроматином ядра и эозинофильную цитоплазму; ядра овальной или округлой формы, ядерная оболочка была тонкой. Кардиомиоциты делились на сократительные и проводящие. Между пучками кардиомиоцитов располагались гемокapилляры соматического типа. Тонкая прослойка соединительной ткани, включающая гемокapилляры, артерии и вены мелкого калибра, рыхлые волокна соединительной ткани, отделяли более толстые пучки кардиомиоцитов друг от друга.

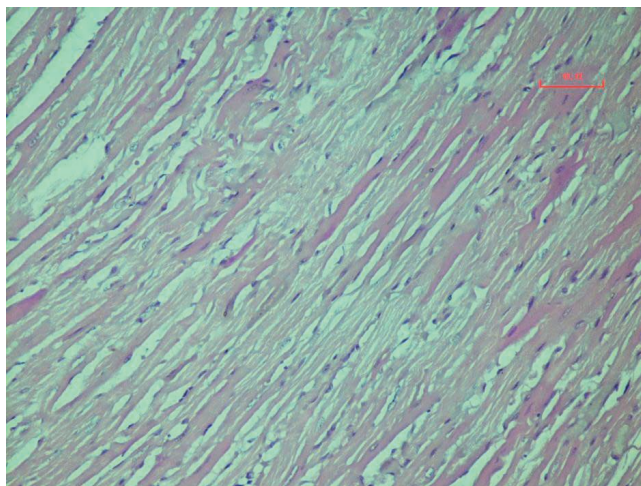


Рис. 4.2.2.2. Микрофотография сердца крысы.
Окраска гематоксилин-эозином. Ув. $\times 200$

Количество стромальной соединительной ткани находилась в пределах нормы, сосуды стромы были с тонкими стенками, умеренного кровенаполнения. В отдельных случаях в кардиомиоцитах определялись включения липофусцина в виде гранул желто-коричневого цвета, расположенных, в основном, в перинуклеарной области. Липофусцин является конечным продуктом окисления внутриклеточных липидов и белков. Известен также как «пигмент старения» «пигмент изнашивания», поскольку накапливается в неделящихся клетках с возрастом, или при многих патологиях, таких как заболевания, связанных с атрофией органов.

Легкие нормального строения (рис. 4.2.2.3). Отчётливо наблюдалось паренхима без патологических явлений. Паренхима состояла из срезанных под разным углом ацинусов, средних и мелких бронхов, терминальных бронхиол и кровеносных сосудов. Типичная структура стенок бронхов была сохранена, морфологических изменений в них не отмечено. Субсегментарные бронхи были представлены многоядерным реснитчатым эпителием, выстилающим слизистую оболочку, содержащую собственную пластинку, крупные пучки гладких миоцитов и подслизистую основу с немногочисленными конечными отделами слизисто-белковых желез и лимфатических узелков. Внутридольковые бронхи были обычного строения, представляли собой двухрядные реснитчатые эпителиальные клетки, где отсутствовала подслизистая основа и мощная циркулярная мышечная пластинка. Конечные терминальные бронхиолы были выстланы однослойным кубическим реснитчатым эпителием, бокаловидные клетки отсутствовали, собственная пластинка содержала эластические волокна и продольно ориентированные пучки гладких миоцитов. Альвеолы были округлой, иногда овальной формы, выстланы плоскими эпителиальными клетками и окружены межальвеолярными перегородками с густой капиллярной сетью. Стенки альвеол были не утолщены, умеренного кровенаполнения. Альвеолярные ходы и мешочки нормальных размеров. Просвет альвеол и бронхов свободный, пуст. Стенки бронхов чистые. Межальвеолярные перегородки сохранены. Наблюдалось хорошо выраженная бронхо-ассоциированная лимфоидная ткань. Эпителий гортани, трахеи, крупных бронхов без изменений, нормальной структуры, ядра были четкими, цитоплазма оксифильная. Слизистая оболочка гортани интактна, голосовые связки, мышечный и хрящевой аппарат, а также адвентиция без патологических явлений. Просвет трахеи па-

тологических продуктов не содержал, слизистая интактна, покрыта реснитчатым эпителием респираторного типа. Хрящевая основа трахеи и надхрящница, а также адвентиция патологических изменений не имели. Острые воспалительные изменения легочной ткани отсутствовали. Подслизистая основа, фиброзно-хрящевая и адвентициальная оболочка также были без изменений. Слизистая оболочка гортани интактна, голосовые связки, мышечный и хрящевой аппарат без признаков патологических изменений. Слизистая трахеи интактна, покрыта реснитчатым эпителием респираторного типа.

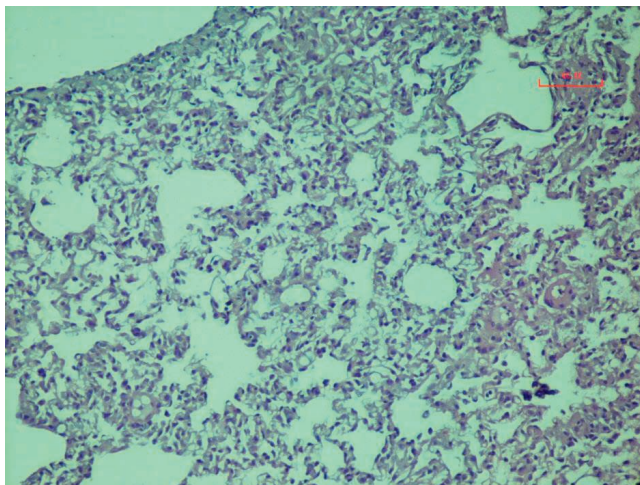


Рис. 4.2.2.3. Микрофотография легкого крысы.
Окраска гематоксилин-эозином. Ув. $\times 200$

Печень микроскопически характеризовалась дольчатой структурой с правильной гексагональной формой, не имела четких границ, была разделена тонкой прослойкой соединительной ткани. Дольки органа состояли из анастомозирующих тяжей печеночных клеток, тяжей гепатоцитов, представляющих собой радиально расположенные печеночные балки. Большинство гепатоцитов были одноядерными, в них хорошо обнаруживалась центрально расположенное, однородно окрашенное ядро, а также эозинофильная цитоплазма, содержащая базофильные гранулы рибонуклеопротеидов (РНП). Гепатоциты имели полигональную форму. Ядро имело округлую или слегка вытянутую форму, располагалось в центре клетки, содержало одно или несколько

отчётливо видимых ядрышек, и глыбки хроматина. Ядерная мембрана была тонкой. В небольшом количестве также выявлялись двуядерные и трёхядерные гепатоциты. Между тяжами клеток печени наблюдались синусоидные капилляры, в которых в существенных количествах выявлялись форменные элементы крови. Синусоидальные капилляры внутри долек были очень мелкими, стенки их выстланы эндотелиальными клетками с овально-вытянутыми гиперхромными ядрами. Лейкоцитарных инфильтратов и соединительно-тканых волокон в паренхиме не наблюдались. Синусоидные капилляры объединялись в центральную вену, часть которых была заполнена кровью. Внутренняя поверхность центральной вены была выстлана эндотелием, имеющие палочковидные и овально-вытянутые ядра, которые густо окрашивались гематоксилином. Соединительнотканые прослойки, состоящие из тонких волокон и клеточных элементов, окружающих междольковые кровеносные сосуды и желчные протоки, были выражены очень слабо, поэтому границы клеток между долями практически не обнаруживались. Портальные тракты были представлены триадами: артериола, венула и желчные протоки. Междольковые вены были сравнительно крупные, стенка лишены гладкомышечных клеток; имели широкий просвет и тонкую стенку, выстланную изнутри одним слоем плоского эндотелия с густоокрашенными палочковидными ядрами. Междольковые артерии по диаметру были существенно меньшие, имели узкий просвет, хорошо выраженную интиму, внутреннюю эластическую мембрану и несколько слоев гладкомышечных клеток в среднем слое стенки. Междольковые желчные протоки располагались в центре портальных трактов, стенки выстланы кубическими эпителиальными клетками со слабо выраженной базальной мембраной. Границы эпителиоцитов довольно хорошо были различимы. Цитоплазма этих клеток была развита слабо. Ядра были мелкими, овальными или округлыми, слабо окрашивались гематоксилином, но имели хорошо очерченную оболочку, Строма портальных трактов содержала единичные макрофаги, гистиоциты, лимфоциты и полиморфно-ядерные лейкоциты. Необходимо отметить, что у одной самки опытной группы и двух самцов контрольной группы в цитоплазме гепатоцитов, располагающиеся по периферии долек или вокруг центральных вен, содержали мелкие вакуоли, что, скорее всего, указывает о их жировой дистрофии. У одного из самцов, кроме содержания мелких вакуолей в цитоплазме гепатоцитов, отмечалась также несущественное увеличение гранул РНП.

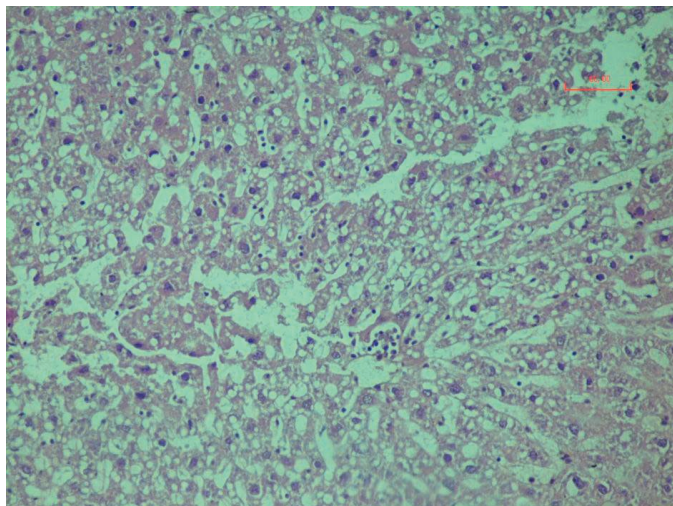


Рис. 4.2.2.4. Микрофотография печени крысы.
Окраска гематоксилин-эозином. Ув. $\times 200$

Почки микроскопически не отличались от нормы, гистоструктура соответствовала общепринятой (рис. 4.2.2.5). Строение нефронов типичное, выявлялись капсула, корковое вещество с почечными тельцами и мозговое вещество. Корковое вещество состояло также из проксимальных и дистальных извитых канальцев, содержало значительное число кровеносных сосудов и нервов. Между корковым и мозговым веществами выявлялись дуговые артерия, междольковые артерии и вены, от которых отходили приносящие (внутридольковые) артериолы, в свою очередь, распадающиеся на капилляры клубочка. Выявлялось кровенаполнение дуговых, терминальных, междольковых и прямых артерий. Венозная система без изменений. Капилляры клубочка собирались в выносящие артериолы, дающие начало первичной перитубулярной сети. Почечные тельца были представлены сосудистым клубочком, заключенного между выносящей и приносящей артериолой, и его капсулы. Сосудистые клубочки были не изменены, капсула не утолщена. Между почечными тельцами хорошо обнаруживались проксимальные и дистальные извитые канальцы с типичной структурой, хорошо выявлялись области плотных пятен дистальных канальцев. В области мочевого полюса выявлялось мочевое (боуменово) пространство и проксимальный извитый каналец, выстланный одно-

слойными кубическими эпителиальными клетками со щеточной камеркой. Между проксимальными извитыми канальцами обнаруживались в существенно минимальном количестве дистальные почечные канальцы. Проксимальные извитые канальцы относительно дистальных были более длинные, имели неправильную форму. Дистальные извитые канальцы имели правильной формы просвет. В корковом веществе выявлялись почечные нервы. Почечный нерв имел малопучковое строение и был округлой формы. Эпиневрий представлял собой рыхлую соединительную ткань. Периневрий состоял из плотной соединительной ткани. Ствол почечного нерва из безмиелиновых и миелиновых нервных волокон. Толстые нервные миелиновые волокна выявлялись на периферии нерва. Центральную часть нервного пучка занимала мякотные и безмякотные нервные волокна. Мозговое вещество более однородное, из почечных пирамид, образованные собирательными трубочками и прямыми участками нефронов, ограниченными кортикальными столбами. В этой области хорошо наблюдались единичные тонкие сегменты петли Генле. Все эти структуры были без особенностей. В вершинах пирамид располагалось почечный сосочек, который открывался в почечную лоханку, выстланная переходным эпителием.

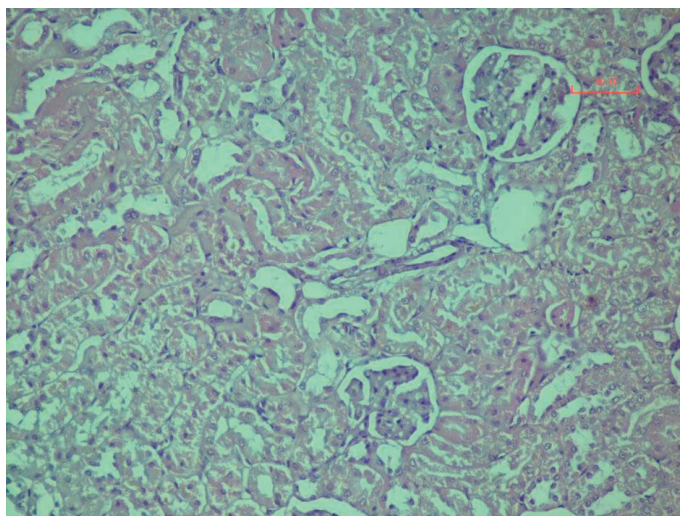


Рис. 4.2.2.5. Микрофотография почки крысы.
Окраска гематоксилин-эозином. Ув. $\times 200$

Селезенка снаружи была покрыта толстой гладкой соединительнотканной капсулой, состоящей из коллагеновых и эластических волокон; от капсулы вглубь органа отходили трабекулы, состоящие из гладких мышечных волокон и кровеносных сосудов. Структура селезенки имела обычный вид, умеренное кровенаполнение. Соединительнотканная капсула и трабекула были хорошо выражены, не утолщены. Соотношение стромы и паренхимы была в норме. Лимфоидные фолликулы были некрупные. Паренхима представляла собой красную и белую пульпы, которые выступали отчетливо. Красная пульпа содержала синусоидные капилляры (венозные синусы), между которыми находились селезеночные тяжи. Стенки венозных синусов из веретенообразных эндотелиальных клеток, между которыми находятся щелевидные пространства. В красной пульпе больше всего выявляются эритроциты. Белая пульпа хорошо сформирована, имела большое количество крупных лимфатических узелков, умеренно активные, маргинальная зона широкая, и периартериальные лимфатические влагалища. Эти лимфоидные узелки в паренхиме селезенки имеют четко выраженные контуры обнаруживаются. Селезеночные артерии белой пульпы были заметны отчетливо, имели узкий просвет и толстую стенку. В лимфатических узлах кора представлена была крупными лимфоидными узелками, находящимися в состоянии активности. В мозговом веществе выявлялись довольно обширные мозговые тяжи из лимфоидной ткани. У некоторых контрольных и опытных крыс выявлялось разрастание соединительнотканых компонентов трабекул и стенок сосудов (в частности, центральных артерий), что можно объяснить возрастными особенностями изучаемых животных.

Тимус имел выраженное дольчатое строение с отчетливой границей между темной, богатой лимфоцитами/тимоцитами корой и более светлым мозговым веществом. Мозговое вещество содержала меньшее количество лимфоцитов, а также светлые эпителиальные клетки, местами образующие концентрические фигуры и тельца Гассала. Дольки разделены интактной соединительнотканной тонкой капсулой. От капсулы глубоко вглубь органа отходили септы, состоящие тонкостенных кровеносных сосудов, заполненными форменными элементами крови. Септы были выстланы уплощённым эндотелием, клетки которого содержали слабо окрашенные ядра вытянутой

формы и были ориентированы вдоль границы просвета сосуда. У некоторых животных, как контрольной, так и опытных групп, видны малые эритроцитарные экстравазаты без признаков воспаления. Строма была умеренно полнокровна; ее эпителиальные клетки крупные, светлые, с пузырьковидным ядром, без видимых патологических изменений. Лимфоциты представлены нормальными зрелыми формами с небольшим числом бластных клеток. Вокруг тимуса выявляется существенное число интактной медиастинальной жировой клетчатки.

Надпочечники имели нормальную гистологическую структуру, была представлена корковым и мозговым веществом. В корковом веществе имелись различные зоны, со своими морфологическими особенностями. Узкий подкорковый слой, или клубочковый слой состоял из клеток с плотной неправильной формы ядром и вакуолизированной цитоплазмой. Мозговое вещество состояло из плотно прилегающих друг к другу клеток, содержащих светлую цитоплазму со скудной зернистостью и незначительное по отношению к цитоплазме круглое ядро с мелкозернистым хроматином. В толще мозгового вещества имелись кровеносные сосуды с просветами полигональной формы. Клетки мозгового вещества также имели незначительное число секреторных зерен. У отдельных крыс, как контрольной, так и опытных групп, получавших изучаемый препарат в дозе 2, 20 мг/кг массы тела ядра клеток мозгового вещества были гетерогенны (разной величины, гиперхромны).

Пищевод и желудок не отличались от нормальной гистологической структуры. Пищевод был представлен полой гладкомышечной трубкой, без признаков патологических изменений. Слизистая оболочка пищевода отдела была представлена многослойным плоским ороговевающим эпителием, собственной соединительнотканной пластинкой и мышечной пластинкой слизистой оболочки. Переход многослойного эпителия в железистую часть хорошо визуализировалась. Желудок имел трехслойное строение стенки, которая была образована из слизистой оболочки, мышечный и серозный слоев. Стенка желудка не истончена, без видимых изменений. Снаружи орган был покрыт серозной оболочкой, состоящей из однослойного плоского эпителия – мезотелия и слоя соединительной ткани. Слизистая оболочка железистой (фундальной, кардиальной и пилорической) части

была образована однослойным однорядным цилиндрическим эпителием, выстилающим желудочные ямки, в основание которых открывались железы желудка. Здесь выделяют собственную пластинку, железы в котором расположены плотно и равномерно. Собственная пластинка имела нормальное строение, заполнена трубчатыми железами. Железы желудка не были атрофированы. Железы дна желудка (фундальные) состояла из главных (зимогенных), париетальных (кислотпродуцирующих), слизистых, камбиальных клеток и клеток дисперсной нейроэндокринной системы. Железы в кардиальном отделе желудка были представлены слизистыми, главными и обкладочными клетками. Большое количество слизистых клеток находится в области шейки желез. Железы пилорического отдела желудка были представлены слизистыми клетками и небольшим количеством главных клеток. Мышечную пластинку и мышечную оболочку желудка образовывали гладкомышечные клетки. Клетки мышечной пластинки располагались в один слой. Подслизистая основа, представленная соединительной тканью, была тонкая, но плотная и не содержала желез; в ней расположены сосудистые сплетения и нервное подслизистое сплетение Мейсснера. Мышечная оболочка была образована внутренним циркулярным и наружным продольным слоем, между которыми в соединительной ткани выявлялись межмышечное нервное сплетение Ауэрбаха. Серозная оболочка была представлена тонким слоем рыхлой волокнистой соединительной ткани, покрывающее однослойным плоским эпителием (мезотелий). Слизистая оболочка желудка покрыта слизью, в ней выявлялись единичные точечные участки с кровоизлияниями. Расширение сосудов во всех слоях стенки не выявлялось.

Кишечник не отличался от нормальной гистологической структуры (рис. 4.2.2.6). Тонкий кишечник представлял собой трубчатый мышечный орган, состоящий из эпителиального, мышечного и серозного слоев. Слои были хорошо различимы, покрыты однослойными призматическими эпителиальными клетками, кишечные ворсинки имели достаточную высоту. Кишечные ворсинки были высланы однослойным цилиндрическим эпителием, содержащим каёмчатые и бокаловидные кишечные клетки. Затем выявлялись базальная мембрана и собственная пластинка слизистой оболочки в виде волокнистой соединительной ткани, где расположены сосуды, нервы и отдельные гладкомышечные клетки. В устья просветов между ворсинками

открывались кишечные крипты. Утолщение и удлинение ворсинок, дополнительная их извитость, отторжение или разрушение кишечных ворсинок не было установлено. Стенка была не истончена, можно было различить подслизистой основу. Покровный эпителий с четкими контурами, представлен бокаловидными и цилиндрическими клетками с базофильной цитоплазмой. Подслизистая, мышечная и серозная оболочки стенки кишки имели обычный вид, с умеренно полнокровными сосудами, в основном лимфогистиоцитарными клеточными элементами в составе стромы. Сосуды были не расширены, явление внутрисосудистого сладжа не зафиксировано. В слизистой оболочке наблюдались лимфоидные фолликулы, образованные более крупными скоплениями лимфоидной ткани – пейеровыми бляшками – в подвздошной кишке. Мышечная оболочка состояла из двух слоев. Толстый кишечник также представлял собой трубчатый мышечный орган, состоящий из эпителиальной, мышечной и серозной оболочек. Однако, в отличие от тонкого кишечника, в толстом отделе кишечника ворсинки отсутствовали. В тонкой и толстой кишках слизистая оболочка сохранена на всем протяжении. Слизистая оболочка толстой кишки состояла из складок и крипт, содержащие большое количество бокаловидных клеток. В собственной пластинке слизистого слоя выявлялись одиночные лимфоидные фолликулы, незначительное число рассеянных диффузно зрелых лимфоцитов. Подслизистая основа была образована из рыхлой волокнистой неоформленной соединительной ткани с жировыми клетками, сосудами, нервными сплетениями. Снаружи толстую кишку покрывала серозная оболочка. Слизистая оболочка покрыта слизью, в ней выявлялись единичные точечные участки с кровоизлияниями. Выстилающие эпителиоциты толстой кишки хорошо выражены, интактные; крипты не увеличены, количество бокаловидных клеток в пределах нормы; подслизистая основа, мышечная оболочка и сероза без патологических изменений. Разрушения бокаловидных клеток кишечника единичны, наблюдались по два случая в контрольном и опытных вариантах. Химус слепой кишки, как и тонкого кишечника вязкий, был окрашен от темносоломенного до желчного цвета. Слизистая оболочка желудочно-кишечного тракта была складчатая, кровеносные сосуды подслизистого слоя кровенаполнены. Деструктивные изменения не выявлялись. Выстилающие эпителиоциты слепой кишки были хорошо выражены, интактные; крипты не уве-

личены, число бокаловидных клеток в пределах нормы; собственная пластинка слизистой оболочки содержала незначительное число рассеянных диффузно зрелых лимфоцитов; подслизистая основа, мышечная оболочка и сероза не имели признаков патологических изменений. После введения препарата «Бисфенол-5» в дозе 20 мг/кг массы тела у отдельных крыс (четыре случая) незначительное расширение и увеличение полнокровия кровеносных сосудов; разрушение ворсинок с образованием эрозий, некротически измененные зоны слизистой оболочки и других признаков патологических явлений не наблюдалось.

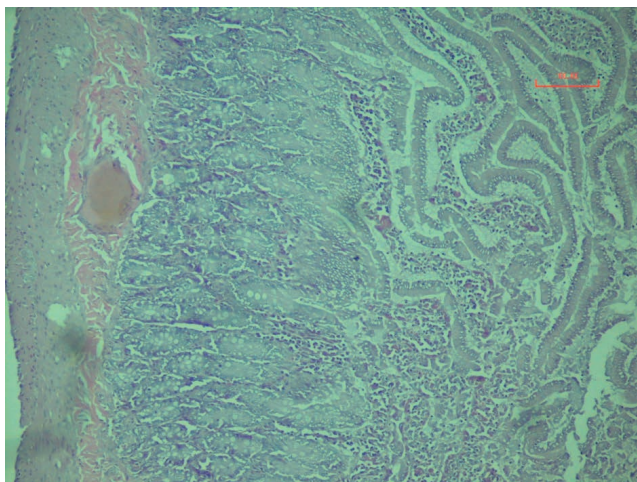


Рис. 4.2.2.6. Микрофотография тонкого отдела кишечника.
Окраска гематоксилин-эозином. Ув. $\times 200$

Яички, семенники, предстательная железа и яичники были нормальной структуры, без патологических изменений. Матка состояла из трёх слоев: серозного, мышечного и эпителиального. Матка и маточные железы представлены эпителиальными клетками. Яичники были представлены бугристыми образованиями, состоящие из коркового и мозгового вещества. В корковом веществе имелось многочисленные фолликулы разной величины и степени зрелости, и незначительное количество атретических фолликулов. Фолликулярный эпителий был нормальной структуры, ядра светлые, четкие, мозговое вещество яичников полнокровное. Семенники состояли из боль-

шого числа извитых канальцев. Для всех канальцев было характерно наличие на их базальной мембране сперматогониев и поддерживающих клеток. Сперматогенные клетки были представлены стволовыми клетками, сперматогониями, сперматоцитами, сперматидами и сперматозоидами. Эпителий семенных канальцев и интерстициальные клетки не изменены, их слушивания не выявлено. Патологических изменений со стороны стромальных элементов, элементов сперматогенеза не установлено. Ядра были четкие, обнаруживалась обычное количество собранных в небольшие группы интактных клеток Лейдига. Между извитыми канальцами находились тонкие прослойки рыхлой соединительной ткани. Со стороны сети яичка также никаких признаков патологических изменений не установлено. Предстательная железа была представлена ацинусами, выстланными однослойным уплощенным эпителием и заполненными гомогенным оксифильным содержимым.

Поджелудочная железа дольчатого строения. В ткани органа не выявлено признаков отека, гиперемии или инфильтрации. Дольки обычных размеров, разделены тонкими прослойками соединительной ткани. Клетки с четкими контурами, конусовидной и кубической формы, с обильной базофильной цитоплазмой. Клетки островков Лангерганса образована скоплениями светлых мелких клеток округлой формы, содержали светлые, четкие ядра, цитоплазма была слабо оксифильной. Эпителиальные клетки внешнесекреторной части железы базофильные, ядра, расположенные в средней части, четкие, с достаточным количеством хроматина. Сосуды стромы поджелудочной железы умеренно полнокровны.

Щитовидная железа снаружи была покрыта соединительнотканной капсулой, состоящей из тонких волнообразных волокон, ориентированных вдоль её поверхности, и клеточных элементов с палочковидными и овальными ядрами. От капсулы внутрь органа наблюдались широкие обильно васкуляризированные прослойки, кровеносные сосуды которых содержали форменные элементы крови. Эти прослойки разделяли паренхиму на дольки. Артерии здесь содержали хорошо развитый меди. Паренхима щитовидной железы содержала большое количество фолликул, имеющих разные размеры, и отделенные друг от друга тонкими пучками соединительной ткани. Фолликулы крупных размеров выявлялись по периферии органа, небольшие фолликулы обнаруживались в центре. Стенка фолликулов выстлана одно-

слойными эпителиальными клетками, границы которого были слабо выражены. Эпителиоциты в основном были представлены кубической формы, в фолликулах большого размера их форма слегка уплощённая. Фолликулы относительно крупного размера содержали слабовакуолизованный коллоид с зернистой структурой, но в некоторых из них имели густой и гомогенный коллоид. Эпителий фолликулов обычной высоты. Ядра эпителиоцитов округлой или овальной формы, четкие, выявлялись в центральных частях клеток. Хроматиновый Рис. в них просматривалась с трудом, поскольку они были густо окрашены. Сосуды стромы были умеренно полнокровны. Гиперемии и инфильтрации ткани щитовидной железы не установлено.

Гистологическая картина тканей основных внутренних органов опытной группы животных, которым вводили препарат «Бисфенол-5» в дозе 200 мг/кг массы тела, была практически идентичной контрольной. Хотя обращало на себя внимание более выраженное полнокровие сосудов некоторых внутренних органов, например, в стенках пищевода и желудка и в тканях печени, тем не менее, их морфологическая структура была без существенных нарушений. Результаты гистологического исследования внутренних органов и тканей опытной группы крыс линии Wistar, которым вводили препарат «Бисфенол-5» представлены на рис. 4.2.2.7–4.2.2.11.

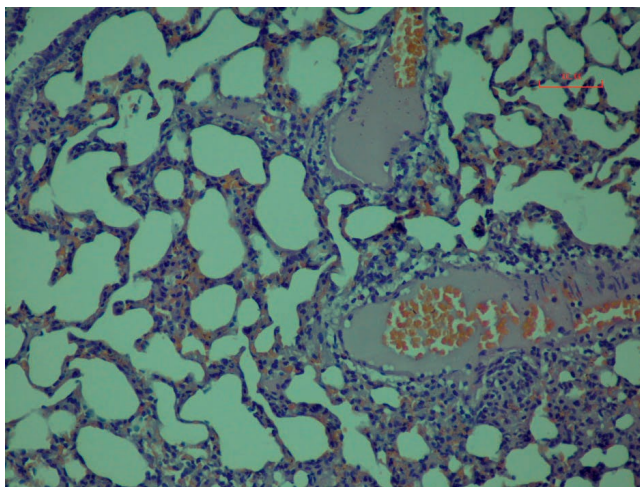


Рис. 4.2.2.7. Микрофотография легкого крысы.
Окраска гематоксилин-эозином. Ув. ×200

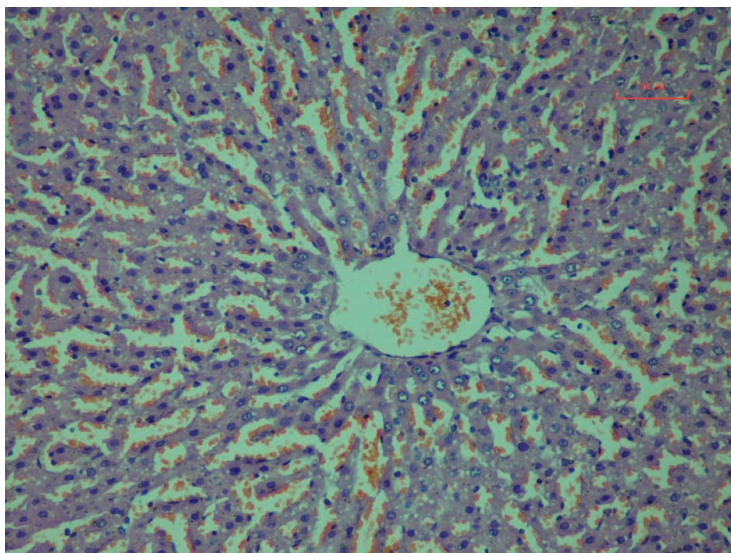


Рис. 4.2.2.8. Микрофотография печени крысы.
Окраска гематоксилин-эозином. Ув. $\times 200$

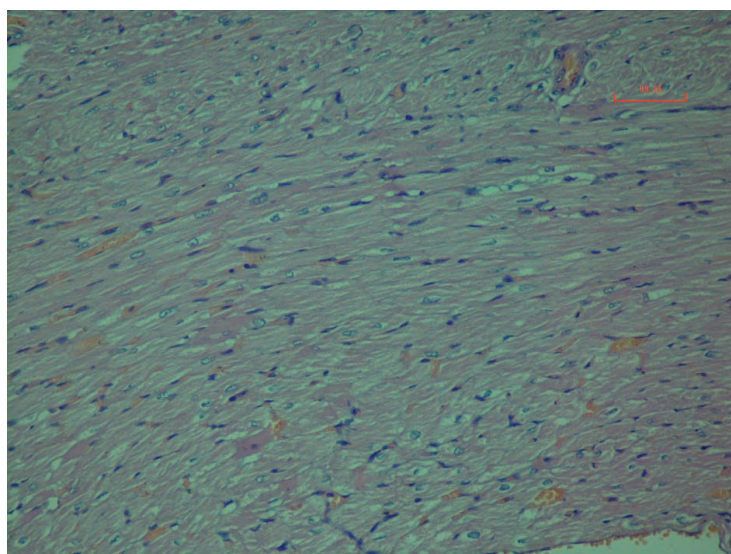


Рис. 4.2.2.9. Микрофотография сердца крысы.
Окраска гематоксилин-эозином. Ув. $\times 200$

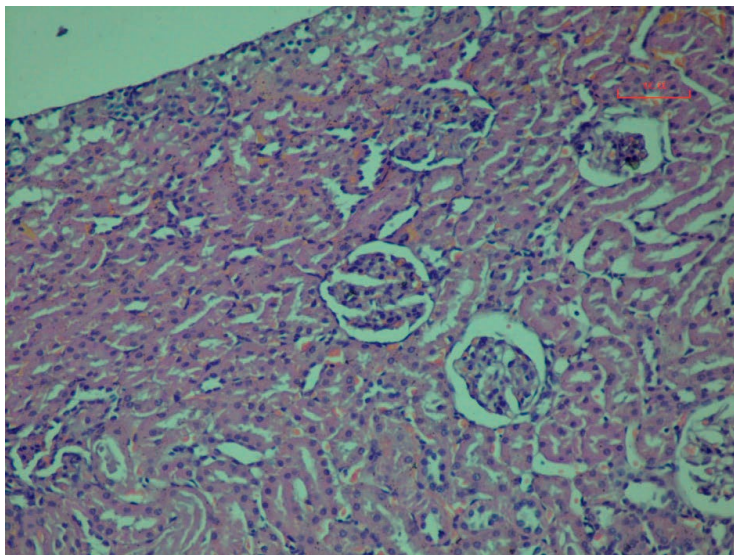


Рис. 4.2.2.10. Микрофотография почки крысы.
Окраска гематоксилин-эозином. Ув. $\times 200$

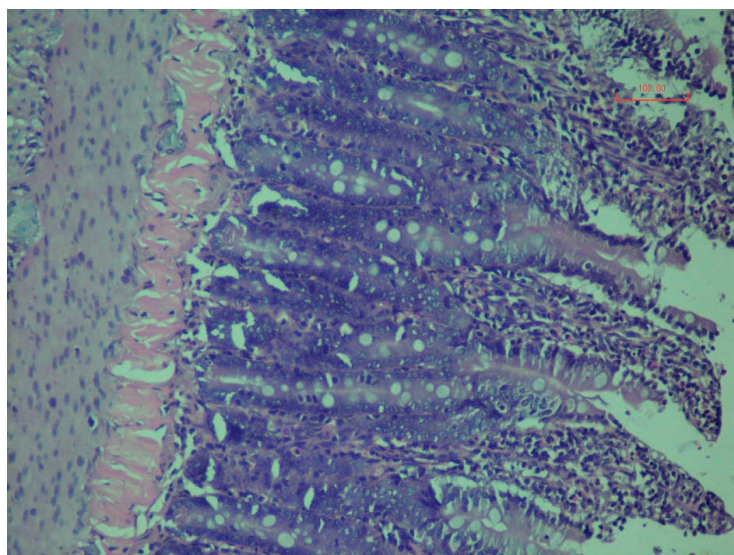


Рис. 4.2.2.11. Микрофотография тонкого отдела кишечника.
Окраска гематоксилин-эозином. Ув. $\times 200$

В печени опытной группы большинство крыс, которым вводили препарат «Бисфенол-5» в дозе 200 мг/кг массы тела, не было обнаружено патологических изменений по сравнению с контролем. Трабекулярное строение печени на срезах, полученных из объектов разных долей печени, нарушений не представляло. Значительная часть гепатоцитов, среди которых изредка обнаруживались двоядерные, были без видимых изменений. Они имели овальную форму с центрально расположенными ядрами, круглой или слабоовальной формы с грубыми зёрнами хроматина и наличием ядрышек, и зернистую цитоплазму. Желчные протоки были представлены эпителиальными клетками. Ядра были круглыми, плотными; хроматин гомогенный, более плотный, чем у гепатоцитов. Вместе с тем у 8-10 % крыс женского пола обнаруживались незначительное количество вакуолизованных печёночных клеток со сморщенными ядрами и обрывками цитоплазмы. В печёночной триаде междольковые артерии, вены и желчный проток, были выстланы однослойным кубическим эпителием. Артерия и вена триады были полнокровны. Встречались очаги лимфоидных элементов. Синусоидные капилляры, центральные венулы и сосуды портальных трактов были неравномерно полнокровны. Центральные венулы местами были расширены. У менее 5 % крыс мужского пола встречались единичные мелкоклеточные инфильтраты по ходу портальных трактов в паренхиме. Имелись области с усиленным капиллярным рисунком, отдельные центральные и поддольковые вены наполнены кровью. Существенной разницы в степени изменений центральных и периферических отделов долек печени не выявлялась.

Головной мозг микроскопически не отличался от контрольного. Однако в головном мозге некоторых самцов и самок крыс (менее 2 %) выявлялись капиллярно-венозное полнокровие, очаговая дистрофия нейронов и периваскулярный отёк разной степени выраженности.

Сердце было типичного строения. Мышцы предсердий и желудочков были хорошо развиты, эластичны, темно-красной окраски. На поперечном разрезе мышечных волокон в центре клеток были видны ядра, а на периферии – миофибриллы. Волокна были окружены рыхлой волокнистой соединительной тканью с сосудами. Сосуды имели тонкие стенки, были умеренно полнокровны. Поперечная исчерченность миофибрилл во всех отделах сердца была отчетливая, при этом волокна более плотные выявлялись в желудочках, чем в предсердиях. Кардиомиоциты удлиненно-овальной формы, имели равномерную

окраску цитоплазмы и ядер. Ядра кардиомиоцитов имели овальную или округлую формы, с преобладанием гетерохроматина, расположение в центре. Очагов нарушений тинкториальных свойств цитоплазмы не выявлено. Строма без особенностей, кардиофиброза (избыточного разрастания стромы) не установлено. У 2-4% крыс данной группы определялись неравномерное кровенаполнение сосудов, очаги полнокровия гемокапилляров, однако отека межклеточного вещества не наблюдалось. У одной крысы наблюдалась очаговый лимфо-макрофагальный инфильтрат, расположенный между кардиомиоцитами. В отдельных случаях в кардиомиоцитах этой группы животных, как и во всех остальных, определялись включения липофусцина, расположенных в перинуклеарной области.

Легкие микроскопически не отличались от контрольных, нормального строения. Эпителия верхних дыхательных путей (гортани, трахеи, крупных бронхов) без изменений, ядра четкие. Ядра альвеолярного эпителия четкие, цитоплазма оксифильная. Острые воспалительные изменения легочной ткани отсутствовали, тем не менее, в этой группе животных, которым вводили препарат в дозе 200 мг/кг массы тела, имело место полнокровие сосудов и капилляров межальвеолярной перегородки.

Почки микроскопически не отличались от нормы. Структура клубочкового и канальцевого аппарата была сохранена без изменений. Клубочки коркового слоя хорошо сохранены, расположены равномерно, обычных размеров. Эпителий извитых канальцев были с четкими контурами, цилиндрической формы. Сосуды клубочков расположены компактно, базальные мембраны капилляров выражены слабо, просветы капсул Шумлянско-Боумена свободные. Юкстагломерулярный аппарат обычного строения, состоял из базофильного эндотелия, содержащего уплощенные гиперхромные ядра, плотное пятно содержало близко расположенные округлые ядра эпителия. Ядра проксимальных и дистальных извитых канальцев были с четкими контурами, содержали мелкозернистый хроматин, умеренно базофильную нуклеоплазму и мелкое плотное ядрышко. Цитоплазма канальцев, петель Генле и собирательных трубочек была эозинофильная. В мозговом веществе сохранялась пирамидальное строение. Лоханка была выстлана переходным эпителием. В 7-11 % почках животных этой группы наблюдалось выраженное полнокровие клубочков и исчезновение просвета между капсулой Шумлянско-Боумена и сосудистым клубочком.

79-92 % почечных телец почек данной группы животных были нормальными, однако среди них выявлялось незначительное количество (8 -21 %) клубочков с умеренными изменениями, что можно объяснить индивидуальными и возрастными особенностями изучаемых крыс.

Тимус был снаружи окружён соединительнотканной капсулой, состоящей из большого количества элементов клеток с округлыми и овально-вытянутыми бледно окрашенными ядрами, имеющими четко очерченную кариолемму и хорошо выраженный хроматиновый Рис., а также из тонких волнообразно идущих волокон, ориентированных вдоль поверхности органа. В отдельных участках капсула содержала лимфоидные клетки, видимо, проникшие сюда из перенхимы тимуса. В дольках паренхимы тимуса довольно отчётливо были дифференцированы темное корковое и центрально расположенное светлое мозговое вещество, отличающиеся по плотности расположения лимфоидных клеток, которые содержали округлые густо окрашенные ядра, окружённые тонким ободком цитоплазмы. В корковом веществе лимфоциты плотно прилегали друг к другу, их ядра густо окрашивались гематоксилином. Между лимфоидными клетками обнаруживались небольшое количество мелких сосудов и капилляров. В мозговом веществе лимфоциты выявлялись существенно реже, а обнаруживаемые здесь сосуды имели заметно больший размер. В мозговой зоне долек тимуса выявлялись небольшое количество тельца Гассала, которые были округлой формы. Они имели вид микрокист, просветы которых были заполнены бесструктурной массой, либо опустошены, но наружный слой состоял из концентрически расположенных эпителиальных клеток с вытянутыми ядрами, представляющий собой капсулу. Во всех участках тимуса между лимфоидными элементами наблюдались ретикулоэпителиальные клетки, имеющие округлые и овально-вытянутые ядра с хорошо различимой кариолеммой и ядрышками. В мозговом слое ретикулоэпителиальные клетки были видны лучше, чем в коре, видимо, из-за более рыхлого расположения лимфоцитов.

Кишечник в основном для большинства контрольных и опытных животных не отличалась от нормальной гистологической структуры. Тонкий и толстый кишечник представляли собой трубчатые мышечные органы, состоящие из эпителиального, мышечного и серозного слоев. Слизистая оболочка тонкой и толстой кишки не была гиперемирована, отека и инфильтрации не установлено. Эпителий ворсин

и крипт тонкой кишки имели обычное строение, в криптах можно видеть 3-4 фигуры митозов. Эпителий крипт толстой кишки также не изменен, митотическая активность в криптах в пределах нормы. На серозных оболочках желудка и кишечника выявлялись очаговые утолщения. Образцы слизистой оболочки тощей кишки состояли из клеток, покрытые длинными ворсинками, которые плотно прилегали друг к другу. В собственной пластинке слизистой оболочки тощей кишки имелось большое количество плазматических клеток и лимфоцитов (с преобладанием плазмоцитов). В области крипт выявлялись скопления палочкоядерных нейтрофилов и эозинофилов, а в области ворсинок – плазмобластов и плазмоцитов. Наблюдалось яркое окрашивание секрета бокаловидных клеток при pH 2,2-2,5, что скорее всего, указывает о преобладании в них кислых полисахаридов. У 4-9 % крыс этой группы в слизистой оболочке тонкой кишки выявлялась образование эрозий округлой формы, заполненных слизью, а также расширение и полнокровие кровеносных сосудов мышечной оболочки толстой кишки.

Наличие изменения в этих органах, можно предположить, связано с реакцией иммунной системы организма на введение исследуемого антиоксидантного препарата. Следует отметить, индивидуальные и возрастные особенности изучаемых крыс, а также однородный характер распределения присутствия патологических изменений органов и тканей в контрольных и опытных группах животных, что свидетельствует о спонтанном происхождении этих изменений в результате естественного старения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате исследований было установлено, что длительное внутрижелудочное введение антиоксидантного препарата «Бисфенол-5» в дозах 2 мг/кг, 20 мг/кг и 200 мг/кг массы тела не оказывало отрицательного влияния на морфологические показатели крови, характеризующие состояние здоровья крыс.

Оценка морфофункционального состояния лабораторных животных показала, что при длительном применении антиоксидантного препарата «Бисфенол-5» в дозах 2, 20 и 200 мг/кг массы тела не выявлено со стороны основных систем организма патологии или серьезных отклонений в состоянии здоровья крыс линии Wistar. Общее

состояние животных соответствовало ожидаемой клинической картине, изменений их поведения и аппетита не выявлено. Не обнаружено существенных различий в живой массе животных в контрольных и опытных группах, клинические показатели соответствовали возрастной физиологической норме. Наилучшие показатели были отмечены у животных, получавших антиоксидант в дозе 2 мг/кг живой массы. Введение исследуемого синтетического антиоксиданта в указанной дозе оказывает положительное влияние на организм, проявляющееся повышением обменных процессов, иммунной резистентности и адаптационного потенциала крыс.

В результате проведённого патологоанатомического вскрытия, последующих макроскопических и микроскопических исследований установлено, что препарат в условиях настоящего эксперимента не вызывал у лабораторных животных изменений строения органов дыхательной, сердечно-сосудистой, мочевыводящей, эндокринной, репродуктивной и нервной системы, желудочно-кишечного тракта, органов кроветворения. При анализе частоты возникновения опухолей и встречаемости их определенного вида было установлено отсутствие статистически значимых различий между опытной и контрольной группами.

Оценка результатов гистологического исследования морфологических особенностей внутренних органов и тканей животных опытных групп после окончания введения препарата «Бисфенол-5» в различных дозах показало, что патологических изменений в органах крыс не было обнаружено, выявлялись отдельные индивидуальные морфологические особенности, не выходящие за рамки видовых и возрастных особенностей, наблюдаемых у крыс. Гистологических изменений не было установлено и у животных контрольной группы: микроструктура органов и тканей у крыс данной группы также соответствовала их видовым и возрастным особенностям.

Таким образом, результаты исследований морфофункционального состояния животных, а также макроскопических и микроскопических исследований показали, что соединение 3,3',5,5'-тетра-*трет*-бутил-4,4'-дигидроксибифенил (препарат «Бисфенол-5») при длительном введении в течение 24 месяцев в дозах 2, 20 и 200 мг/кг массы тела крыс не проявляет канцерогенных свойств и не оказывает отрицательного влияния на состояние организма животных.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Пушкина, Т.А. Супероксиддисмутаза в составе антиоксидантной терапии: состояние вопроса и перспективы / Т.А. Пушкина, Э.С. Токаев, Т.С. Попова, Е.Н. Бородин // Журнал им. Н.В. Склифосовского «Неотложная медицинская помощь». – 2016. – № 4. – С. 42–47.

2. Остапчук, П.С. Роль антиоксидантов и использование их в животноводстве и птицеводстве / П.С. Остапчук, Д.В. Зубоченко, Т.А. Кувейда // Аграрная наука Евро-Северо-Востока. – 2019. – Т. 20, № 2. – С. 103–117.

3. Батанов, С.Д. Антиоксиданты в рационах кормления крупного рогатого скота черно-пестрой породы и их влияние на биохимический состав крови / С.Д. Батанов, О.А. Краснова, Е.В. Хардина, А.Ю. Борисов // Нива Поволжья. – 2013. – № 1 (26). – С. 71–75.

4. Yeates, A.J. Red meat consumption: an overview of the risks and benefits / A.J. Yeates, E.M. McSorley, G.J. Cuskelly, B.W. Moss, J.M.W. Wallace, M.P. Bonham, A.M. Fearon // Meat Science. – 2010. – Vol. 84, No. 1. – P. 1–13.

5. McMillin, K.W. Initiation of oxidative processes in muscle food / K.W. McMillin // Reciprocal Meat Conference Proceedings. – 1996. – Vol. 49. – P. 53–64.

6. Касанова, Н.Р. Влияние антиоксиданта ЭНДОКС на санитарно-химическое состояние веществ кормосмеси и продуктивность молодняка // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – 2010. – № 202. – С. 101–105.

7. Боряев, Г.И. Влияние комплекса антиоксидантных препаратов на продуктивность птицы родительского стада и качество инкубационных яиц / Г.И. Боряев, Е.В. Здравьева, Ю.Н. Федоров, Ю.В. Кравченко // Нива Поволжья. – 2012. – № 3. – С. 49–55.

8. Şentürk, M. Carbonic anhydrase inhibitors: inhibition of human erythrocyte isozymes I and II with a series of antioxidant phenols / M. Şentürk, İ. Gülçin, A. Daştan, Ö.İ. Küfrevioğlu, C.T. Supuran // Bioorganic and Medicinal Chemistry. – 2009. – Vol. 17, No. 8. – P. 3207–3211.

9. Миронов, А.Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. 1 / А.Н. Миронов. – М.: Гриф и К, 2012. – 944 с.

10. Фисенко, В.П. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / В.П. Фисенко. – М.: Ремедиум, 2000. – 398 с.

11. Костюк, В.А. Определение продуктов перекисного окисления липидов с помощью тиобарбитуровой кислоты в анаэробных условиях / В.А. Костюк, А.И. Потапович // Вопросы медицинской химии. – 1987. – № 3. – С. 115–118.
12. Ernster, L. Microsomal lipid peroxidation / L. Ernster, K. Nordenbrandt // Methods in Enzymology. Oxidation and Phosphorylation / ed. R.W. Estabrook, M.E. Pullman. – New York: Academic Press, 1967. – Vol. 10. – P. 574–580.
13. Michara, M. Thiobarbituric acid value on fresh homogenate of rat as a parameter of lipid peroxidation in aging, CCl₄ intoxication, and vitamin E deficiency / M. Michara, M. Uchiyama, K. Fukuzawa // Biochemical Medicine. – 1980. – Vol. 23. – P. 302–311.
14. Мальцев, Г.Ю. Способ определения активности каталазы и супероксиддисмутазы эритроцитов на анализаторе открытого типа / Г.Ю. Мальцев, А.В. Васильев // Вопросы медицинской химии. – 1994. – № 2. – С. 56–58.
15. Oshino, N. The role of H₂O₂ generation in perfused rat liver and the reaction of catalase compound I and hydrogen donors / N. Oshino, B. Chance // Archives of Biochemistry and Biophysics. – 1973. – Vol. 154, No. 1. – P. 117–131.
16. Nishikimi, M. The occurrence of superoxide anion in the reaction of reduced phenazine methosulfate and molecular oxygen / M. Nishikimi, N. Appaji, K. Yagi // Biochemical and Biophysical Research Communications. – 1972. – Vol. 46. – P. 849–854.
17. Recommendations for euthanasia of experimental animals / European Commission expert group // Laboratory Animals. – 1996. – Vol. 30. – P. 293–316; 1997. – Vol. 31. – P. 1–32.
18. Мужикян, А.А. Особенности гистологической обработки органов и тканей лабораторных животных / А.А. Мужикян, М.Н. Макарова, Я.А. Гуцин // Международный вестник ветеринарии. – 2014. – № 2. – С. 103–109.
19. Гуцин, Я.А. Влияние фиксирующих жидкостей на микроскопическую структуру органов мелких лабораторных животных / Я.А. Гуцин, А.А. Мужикян // Международный вестник ветеринарии. – 2014. – № 3. – С. 88–95.
20. Абрашова, Т.В. Физиологические, биохимические и биометрические показатели нормы экспериментальных животных: справочник / Т.В. Абрашова, Я.А. Гуцин, М.А. Ковалева и др. – СПб.: ЛЕМА, 2013. – 116 с.

21. Deerberg, F. Age-associated versus husbandry-related pathology of aging rats / F. Deerberg // *Neurobiology of Aging*. – 1991. – Vol. 12, No. 6. – P. 659–662.

22. Phillips, P.M. An observational assessment method for aging laboratory rats / P.M. Phillips, K.A. Jarema, D.M. Kurtz, R.C. MacPhail // *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*. – 2010. – Vol. 49, No. 6. – P. 792–799.

23. Крышень, К.Л. Исследование канцерогенного потенциала нового опиоидного антагониста онделопрана при введении крысам в течение двух лет / К.Л. Крышень и др. // *Исследования и практика в медицине*. – 2019. – Т. 6, № 2. – С. 58–68.

24. Аджиев, Д.Д. Исследование продуктов перекисного окисления липидов, неферментативной и ферментативной антиоксидантной системы в возрастной динамике самцов кроликов / Д.Д. Аджиев // *Информационный вестник ВОГиС*. – 2010. – Т. 14, № 4. – С. 674–684.

25. Anisimov, V.N. *Carcinogenesis and aging* / V.N. Anisimov. – Boca Raton: CRC Press, 1987. – Vol. 1–2.

26. Walsh, K. Spontaneous neoplasms in control Wistar rats / K. Walsh, J. Poteracki // *Toxicological Sciences*. – 1994. – Vol. 22, No. 1. – P. 65–72.