

17. Taliatz D., Stall N., Dar D. E., Zangen A. Knockdown of brain-derived neurotrophic factor in specific brain sites precipitates behaviors associated with depression and reduces neurogenesis. *Mol. Psychiatry*. 2010;15:80-92. <https://doi.org/10.1038/mp.2009.67>
18. Maekawa M., Namba T., Suzuki E., Yuasa S., Kohsaka S., Uchino S. NMDA receptor antagonist memantine promotes cell proliferation and production of mature granule neurons in the adult hippocampus. *Neurosci. Res.* 2009;63:259-266. <https://doi.org/10.1016/j.neures.2008.12.006>
19. Schoenfeld T. J., Gould E. Differential effects of stress and glucocorticoids on adult neurogenesis. *Curr. Top. Behav. Neurosci.* 2013;15:139-64. [https://doi.org/10.1007/7854\\_2012\\_233](https://doi.org/10.1007/7854_2012_233)
20. Pathania M., Yan L. D., Bordey A. A. A symphony of signals conducts early and late stages of adult neurogenesis. *Neuropharmacology*. 2010;58:865-876. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2010.01.010>
21. Sun B., Halabisky B., Zhou Y., Palop J. J., Yu G. [et al.]. Imbalance between GABAergic and glutamatergic transmission impairs adult neurogenesis in an animal model of Alzheimer's disease. *Cell. Stem. Cell.* 2009;5:624-633. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2009.10.003>

**Сведения об авторах:**

Смирнов Алексей Владимирович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой патологической анатомии, заведующий лабораторией морфологии, иммуногистохимии и канцерогенеза; тел.: (8442)375874; e-mail: alexey-smirnov@rambler.ru

Экова Мария Рафаэлевна, кандидат медицинских наук, старший преподаватель кафедры патологической анатомии; тел.: (8442)375865; e-mail: maria.ekova@mail.ru

Тюренков Иван Николаевич, член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой фармакологии и биофармации ФУВ; тел.: (8442)403004 (добавочный 441); e-mail: fibfuv@mail.ru

Волотова Елена Владимировна, доктор медицинских наук, доцент; тел.: (8442)403004 (добавочный 441); e-mail: evv.md@yandex.ru

© Коллектив авторов, 2019

УДК 616-092.9: 615.015.35: 615.099.036.11

DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2019.14166>

ISSN – 2073-8137

## ГИСТОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ОРГАНОВ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ НИОСОМАЛЬНОЙ ФОРМЫ ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ВЕЩЕСТВА

И. А. Базиков<sup>1</sup>, А. В. Аксенов<sup>2</sup>, А. Н. Мальцев<sup>1</sup>, В. С. Боташева<sup>1</sup>,  
А. В. Корниенко<sup>3</sup>, В. И. Королькова<sup>1</sup>, Ф. И. Базиков<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Ставропольский государственный медицинский университет,  
Российская Федерация

<sup>2</sup> Северо-Кавказский федеральный университет, Ставрополь,  
Российская Федерация

<sup>3</sup> Техасский государственный университет, Сан-Антонио, США

<sup>4</sup> Карлов университет, Прага, Чешская Республика

## HISTOLOGICAL STUDIES OF ORGANS IN EXPERIMENT ON THE APPLICATION OF A NIOSOMAL FORM OF ANTI-TUMOR MEDICINE

Bazikov I. A.<sup>1</sup>, Aksenov A. V.<sup>2</sup>, Maltsev A. N.<sup>1</sup>, Botasheva V. S.<sup>1</sup>,  
Kornienko A. V.<sup>3</sup>, Korolkova V. I.<sup>1</sup>, Bazikov F. I.<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Stavropol State Medical University, Russian Federation

<sup>2</sup> North-Caucasus Federal University, Stavropol, Russian Federation

<sup>3</sup> University of Texas at San Antonio, USA

<sup>4</sup> Charles University, Prague, Czech Republic

Изучение гистологических изменений показало, что инкапсулирование противоопухолевого вещества N-hydroxy-2-(2-(naphthalen-2-yl)-1H-indol-3-yl)-2-phenylacetamide в ниосомы повышает его цитотоксичность. Это объясняется особенностями фармакинетики ниосомальных препаратов. При инкапсулировании происходит более медленная метаболизация вещества в печени и за счет этого более длительное нахождение в периферической крови и в более высоких концентрациях по сравнению с противоопухолевым веществом в чистом виде.

**Ключевые слова:** гистологические изменения, ниосомальная форма N-hydroxy-2-(2-(naphthalen-2-yl)-1H-indol-3-yl)-2-phenylacetamide, глиобластома

The study of histological changes showed that encapsulation of the antitumor substance N-hydroxy-2-(2-(naphthalen-2-yl)-1H-indol-3-yl)-2-phenylacetamide in niosomes increases its cytotoxicity. This is due to the peculiarities of the pharmacokinetics of niosomal drugs. When the antitumor substance is encapsulated in niosomes, its metabolism is slower in the liver, and due to this the substance is in the peripheral blood for a longer time at higher concentrations compared to the introduction of the antitumor substance in its pure form.

*Keywords: pathomorphological changes, niosomal form of N-hydroxy-2-(2-(naphthalen-2-yl)-1H-indol-3-yl)-2-phenylacetamide, glioblastoma*

**Для цитирования:** Базиков И. А., Аксенов А. В., Мальцев А. Н., Боташева В. С., Корниенко А. В., Королькова В. И., Базиков Ф. И. ГИСТОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ОРГАНОВ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ НИОСОМАЛЬНОЙ ФОРМЫ ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ВЕЩЕСТВА. *Медицинский вестник Северного Кавказа*. 2019;14(4):672-676. DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2019.14166>

**For citation:** Bazikov I. A., Aksenov A. V., Maltsev A. N., Botasheva V. S., Kornienko A. V., Korolkova V. I., Bazikov F. I. HISTOLOGICAL STUDIES OF ORGANS IN EXPERIMENT ON THE APPLICATION OF A NIOSOMAL FORM OF ANTI-TUMOR MEDICINE. *Medical News of North Caucasus*. 2019;14(4):672-676. DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2019.14166> (In Russ.)

**Неионогенные везикулы поверхностно-активных веществ (ниосомы) привлекают большое внимание как современные системы доставки лекарственных веществ. Это связано с их характерными особенностями, такими как биоразлагаемость, биосовместимость, химическая стабильность, низкая себестоимость, простота хранения и обработки, низкая токсичность [2]. Ниосомы представляют собой гидратированные везикулярные системы, имеющие слоистую двухслойную структуру, образованную из неионных поверхностно-активных веществ, они способны инкапсулировать биологически активные соединения с широким спектром растворимости [5]. Ниосомы были оценены как носитель для доставки противоопухолевых лекарств [2, 5], генов, антигенов и других биологически активных соединений. Вещество N-hydroxy-2-(2-(naphthalen-2-yl)-1H-indol-3-yl)-2-phenylacetamide in vitro показало высокую цитостатическую активность в отношении раковых клеток [1, 3, 4]. В этой связи нами ранее был разработан опытный образец ниосомального препарата на основе данного вещества для лечения глиобластомы и проведено макроскопическое исследование органов животных при изучении его токсичности.**

Целью данного исследования стало изучение гистологических изменений у животных при введении им ниосомальной формы противоопухолевого вещества.

**Материал и методы.** Опытный образец противоопухолевого препарата был получен по методике, опубликованной ранее [6].

Эксперимент проводился на 72 белых нелинейных крысах обоего пола весом 220–250 г.

Всех животных разделили на 8 групп по 6 особей в каждой. Первым четырём группам вводили противоопухолевое вещество N-hydroxy-2-(2-(naphthalen-2-yl)-1H-indol-3-yl)-2-phenylacetamide в свободной форме внутривентриально в нарастающих дозах: 150, 200, 300, 350 мг/кг 1 раз в сутки. В остальных четырёх группах животным вводили ниосомальную форму противоопухолевого вещества также внутривентриально в дозах 100, 150, 250 и 300 мг/мл 1 раз в сутки. Наблюдения за животными проводились в течение двух недель с момента введения. У павших животных отбирали внутренние органы (сердце, печень, почки, сердце, селезенку) для гистологического исследования, оценки острой токсичности разработанного препарата.

Ткани фиксировали в 10 % забуференном формалине в течение двух суток с последующей проводкой через растворы ксилола и этилового спирта. Заливку выполняли жидким парафином, ткань остужали и получали супертонкие серийные срезы (4–5 мкм) на микротоме Malax по методике A. Dole (2010). Срезы окрашивали гематоксилином-эозином по Ван-Гизону и Mallori.

Полученные цифровые данные были анализированы с применением программы Primer of Biostatistics 4.03 для Windows. Достоверными считали различия при  $p < 0,05$ .

**Результаты и обсуждение.** В результате макроскопического исследования ранее было установлено, что причиной гибели животного при введении больших доз опытного образца ниосомального препарата явилась токсическая кардиомиопатия, вызвавшая острую сердечную недостаточность. При гистологическом исследовании в миокарде выявлены гемодинамические нарушения, а именно – расширение и полнокровие вен, эритростазы (рис. 1, 1). В строении миокарда отмечался умеренный отек преимущественно в периваскулярных пространствах и межмышечных прослойках.

При повышении дозы опытного образца ниосомального препарата до 300 мг/кг гемодинамические нарушения в миокарде носили распространенный характер и встречались во всех отделах миокарда. Интерстициальный отек становился более интенсивным и распространенным (рис. 1, 2). В миокарде сохранялось неравномерное окрашивание, стертость поперечной исчерченности, контрактурные нарушения миофибрилл (рис. 1, 3). При введении ниосомальной формы препарата в дозе 300 мг/кг дистрофически-деструктивные изменения в миокарде были более выражены, чем в опыте с дозой 250 мг/кг, и носили распространенный характер. В строении миокарда обнаружены множественные мелкие и крупные лимфоцитарные инфильтраты (рис. 1, 4).

Введение неинкапсулированного вещества в дозе 300 мг/кг приводило к умеренным гемодинамическим нарушениям, которые носят очаговый характер. Отмечалось равномерное окрашивание миокарда, поперечная исчерченность была сохранена, обнаружены дистрофические изменения: гидропическая дистрофия кардиомиоцитов (рис. 1, 5).

Таким образом, сравнительный анализ результатов гистологического исследования эксперименталь-

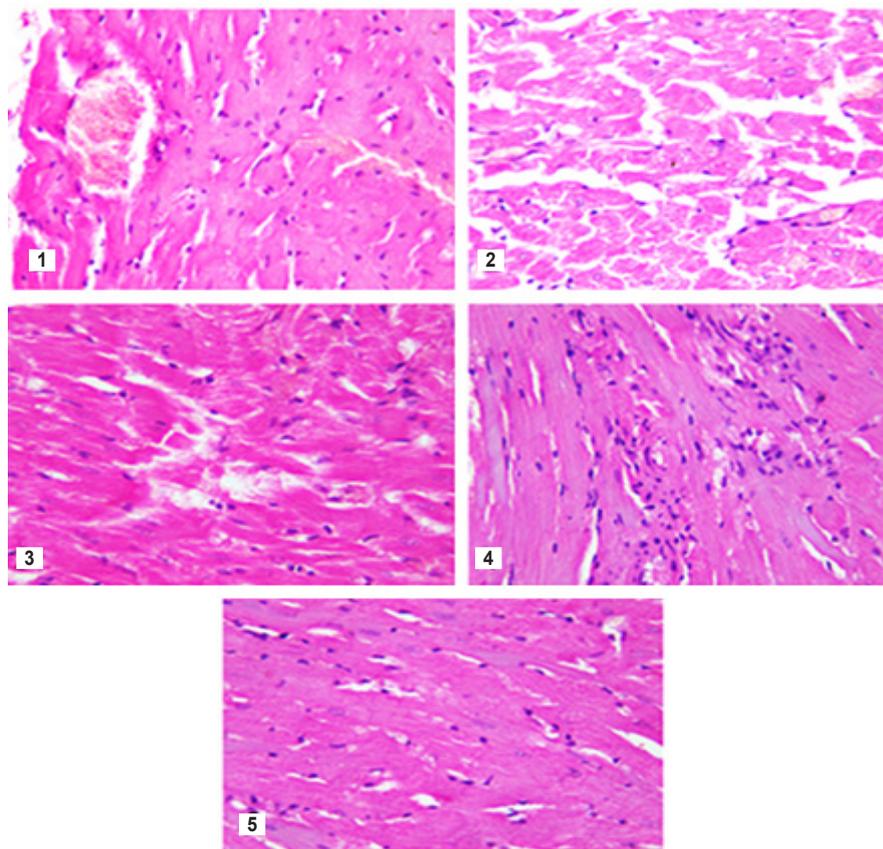


Рис. 1. Влияние опытного образца ниосомального противоопухолевого препарата на сердце. Окраска: гематоксилином и эозином  $\times 400$ .

1. Полнокровные вены с эритростазами в субэпикардиальной зоне миокарда. Доза 250 мг/кг. 2. Выраженный диффузный отёк стромы миокарда. Доза 300 мг/кг. 3. Очаги миодистрофии. Доза 300 мг/кг. 4. Лимфоцитарные инфильтраты в строме миокарда. Доза 300 мг/кг. 5. Очаговая гидропическая дистрофия кардиомиоцитов). Контроль: 300 мг/кг

ного материала миокарда показал, что при введении подопытным животным противоопухолевого препарата развиваются гемодинамические нарушения, интерстициальный отек, очаговые инфильтраты в строме, дистрофические изменения кардиомиоцитов (зернистая и гидропическая дистрофии). Наиболее выраженные изменения были обнаружены при введении ниосомальной формы препарата в дозе 300 мг/кг.

При введении препарата в дозе 250 мг/кг в ткани печени наблюдалось полнокровие центральных вен и синусоидных капилляров центральной части дольки. В венах явления эритростаза и эритродиапедеза (рис. 2, 1). Введение препарата в дозе 300 мг/кг вызывало отек стромы печени, который становился более интенсивным и распространялся на всю дольку (рис. 2, 2). В строме печени многочисленными крупноочаговыми лимфогистиоцитарными инфильтратами (рис. 2, 3). По сравнению с введением препарата в дозе 250 мг/кг в печени отмечались более выраженные гемодинамические нарушения, более интенсивный и распространенный отек. При введении неинкапсулированного противоопухолевого препарата в печени были обнаружены признаки начинающегося отека, отечная жидкость накапливалась вокруг центральных вен. Отмечалась зернистая дистрофия гепатоцитов (рис. 2, 4). В селезенке при введении ниосомальной формы вещества в дозе 250 мг/кг гистологическая структура была сохранена, отмечались умеренные гемодинамические нарушения в

виде очагов полнокровия красной пульпы (рис. 2, 5). Наблюдалась умеренная гиперплазия лимфатических фолликулов и диффузная инфильтрация стромы селезенки лимфоцитами (рис. 2, 6). При введении чистого противоопухолевого препарата в дозе 300 мг/кг гистологическая структура селезенки не была нарушена, лимфоидные фолликулы были хорошо выражены с четкими контурами, определялись умеренно выраженные гемодинамические нарушения и начинающийся интерстициальный отек.

Таким образом, при воздействии опытного образца ниосомального препарата в печени развивались гемодинамические нарушения, отек, дистрофические изменения гепатоцитов и лимфогистиоцитарные инфильтраты. Наиболее выраженные морфологические изменения наблюдались при введении препарата в дозировке 300 мг/кг.

Введение ниосомальной формы препарата в дозе 250 мг/кг приводило к гемодинамическим нарушениям в почках. В эпителии почечных канальцев наблюдалась зернистость цитоплазмы с накоплением эозинофильных капель белка (рис. 3, 1).

При увеличении вводимой дозы опытного образца ниосомальной формы препарата до 300 мг/кг в строме почки нарастала интенсивность отека, который распространялся на все слои почки и мезангиум клубочков. В строме почки были очаговые лимфоцитарные инфильтраты (рис. 3, 2). В эпителии почечных канальцев на фоне имеющейся зернистой дистрофии выявлены участки гидропической и баллонной дистрофии (рис. 3, 3).

При введении чистого противоопухолевого вещества в дозе 300 мг/кг в почках наблюдался умеренно выраженный интерстициальный отек, умеренно выраженные сосудистые нарушения в виде полнокровия мелких вен и венул, стазы. Таким образом, в почках при воздействии противоопухолевого препарата отмечались гемодинамические нарушения, отек разной степени выраженности, зернистая, гидропическая и баллонная дистрофия эпителия канальцев, воспалительные инфильтраты в строме почки.

Изучение влияния опытного образца ниосомального препарата показало, что при его введении экспериментальным животным в дозе 250 мг/кг наблюдались гемодинамические нарушения в виде редкого полнокровия сосудов межальвеолярных перегородок, эритростазы, эритродиапедез. Участки эмфиземы чередовались с очагами ателектаза. В просветах альвеол содержалась отечная жидкость (трансудат) с большим количеством фибрина.

При повышении дозы до 300 мг/кг наблюдались резко выраженные гемодинамические нарушения, расширение кровеносных сосудов, эритростазы, на-

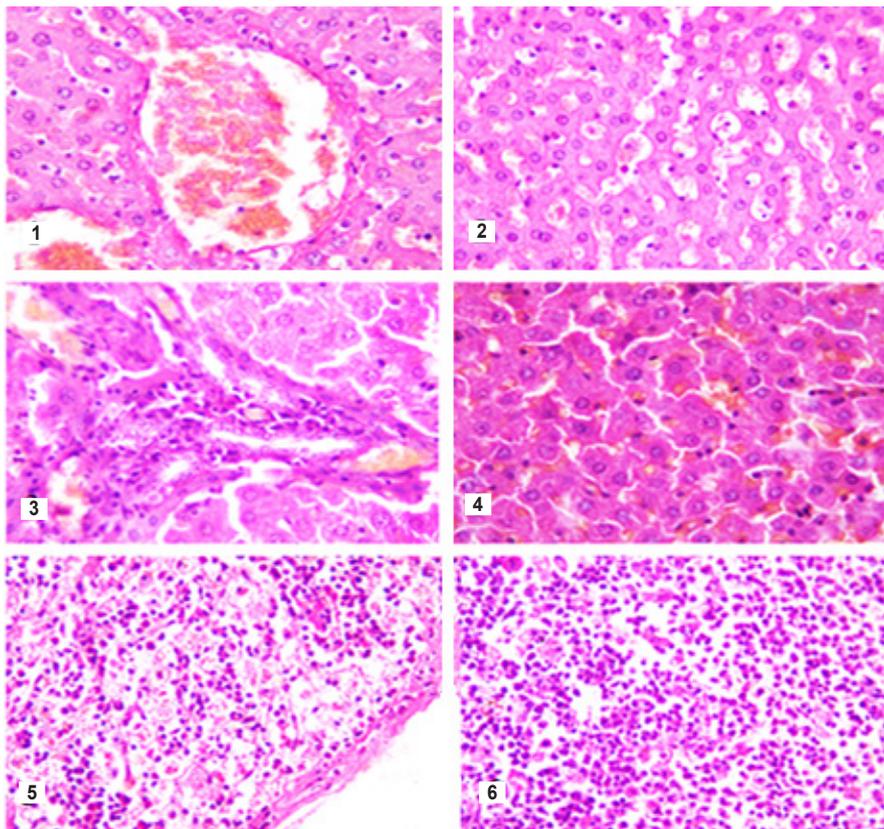


Рис. 2. Влияние опытного образца ниосомального противоопухолевого препарата на печень и селезенку. Окраска: гематоксилином и эозином x400.

1. Полнокровие центральной вены и синусоидных капилляров печени.

Опыт: доза 250 мг/кг. 2. Крупнокапельная жировая дистрофия гепатоцитов на периферии долек. Опыт: доза 300 мг/кг. 3. Крупноочаговые лимфоцитарные инфильтраты в строме печени. Опыт: доза 300 мг/кг. 4. Зернистая дистрофия гепатоцитов. Контроль: доза 300 мг/кг. 5. Умеренно выраженный интерстициальный отёк селезёнки. Опыт: доза 250 мг/кг.

6. Диффузная инфильтрация стромы селезёнки лимфоцитами. Опыт: доза 300 мг/кг

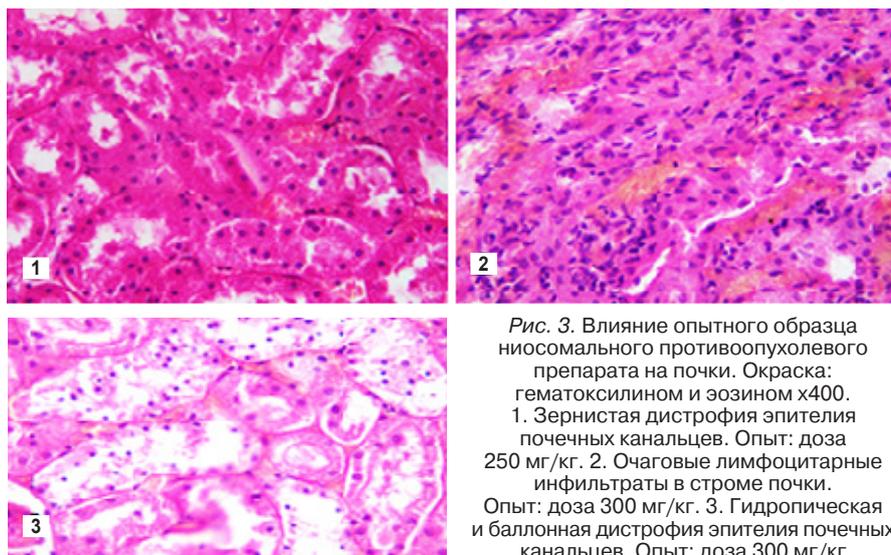


Рис. 3. Влияние опытного образца ниосомального противоопухолевого препарата на почки. Окраска: гематоксилином и эозином x400. 1. Зернистая дистрофия эпителия почечных канальцев. Опыт: доза 250 мг/кг. 2. Очаговые лимфоцитарные инфильтраты в строме почки. Опыт: доза 300 мг/кг. 3. Гидропическая и баллонная дистрофия эпителия почечных канальцев. Опыт: доза 300 мг/кг

личие красных тромбов в просветах вен, крупноочаговые кровоизлияния в альвеолы и строму легких. В просветах альвеол содержалась отечная жидкость с фибрином и гемолизированные эритроциты. Смерть лабораторных животных наступила от острого респираторного дистресс-синдрома с присоединением дыхательной недостаточности.

При введении чистого противоопухолевого вещества в дозе 300 мг/кг в легких определялись явления дистелектаза, то есть сочетание очагов ателектаза и эмфиземы.

**Заключение.** Таким образом, по результатам проведенного исследования *in vivo* можно сказать, что вещество N-hydroxy-2-(2-(naphthalen-2-yl)-1H-indol-3-yl)-2-phenylacetamide обладало низкой цитотоксичностью по отношению к здоровым тканям. Инкапсулирование противоопухолевого вещества в ниосомы повышало его цитотоксичность.

Это объясняется особенностями фармакокинетики ниосомальных препаратов. При инкапсулировании происходит более медленная метаболизация вещества в печени и за счет этого более длительное нахождение в периферической крови и в более высоких концентрациях по сравнению с противоопухолевым веществом в чистом виде.

*Информированное согласие.* Исследование проведено в соответствии с рекомендациями Всемирной организации здравоохранения, Международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использованием животных (1985), а также национальным стандартом Российской Федерации ГОСТ Р-53434-2009 «Принципы надлежащей лабораторной практики», правилами GLP. При проведении экспериментов соблюдались принципы гуманности, изложенные в директивах Европейского сообщества (86/609/ЕЕС) и Хельсинкской декларации.

**Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.**

### Литература/References

1. Kornienko A., Mathieu V., Rastogi S., Lefranc F., Kiss R. Therapeutic agents triggering non-apoptotic cancer cell death. *J. Med. Chem.* 2013;56:4823-4839.
2. Базиков И. А., Бейер Э. В., Лукинова В. В., Мальцев А. Н. Сравнительная оценка острой токсичности доксорубина и его ниосомальной формы. *Меди-*

*цинский вестник Северного Кавказа.* 2015;10(4):403-406. [Bazikov I. A., Beyer E. V., Lukinova V. V., Maltsev A. N. Comparative evaluation of acute toxicity of doxorubicin and its niosomal form. *Meditinskii vestnik Severnogo Kavkaza. – Medical News of North Caucasus.* 2015;10(4):403-406. (In Russ.)].

- Aksenov A. V., Smirnov A. N., Magedov I. V., Reisenauer M. R., Aksenov N. A. [et al.]. Activity of 2 Aryl-2-(3-indolyl) acetohydroxamates against Drug-Resistant Cancer Cells. *J. Med. Chem.* 2015;58:2206-2220.
- Aksenov A. V., Smirnov A. N., Aksenov N. A., Bijieva A. S., Aksenova I. V., Rubin M. Benzimidazoles and benzoxazoles via the nucleophilic addition of anilines to nitroalkanes. *Organic & Biomolecular Chemistry.* 2015;13:4289-4295.
- Базиков И. А., Бейер Э. В., Мальцев А. Н., Гоптарева Е. А., Малинина Н. И. [и др.]. Исследование кардиотоксичности ниосомальной формы доксорубина. *Медицинский вестник Северного Кавказа.* 2016;11(3):421-424. [Bazikov I. A., Beyrer E. V., Maltsev A. N., Goptareva Ye. A., Malinina N. I. [et al.]. Investigation of the cardiotoxicity of the niosomal form of doxorubicin. *Meditsinskii vestnik Severnogo Kavkaza.* – *Medical News of North Caucasus.* 2016;11(3):421-424. (In Russ.).]
- Базиков И. А., Мальцев А. Н., Зеленский В. А., Королькова В. И., Калинкина Н. И., Гоптарева Е. А. Антимикробная активность ниосомального геля с доксорубином в комплексном лечении меланомы челюстно-лицевой области. *Бактериология.* 2017;2(1):61-65. [Bazikov I. A., Maltsev A. N., Zelensky V. A., Korolkova V. I., Kalinkina N. I., Goptareva Ye. A. Antimicrobial activity of niosomal gel with doxorubicin in the complex treatment of melanoma of the maxillofacial region. *Bacteriology.* 2017;2(1):61-65. (In Russ.).]

**Сведения об авторах:**

Базиков Игорь Александрович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой микробиологии; тел.: (8652)352475, 89188664027; e-mail: bazikov@list.ru

Мальцев Александр Николаевич, кандидат биологических наук, заведующий лабораторией биотехнологии активных веществ; тел.: (8652)352475, 89054172205; e-mail: maltsev7@rambler.ru

Боташева Валентина Салиховна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая лабораторией патоморфологии центра персонализированной медицины; тел.: (8652)713467; e-mail: patanatomy@stgma.ru

Аксёнов Александр Викторович, доктор химических наук, профессор, заведующий кафедрой химии; тел.: 89187430255; e-mail: k-bochem-ord@stavsu.ru

Корниенко Александр Викторович, кандидат медицинских наук, доцент отдела химии и биохимии; тел.: (5122)453632; e-mail: a\_k76@txstate.edu

Королькова Виолетта Игоревна, аспирант

Базиков Филипп Игоревич, студент бакалавриата молекулярной биологии факультета естественных наук; тел.: (4207)78049505; e-mail: filippbazikov@gmail.com

© Коллектив авторов, 2019

УДК 577.125/.152.6

DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2019.14167>

ISSN – 2073-8137

## ИЗМЕНЕНИЕ ПРОЛИФЕРАТИВНЫХ ПРОЦЕССОВ В ТИМУСЕ КРЫС, ПОДВЕРГАВШИХСЯ АНТЕНАТАЛЬНОМУ И ПОСТНАТАЛЬНОМУ ВОЗДЕЙСТВИЮ ЭНДОКРИННОГО ДИСРАПТОРА ДИХЛОРОДИФЕНИЛТРИХЛОРЕТАНА

Н. В. Яглова<sup>1</sup>, Э. С. Цомартова<sup>2</sup>, С. С. Обернихин<sup>1</sup>, С. В. Назимова<sup>1</sup>,  
В. В. Яглов<sup>1</sup>, Е. В. Черешнева<sup>2</sup>, М. Ю. Иванова<sup>2</sup>, С. Л. Кузнецов<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Научно-исследовательский институт морфологии человека, Москва, Российская Федерация

<sup>2</sup> Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова (Сеченовский Университет), Российская Федерация

## CHANGE IN PROLIFERATIVE PROCESSES IN THYMUS OF RATS AFFECTED BY ANTENATAL AND POSTNATAL INFLUENCE OF THE DICHLORODIPHENYLTRICHLOROETHANE ENDOCRINE DISRAPTOR

Yaglova N. V.<sup>1</sup>, Tsomartova E. S.<sup>2</sup>, Obernikhin S. S.<sup>1</sup>, Nazimova S. V.<sup>1</sup>, Yaglov V. V.<sup>1</sup>,  
Chereshneva E. V.<sup>2</sup>, Ivanova M. Yu.<sup>2</sup>, Kuznetsov S. L.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Research Institute of Human Morphology, Moscow, Russian Federation

<sup>2</sup> I. M. Sechenov First Moscow Medical University (Sechenov University), Russian Federation

Проведено комплексное иммуногистохимическое и радиоизотопное изучение пролиферации тимоцитов самцов крыс Вистар, развивавшихся в условиях антенатального и постнатального воздействия низких доз эндокринного дисраптора дихлордифенилтрихлорэтана, в различные периоды постнатального онтогенеза. Установлено, что про-