

**ВЛИЯНИЕ 1,5-БИС(3,5-ДИМЕТИЛПИРАЗОЛ-1-ИЛ)-3-ОКСАПЕНТАН-ДИАЦЕТАТОМЕДИ НА СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ПЕЧЕНИ И ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ КРЫС В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТА**

Нофаль А.Е., Овчаренко Н.Д.

*Алтайский государственный университет, Барнаул, Российская Федерация*

*Email: ovcharenko55@mail.ru*

Различные факторы, включая химические вещества, воздействуя на организм человека и животных, вызывают целый ряд изменений в структурно-метаболических процессах. Химические соединения вызывают у экспериментальных животных нарушение гомеостатических регуляторных систем, функций печени и так же влияет на метаболизм гормонов, вырабатываемых гонадами. Данные исследований показывают, что внутрибрюшинное введение крысам 1,5-бис(3,5-диметилпиразол-1-ил)-3-оксапентан-диацетатомеди (доза 12 мг / кг массы тела, в течение 6 недель) приводило к нарушению нормальной структуры печени и поджелудочной железы. Данный препарат вызвал интенсивную нейтрофильную инфильтрацию венозных сосудов и кровотечения, эндоплазматическую вакуолизацию большинства клеток, а также кариопикноз, кариорексис, кариолизис и увеличение количества двухъядерных клеток. Его применение приводило к уменьшению содержания общего белка в тканях печени и поджелудочной железы, и активации процесса апоптоза в клетках печени.

*Ключевые слова: инфильтрация, кровотечения, кариопикноз, кариорексис, кариолизис, общий белок*

**EFFECT OF 1,5-BIS(3,5-DIMETHYLPYRAZOL-1-YL)-3-OXAPENTANE DIACETATOCOPPER ON THE STRUCTURAL AND FUNCTIONAL CHARACTERISTICS OF THE LIVER AND PANCREAS IN RATS UNDER EXPERIMENTAL CONDITIONS**

Nofal A.E., Ovcharenko N.D.

*Altai State University, Barnaul, Russian Federation*

*Email: ovcharenko-55@mail.ru*

Various factors including chemical substances affecting on the human and animal organisms, causing a series of changes in the structural and metabolic processes. Chemical compounds cause a violation in the homeostatic regulatory systems, liver function and also influences the metabolism of hormones produced by the gonads in experimental animals. These studies suggest that, the intraperitoneal administration rats by 1,5-Bis(3,5-dimethylpyrazol-1-yl)-3-oxapentane diacetatocopper (dose 12 mg per kg of body weight for 6 weeks) led to disturbance of the normal structure of the liver and pancreas. This drug caused intensively neutrophilic infiltration around venous vessels with bleeding, endoplasmic vacuolation of most cells, karyopyknosis, karyorrhesis, and karyolysis, as well as, increasing the amount of binucleated cells. This treatment led to a reduction in the total protein content in the tissue of liver and pancreas, as well as activation of the apoptotic process in liver cells.

*Key words: infiltration, hemorrhage, karyopyknosis, karyorrhesis, karyolysis, total protein*

**Следует цитировать / Citation:**

Нофаль А.Е., Овчаренко Н.Д. (2016). Влияние 1,5-бис(3,5-диметилпиразол-1-ил)-3-оксапентан-диацетатомеди на структурно-функциональные показатели печени и поджелудочной железы крыс в условиях эксперимента. *Acta Biologica Sibirica*, 2 (2), 59–67.

Nofal A.E., Ovcharenko N.D. (2016). Effect of 1,5-bis(3,5-dimethylpyrazol-1-yl)-3-oxapentane diacetatocopper on the structural and functional characteristics of the liver and pancreas in rats under experimental conditions. *Acta Biologica Sibirica*, 2 (2), 59–67.

**Поступило в редакцию / Submitted:** 21.04.2016

**Принято к публикации / Accepted:** 10.06.2016

**crossref** <http://dx.doi.org/10.14258/abs.v2i2.1346>

© Нофаль, Овчаренко, 2016

Users are permitted to copy, use, distribute, transmit, and display the work publicly and to make and distribute derivative works, in any digital medium for any responsible purpose, subject to proper attribution of authorship.



This work is licensed under a Creative Commons Attribution 3.0 License

## ВВЕДЕНИЕ

Различные факторы, включая химические вещества, воздействуя на организм человека и животных, вызывают целый ряд изменений в структурно-метаболических процессах (Semenuk, 1996). Так, введение 3,5-диметилпиразола крысам в эксперименте сопровождалось появлением метаболических и эндокринных эффектов (Locci *et al.*, 1985).

Установлено, что пиразол-содержащие комплексы меди (II) проявляют высокую супероксиддисмутазную активность по отношению к активным формам кислорода, генерируемым химическими веществами или активированными фагоцитами (Potapov *et al.*, 2009).

1,5-бис(3,5-диметилпиразол-1-ил)-3-оксапентан-диацетатомеди ( $C_{18}H_{28}N_4O_5-Cu$ ) синтезирован в Алтайском государственном техническом университете им. И.И. Ползунова (Potapov *et al.*, 2007).

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа основана на результатах морфологического исследования тканей печени и поджелудочной железы здоровых взрослых самцов белых крыс, весом  $130 \pm 5,0$  г после ежедневного внутрибрюшинного введения 1,5-бис(3,5-диметилпиразол-1-ил)-3-оксапентан-диацетатомеди, растворенного в свежеприготовленном физиологическом растворе (доза 12 мг/кг массы тела в течении 6 недель).

### *Гистологические исследования*

Для морфологических исследований образцы тканей печени и поджелудочной железы были немедленно взяты у декапетированных контрольных и опытных животных через 2 часа после инъекции, спустя 2, 4 и 6 недель. Для фиксирования использовали 10% раствор нейтрального формалина в течение 24 часов. Далее материал проводили по общепринятой методике изготовления гистологических препаратов. Маленькие части печени и поджелудочной железы промыты в водопроводной воде в течение 12 часов, фиксированы и сохранены в 70% этиловом спирте. Части ткани были обезвожены в последовательно возрастающей крепости этиловом спирте (70%, 80%, 90% и двух порциях 100%), очищались в двух порциях ксилола и заливались в литой парафин парапласт (50-58 °C). Срезы толщиной 5 микрон были изготовлены с использованием ротационного микротомы (Leica, Модель Rm 2125, Германия) и были закреплены на стеклах без использования липкой питательной среды. Срезы окрашивали гематоксилином Эрлиха и эозином (Lillie & Fulmer, 1976).

Морфометрические исследования проводили при увеличении  $\times 100$ ,  $\times 200$ ,  $\times 400$  и  $\times 1000$ .

### *Гистохимические исследования*

Для выявления содержания общего белка в печени и поджелудочной железе был использован бромфеноловый синий (Pearse, 1972). Препараты контрольных и опытных групп оценивали визуально.

### *Иммуногистохимические исследования*

Белок Bcl-2 был обнаружен в печени иммуно-ферментным методом щелочной фосфатазы и антищелочной фосфатазы с использованием моноклонального антитела Bcl-2 (ДАКО A/S, Глоструп, Дания) (Guo *et al.*, 2004).

Образцы печени были зафиксированы в 10% растворе нейтрального формалина и дополнительно в жидкости Боуина, залиты парафином, и затем исследованы с определенным для Bcl-2 антителом. Образцы печени были взяты от контрольных и опытных животных. Процент положительного окрашивания и интенсивность окрашивания был оценен независимо для гепатоцитов, желчных протоков, одноядерных клеток и клеток Купфера (Guo *et al.*, 2004).

Срезы были очищены от парафина и повторно гидратировались. Антигены восстанавливались путем нагревания срезов в микроволновой печи при 700 Вт в цитратном буфере (10 ммоль/л при pH 6.0) в течение 10 минут. После блокировки 3 mL/L  $H_2O_2$  в сыворотке свиньи, были получены результаты с основными антителами, направленными против Bcl-2. Желтые по Брауну гранулы в цитоплазме были признаны как положительное окрашивание белка Bcl-2 (Guo *et al.*, 2004).

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ОБСУЖДЕНИЕ

### *Гистологические изменения строения печени*

Введение крысам 1,5-бис(3,5-диметилпиразол-1-ил)-3-оксапентан-диацетатомеди вызвало много гистологических альтераций на уровне тканей и клеток печени. Количество наблюдаемых изменений различалось в зависимости от периода эксперимента.

Через 2 недели после начала эксперимента, срезы печени показали нарушение структуры печеночных балок, наличие нейтрофильной инфильтрации вокруг кровеносных сосудов и их полнокровие. Встречаются единичные клетки с признаками пикноза, о чем свидетельствуют вакуолизация цитоплазмы и уплотнение ядер гепатоцитов. Двухъядерные клетки-единичны (рис.1).



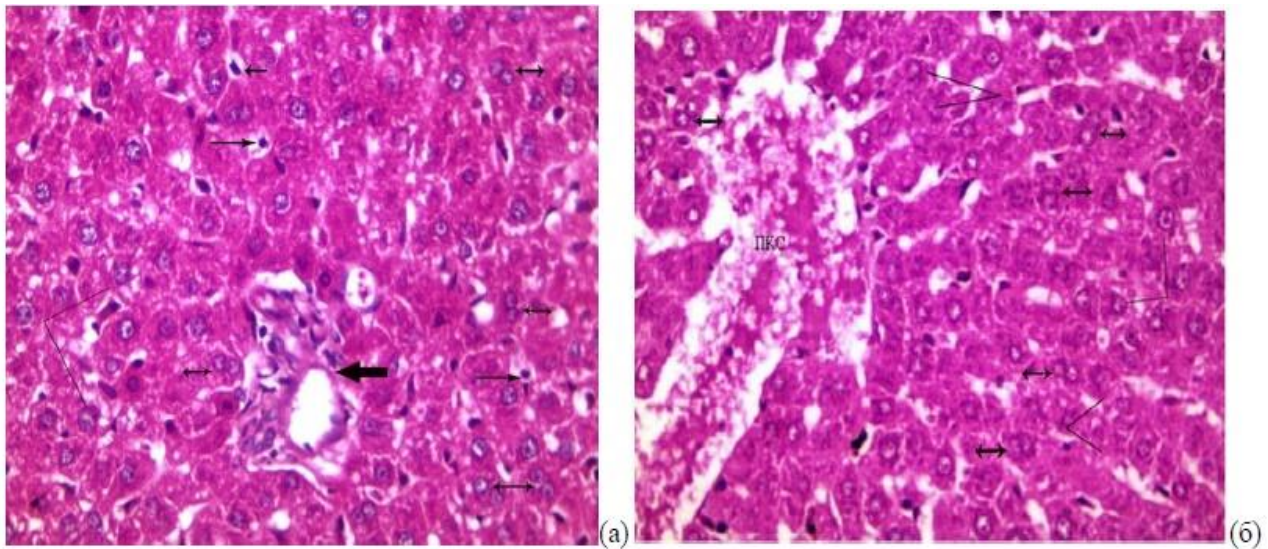


Рис. 1. Печень крысы через 2 недели от начала эксперимента. Нейтрофильная инфильтрация вокруг кровеносных сосудов (толстая стрелка), полнокровие кровеносных сосудов (ПКС), повреждения и вакуолизация цитоплазмы гепатоцитов (двойная черточка) единичной клетки с признаками пикноза (тонкие стрелки) и двухъядерные клетки (двойная главная стрелка). Окраска Г-Э, а, б X400.

Через 4 недели в тканях печени наблюдаются явления лимфоцитарной инфильтрации вокруг крупных и периферических сосудов, а также желчных протоков. Усиливается застой крови в венах, что приводит к кровотечениям. Наблюдаются расширения синусоидов, количество клеток с признаками пикноза увеличивается, при этом они располагаются группами. Количество двухъядерных клеток также увеличивается (рис. 2).

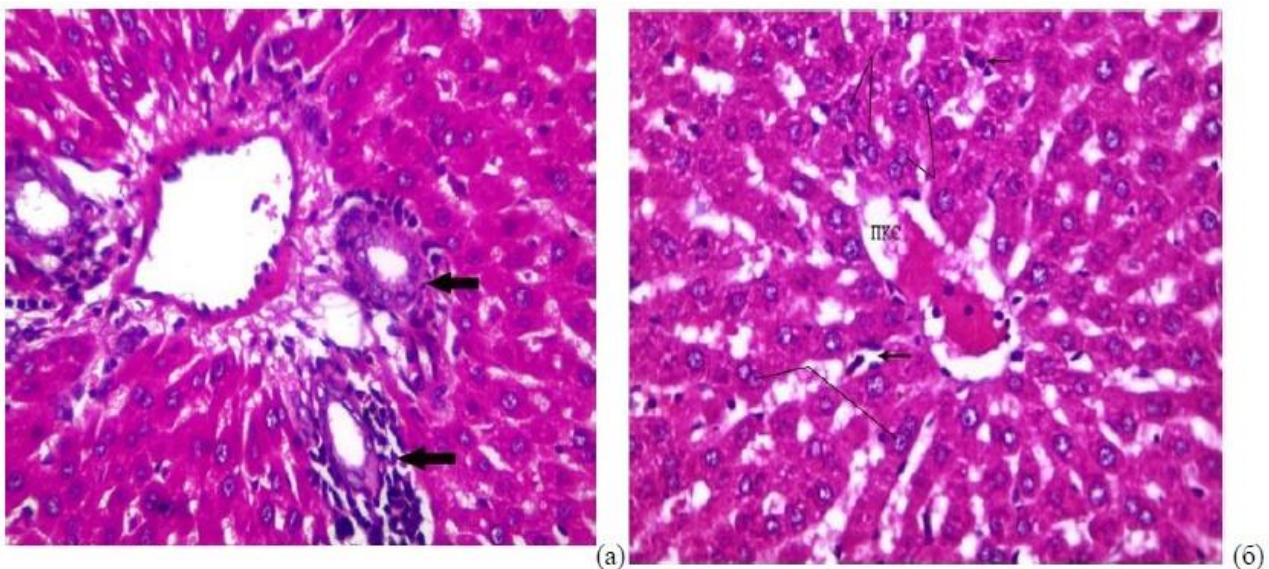


Рис. 2. Печень крыс через 4 недели. Усиление лимфоцитарной инфильтрации вокруг крупных и периферических сосудов, желчных протоков (толстая стрелка). Полнокровие кровеносных сосудов (ПКС), расширения синусоидов, клетки с признаками пикноза располагаются группами (тонкая стрелка) и двухъядерных клеток (двойная палочка). Окраска Г-Э, а, б X400.

Через 6 недель после начала эксперимента в печени наблюдаются более глубокие изменения. Полностью нарушается нормальная печеночная структура, клетки располагаются хаотично, балки не просматриваются. Нейтрофильная инфильтрация продолжает усиливаться, встречаются участки ткани с признаками гиперплазии и цитоллиза. У большинства клеток отмечена эндоплазматическая вакуолизация, во многих ядрах гепатоцитов наблюдаются явления кариопикноза, кариорексиса и кариолизиса. Значительно увеличивается количество двухъядерных клеток (рис.3).

Похожие последствия, приводящие к тяжелому повреждению клеток печени, включая некроз, наблюдали при введении пирозола J. Składziński и M. Beskid (1978), Y. Lu и A.I. Cederbaum (2006).



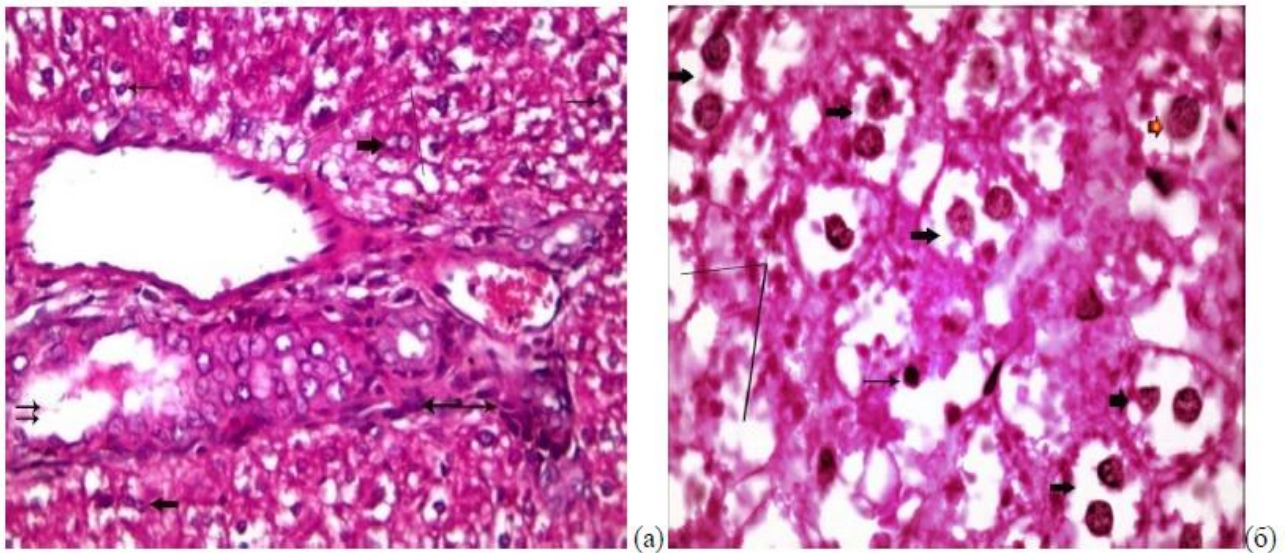


Рис. 3. Печень крыс через 6 недель. Участки ткани с признаками гиперплазии (двойная главная стрелка) и цитоллиза (2 стрелки). Явления кариопикноза (тонкая стрелка), кариорексиса (красная стрелка) кариолизиса (двойная линия). Двухъядерные клетки (толстая стрелка). Окраска Г-Э, (а) X400, (б) X1000.

#### *Гистологические изменения строения поджелудочной железы*

Введение крысам 1,5-бис(3,5-диметилпиразол-1-ил)-3-оксапентан-диацетатомеди вызвало гистологические изменения на уровне тканей, клеток и поджелудочной железы.

Через 2 недели после начала эксперимента, на препаратах поджелудочной железы видна нейтрофильная инфильтрация вокруг расширенных кровеносных сосудов с кровотечениями и в расширенных междольковых протоках поджелудочной железы. Встречаются вакуолизация цитоплазмы ацинарных клеток и клеток островков Лангерганса, единичные ацинарные клетки с признаками пикноза (рис. 4).

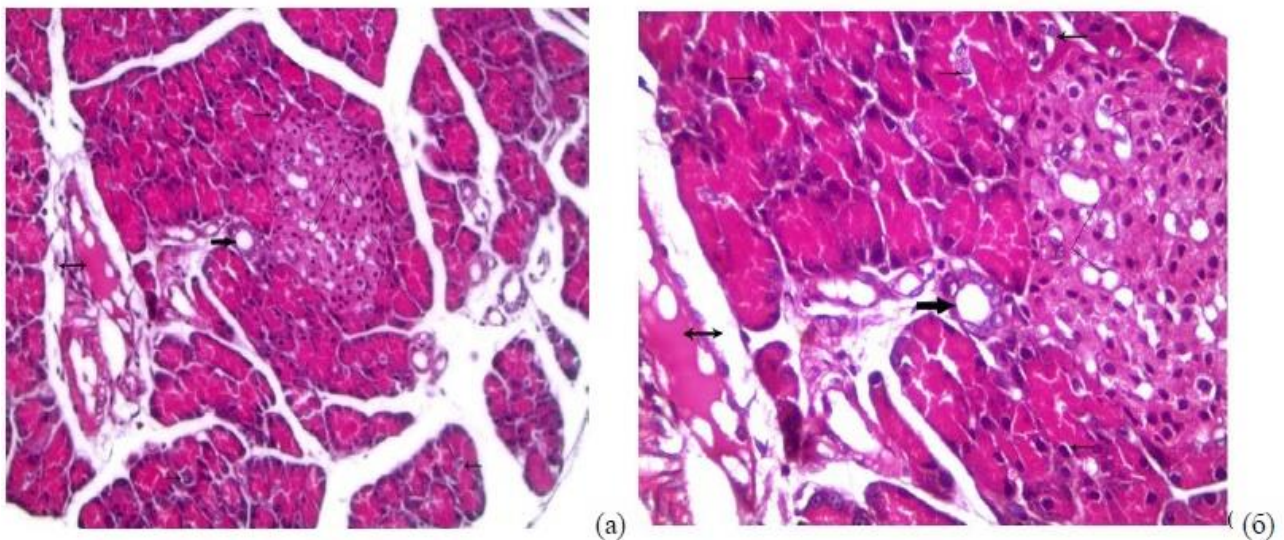


Рис. 4. Поджелудочная железа крыс через 2 недели. Нейтрофильная инфильтрация вокруг расширенных кровеносных сосудов (толстые стрелки) с кровотечениями (двойная главная стрелка) и в расширенных междольковых протоках поджелудочной железы. Вакуолизация клеток островков Лангерганса (двойная палочка), ацинарные клетки с признаками пикноза (тонкая стрелка). Окраска Г-Э, (а) X200, (б) X400.

Через 4 недели в тканях поджелудочной железы явление лимфоцитарной инфильтрации вокруг крупных кровеносных сосудов усиливается, а процесс расширения междольковых протоков поджелудочной железы продолжается. Отмечена дегенерация и вакуолизация цитоплазмы ацинарных клеток и клеток островков Лангерганса. В ядрах ацинарных клеток наблюдаются многочисленные митозы, часто встречаются двухъядерные клетки (рис. 5).



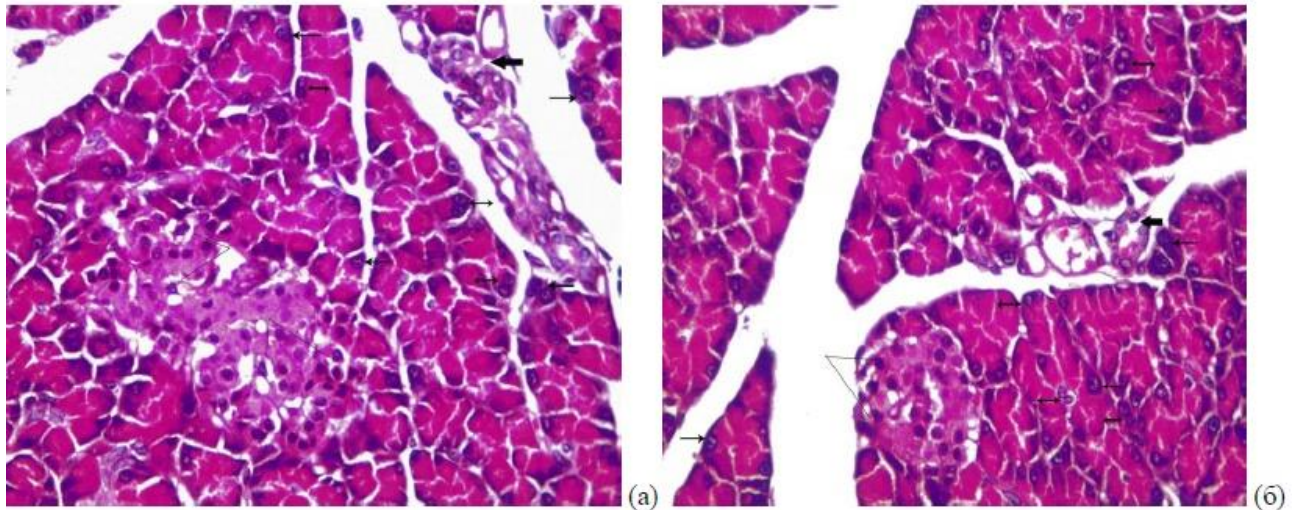


Рис. 5. Поджелудочная железа крыс через 4 недели. Лимфоцитарная инфильтрация вокруг крупных кровеносных сосудов и расширения междольковых протоков поджелудочной железы (толстые стрелки). Многочисленные митозы (тонкая стрелка). Дегенерация и вакуолизация клеток островков Лангерганса (двойная линия). Двухъядерные клетки (двойная главная стрелка). Окраска Г-Э (а), X400 (б).

Через 6 недель после начала эксперимента, в поджелудочной железе наблюдаются более глубокие изменения: нейтрофильная инфильтрация продолжает усиливаться, увеличивается количество кровеносных сосудов с признаками кровотечения. Во многих ядрах ацинарных клеток наблюдаются явления кариопикноза и кариорексиса, количество двухъядерных клеток продолжает увеличиваться (рис.6).

Похожие последствия подтверждаются данными, полученными другими исследователями. На изменения в поджелудочной железе у крыс после введение этанол-пиразола указывают Yamada *et al.* (1987). Пиразол вызывает морфологических изменения в яичках, предстательной железе, семенных пузырьках, щитовидной железе, клетках костного мозга и селезенки (Talman, 1979).

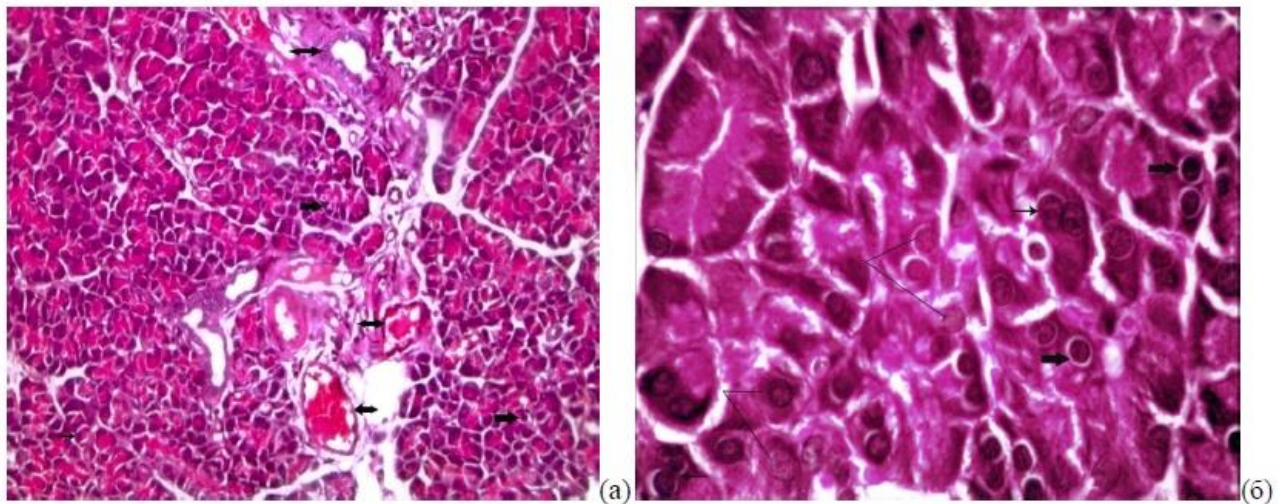


Рис. 6. Поджелудочная железа крыс через 6 недель. Нейтрофильная инфильтрация вокруг кровеносных сосудов с признаками кровотечениям (толстые стрелки). Явления кариопикноза (тонкая стрелка) и кариорексиса (двойная линия). Двухъядерные клетки (тонкая стрелка). Окраска Г-Э, (а) X100, (б) X1000.

#### Гистохимические изменения печени

У контрольных крыс содержание общего белка в клетках печени максимально по сравнению с опытными, о чем свидетельствует интенсивное окрашивание бромфеноловым синим. Плазменные мембраны, ядерные оболочки, хроматин, ядрышки и стенки кровеносных сосудов показывают интенсивную окраску; кроме того, клетки Купфера и эндотелиальные клетки синусоидов дают умеренное окрашивание с бромфеноловым синим (рис.7).



Введение крысам 1,5-бис(3,5-диметилпиразол-1-ил)-3-оксапентан-диацетатомеди вызывает последовательное сокращение содержания общего белка в ткани печени через 2, 4 и 6 недель после начала эксперимента. Это связано с постепенно нарастающей степенью вакуолизации цитоплазмы гепатоцитов и нарушением трофики тканей печени (рис.7).

Наши результаты согласуются с другими исследователями, которые связывают сокращение содержания белка с уменьшением его синтеза в клетках печени. Этот процесс по данным Sakr *et al.* (2002) зависит от патологических изменений, таких как вакуолизация и дегенерация клетки.; известно, что введение 3,5 диметилпиразола (в дозе 12 мг/кг массы тела) вызывало нарушение внутриклеточного синтеза белков в клетках печени крысы по данным Bergamini *et al.* (1987).

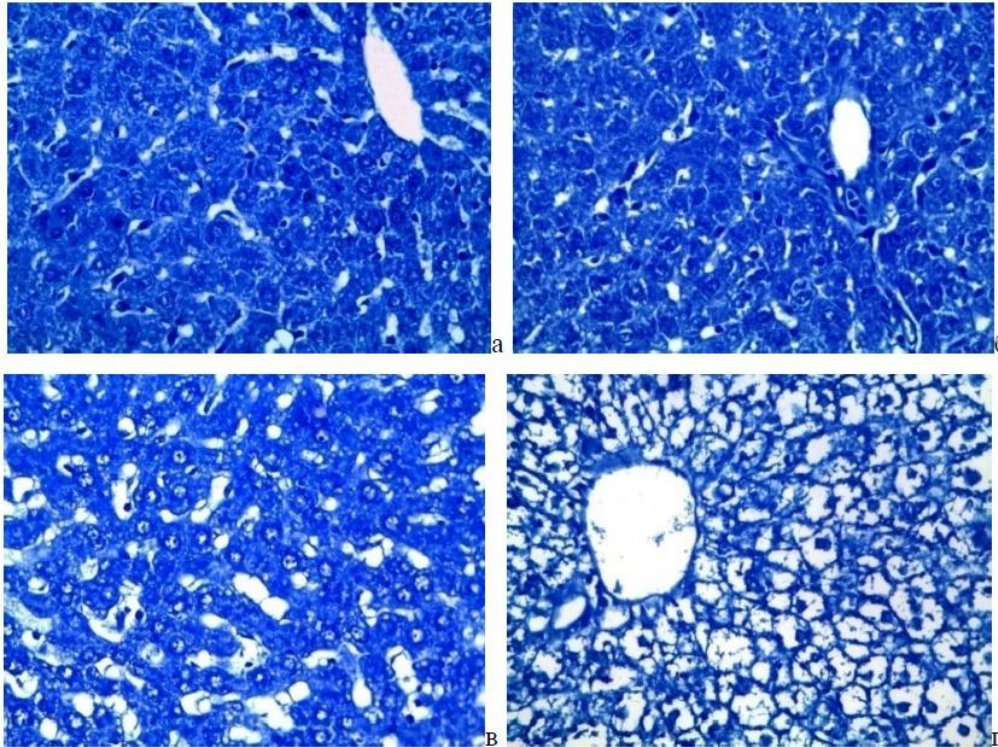


Рис. 7. Печень крыс. (а) - контроль, (б) - через 2 недели, (в) - через 4 недели и (г) - через 6 недель от начала эксперимента. Окраска Бромфеноловый синий, X 400.

#### *Гистохимические изменения поджелудочной железы*

Исследование тканей поджелудочной железы контрольных крыс показало сильную положительную реакцию цитоплазмы и ядер ацинарных клеток, а также клеток островков Лангерганса, стенок протоков и кровеносных сосудов при окрашивании бромфеноловым синим (рис. 8).

После введения крысам 1,5-бис(3,5-диметилпиразол-1-ил)-3-оксапентан-диацетатомеди наблюдается последовательное сокращение содержания общего белка в тканях поджелудочной железы через 2, 4 и 6 недель после начала эксперимента. Это связано с постепенно нарастающей степенью вакуолизации цитоплазмы ацинарных клеток, клеток островков Лангерганса (см. рис.8).

#### *Иммуногистохимическое выявление Bcl-2 белка печени*

В печени контрольных крыс не наблюдалось экспрессии белка Bcl-2 во всех печеночных клетках. Об этом свидетельствует отсутствие окрашивания по Брауну. В тканях печени опытных групп наблюдаются последовательные изменения количества окрашиваемого белка Bcl-2 через 2, 4 и 6 недель после начала эксперимента (рис. 9). Это указывает на нарастание экспрессии белка Bcl-2, что является признаками апоптоза и отражает степень повреждения печени. Точно также, белок Bcl-2 обнаружен при патологическом состоянии печени у крыс (Ovsyanko *et al.*, 2009).

По данным Hockenbery *et al.* (1991) в печени нормальных крыс, белок Bcl-2 обнаруживается только стволовыми клетками и клетками пролиферативного компартмента. Возрастание пролиферативной активности коррелирует со снижением экспрессии антиапоптотического гена Bcl-2 и приводит к активации апоптоза в патологических клетках (Korsmeyer, 1992).

Наши результаты согласуются с другими исследователями, отмечающими что, введение крысам 3,5-диметилпиразола вызывает увеличение деградации белка в печени и экспрессию гена LC3, который является одним из самых известных маркеров аутофагии (Donatia *et al.*, 2008).



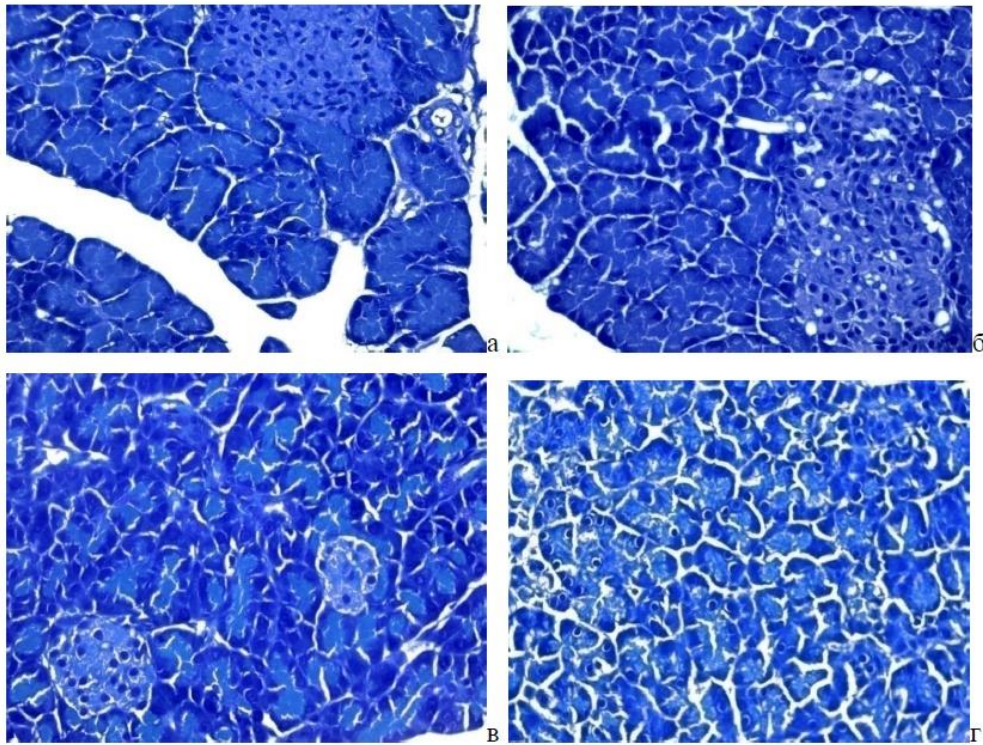


Рис. 8. Поджелудочная железа крыс, (а) - контроль, (б) - через 2 недели, (в) - через 4 недели и (г) - через 6 недель от начала эксперимента. Бромфеноловый синий, X 400.

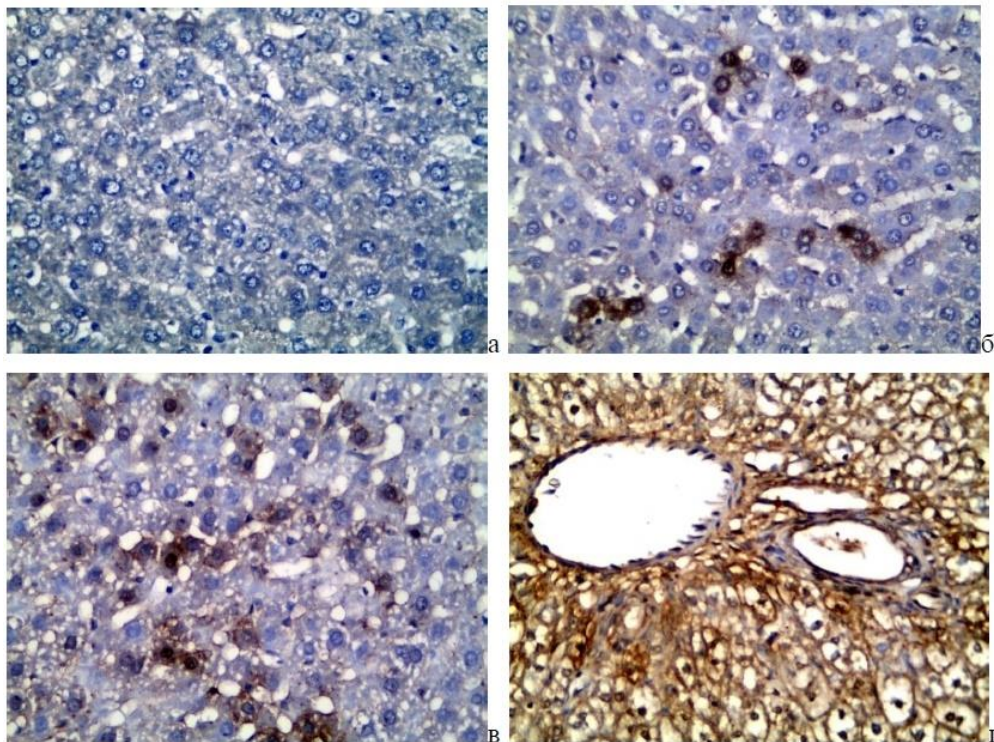


Рис. 9. Печень крыс: (а) - контроль, (б) - через 2 недели, (в) - через 4 недели и (г) - через 6 недель от начала эксперимента. Иммуногистохимическая реакция, X 400.

### ВЫВОДЫ

Множественное введение в организм крыс 1,5-бис(3,5-диметилпиразол-1-ил)-3-оксапентандиацетатомеди вызывает нарушение метаболических процессов, активацию процесса апоптоза. Гистологические изменения свидетельствуют о развитии таких процессов как гидропическая и жировая дистрофии, воспаление и мелкоочаговый некроз в тканях печени и поджелудочной железы.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Bergamini, E. Increased degradation in rat liver induced by antilipolytic agents: A model for studying autophagy and protein degradation in Liver / E. Bergamini, V. D. E. Tata, T. Loccr Cubeddu et al. // *Exp. and mol. pathol.* – 1987. – Vol.46. – P. 114–122.
- Donatia, A. In vivo effect of an antilipolytic drug (3,5-dimethylpyrazole) on autophagic proteolysis and autophagy-related gene expression in rat liver / A. Donatia, A. Ventrutia, G. Cavallinia et al. // *Biochem. and Biophys. Res. Commun.* – 2008. – Vol.366. – P. 786–792.
- Guo, L. Detection of bcl-2 and bax expression and bcl-2/JH fusion gene in intrahepatic cholangiocarcinoma / L. Guo, S. Xiao, Y. Guo // *World J. Gastroenterol.* – 2004. – Vol. 10, № 22. – P. 3251–3254.
- Hockenbery, D. M. Bcl-2 protein is topographically restricted in tissues characterized by apoptotic cell death / D. M. Hockenbery, M. Zutter, W. Hickey // *Proc. Natl. Acad. Sci.* – 1991. – Vol.88. – P. 6961–6965.
- Korsmeyer, S. J. Bcl-2 initiates a new category of oncogenes: regulators of cell death / S. J. Korsmeyer // *Blood.* – 1992. – Vol.80. – P. 879–886.
- Lillie, R. D. *Histopathological Technique and Practical Histochemistry* / R. D. Lillie, H. M. Fulmer. – 4th edn. New York, Mc Graw Hill, 1976. – 475 p.
- Locci, C. T. Effects of antilipolytic agents on rat liver peroxisomes and peroxisomai oxidative activities / C. T. Locci, P. Masiello, M. Pollera // *Biochim. And Biophys. Acta.* – 1985. – Vol.839. – P. 96–104.
- Lu, Y. Enhancement by pyrazole of lipopolysaccharide-induced liver injury in mice: role of cytochrome P450 2E1 and 2A5 / Y. Lu, A. I. Cederbaum, // *Hepato.* – 2006. – Vol. 44, № 1. – P. 263–274.
- Ovsyanko, E. V. Immunohistochemical study for the expression of Bcl-2 family proteins in Walker 256 carcinosarcoma cells under the influence of cytostatic drugs / E. V. Ovsyanko, E. L. Lushnikova, P. M. Larionov // *Bull. Exp. Biol. Med.* – 2009. – Vol.148, № 4. – P. 650–655.
- Pearse, A. G. E. *Histochemistry, Theoretical and Applied* / A. G. E. Pearse. – Churchill Livingstone. London, 1972. – 437 p.
- Potapov, A. S. Facile synthesis of flexible Bis(pyrazol-1-yl) alkane and related ligands in a superbasic medium / A. S. Potapov, G. A. Domina et al. // *Eur. J. Org. Chem.* – 2007. – Vol. 34. – P. 5112–5116.
- Potapov, A. S. Synthesis, characterization and potent superoxide dismutase-like activity of novel bis(pyrazole)-2,2-bipyridyl mixed ligand copper(II) complexes. / A. S. Potapov, E. A. Nudnova, G. A. Domina et al. // *Dalton Trans.* – 2009. – Vol. 23. – P. 4488–4498.
- Sakr, S. A. Pyrethriod inhalation induced histochemical changes in the liver of Albino rats / S. A. Sakr, F. A. El-Mesady, N. I. El-Desouki // *The sciences.* – 2002. – Vol.2, №1. – P. 24–28.
- Semenuk, A.V. Structural and metabolic responses in the offspring of experimental animals undergoing the action of chemical compounds in embryogenesis: Ph.D. Dissertation / A.V. Semenuk. – Irkutsk, 1996. – 342 p.
- Składziński, J. Combined action of pyrazole and ethanol on a rat liver: histochemical and ultrastructural study / J. Składziński, M. Beskid // *Fol. histochem. and cytochem.* – 1978. – Vol. 16, № 1. – P. 13–18.
- Talman, P. Measurement of peripheral nerve regeneration in the rat and the effects of pyronin or hypothyroidism / P. Talman // *Exp. Neurol.* – 1979. – Vol.65. – P. 535–541.
- Yamada, M. Effects of ethanol feeding on collagen synthesizing and degrading enzymes in rat pancreas / M. Yamada, Y. Murawaki, C. Hirayama // *Biochem. Pharmacol.* 1987. – Vol.36, № 20. – P. 3361–3364.

## REFERENCES

- Bergamini E, De Tata, V, Cubeddu, T.L., Masiello, P., Pollera, M. (1987). Increased degradation in rat liver induced by antilipolytic agents: A model for studying autophagy and protein degradation in Liver. *Exp. and Mol. Pathol.*, 46, 114–122.
- Donatia, A., Ventruria, A., Cavallinia, G., Masini, M., Vittorini, S., Chantret, I., Codogno, P., Bergamini, E. (2008). In vivo effect of an antilipolytic drug (3,5-dimethylpyrazole) on autophagic proteolysis and autophagy-related gene expression in rat liver. *Biochem. and Biophys. Res. Commun.*, 366, 786–792.
- Guo, L., Xiao, S., Gou, Y. (2004). Detection of bcl-2 and bax expression and bcl-2/JH fusion gene in intrahepatic cholangiocarcinoma. *World J. Gastroenterol.*, 10(22), 3251–3254.
- Hockenbery, D.M., Zutter, M., Hickey, W. (1991). Bcl-2 protein is topographically restricted in tissues characterized by apoptotic cell death. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 88, 6961–6965.
- Korsmeyer, S.J. (1992). Bcl-2 initiates a new category of oncogenes: regulators of cell death. *Blood.*, 80, 879–886.
- Lillie, R.D., Fulmer, H.M. (1976). *Histopathological Technique and Practical Histochemistry*. New York: Mc Graw Hill.
- Locci, C.T., Masiello, P., Pollera, M. (1985). Effects of antilipolytic agents on rat liver peroxisomes and



- peroxisomai oxidative activities. *Biochim. and Biophys. Acta*, 839, 96–104.
- Lu, Y., Cederbaum, A.I. (2006). Enhancement by pyrazole of lipopolysaccharide-induced liver injury in mice: role of cytochrome P450 2E1 and 2A5. *Hepatol.*, 44(1), 263–274.
- Ovsyanko, E.V., Lushnikova, E.L., Larionov, P.M. (2009). Immunohistochemical study for the expression of Bcl-2 family proteins in Walker 256 carcinosarcoma cells under the influence of cytostatic drugs. *Bull. Exp. Biol. Med.*, 148(4), 650–655.
- Pearse, A.G.E. (1972). *Histochemistry, Theoretical and Applied*. London: Churchill Livingstone.
- Potapov, A.S., Domina, G.A. Facile synthesis of flexible Bis(pyrazol-1-yl) alkane and related ligands in a superbasic medium. *Eur. J. Org. Chem.*, 34, 5112–5116.
- Potapov, A.S., Nudnova, E.A., Domina G.A., Kirpotina, L.N., Quinn, M.T., Khlebnikov, A.I., Schepetkin, I.A. (2009). Synthesis, characterization and potent superoxide dismutase-like activity of novel bis(pyrazole)-2,2-bipyridyl mixed ligand copper(II) complexes. *Dalton Trans.*, 23, 4488–4498.
- Sakr, S.A., El-Mesady, F.A., El-Desouki, N.I. (2002). Pyrethroid inhalation induced histochemical changes in the liver of Albino rats. *The Sciences*, 2(1), 24–28.
- Semenuk, A.V. (1996). *Structural and metabolic responses in the offspring of experimental animals undergoing the action of chemical compounds in embryogenesis*. Thesis of Doctoral Dissertation. Irkutsk (in Russian).
- Składziński, J., Beskid, M. (1978). Combined action of pyrazole and ethanol on a rat liver: histochemical and ultrastructural study. *Fol. Histochem. and Cytochem.*, 16(1), 13–18.
- Talman, P. (1979). Measurement of peripheral nerve regeneration in the rat and the effects of pyronin or hypothyroidism. *Exp. Neurol.*, 65, 535–541.
- Yamada, M., Murawaki, Y., Hirayama, C. (1987). Effects of ethanol feeding on collagen synthesizing and degrading enzymes in rat pancreas. *Biochem. Pharmacol.*, 36(20), 3361–3364.