



Смирнов А.Н., Бугорский И.Б., Блинов А.К., Смирнова А.Е., Кузьмич В.Г., Толкач П.Г., Язенок А.В.

Экспериментальное моделирование химического пневмонита у крыс при внутрижелудочном введении бензина

ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации, 194044, Санкт-Петербург, Российская Федерация

РЕЗЮМЕ

Введение. Токсическое действие бензина сопряжено с нарушением функций ЦНС и повреждением органов дыхания — химическим пневмонитом, который обуславливает тяжесть состояния пострадавших при неблагоприятном течении острого перорального отравления. В настоящее время патогенетически обоснованные подходы к коррекции химического пневмонита, вызванного пероральным поступлением бензина, отсутствуют. Для поиска патогенетической терапии необходимы адекватные экспериментальные модели на животных.

Цель — разработать экспериментальную модель химического пневмонита у крыс, вызванного внутрижелудочным введением бензина.

Материал и методы. Экспериментальное исследование выполнено на 128 крысах. В качестве токсиканта использовали бензин марки АИ-92 (далее — бензин), который вводили однократно внутрижелудочно при помощи зонда в дозе $10,3 \pm 0,44$ мл/кг, ($n = 6$ в группе). На 1-м этапе была выполнена оценка острой токсичности бензина методом пробит-анализа по Финни, определена средняя летальная доза (ЛД₅₀). На 2-м этапе была проведена проверка адекватности математически подобранной дозы. На 3-м этапе были изучены морфологические, гистологические и рентгенологические изменения в лёгких на 1-е, 2-е, 5-е и 14-е сутки после внутрижелудочного введения бензина (ЛД₅₀).

Результаты. Установлено, что средняя летальная доза бензина при однократном внутрижелудочном введении составила $10,3 \pm 0,44$ мл/кг. Летальные исходы, обусловленные прямым нейротоксическим действием, формировались в течение первых двух часов после воздействия бензина ($30 \pm 14\%$), а летальные исходы вследствие дыхательной недостаточности — в первые 5 суток после воздействия ($60 \pm 15\%$). Определили увеличение лёгочного коэффициента во все сроки наблюдения, наиболее выраженное через 24 часа после воздействия. Увеличение лёгочного коэффициента сопровождалось появлением макроскопических изменений (поверхность лёгких вишнево-синюшного оттенка с множественными субплевральными кровоизлияниями, пенистый экссудат в трахее, очаги геморрагического пропитывания паренхимы лёгких), гистологических изменений (субтотальный интерстициальный отёк с выраженной клеточной реакцией, набухание и фрагментация коллагеновых волокон, участки дисаэлектазов, деструкции альвеолоцитов с образованием детрита и разрывов межальвеолярных перегородок), рентгенологических изменений (усиление лёгочного рисунка, очаговая инфильтрация в верхних сегментах лёгких). К 14-м суткам после воздействия сохранялись гистологические изменения тканей лёгких, характерные для хронического воспаления с умеренной лимфоидной инфильтрацией, гиалинизацией альвеолярных мембран и локальными фиброзными изменениями. Выявленные изменения в тканях лёгких обусловлены прямым повреждающим действием бензина на компоненты аэрогематического барьера, связанным с его экскрецией с выдыхаемым воздухом.

Ограничения исследования обусловлены его методологией. При выполнении исследования не определяли содержание бензина в крови животных.

Заключение. Разработана воспроизводимая экспериментальная модель химического пневмонита у крыс, вызванного внутрижелудочным введением бензина (ЛД₅₀), тяжесть состояния животных обусловлена острой дыхательной недостаточностью.

Ключевые слова: бензин; отравление; экспериментальная модель; химический пневмонит

Соблюдение этических стандартов. Экспериментальное исследование одобрено независимым этическим комитетом при ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации (протокол от 23 января 2024 г. № 287) и проведено в соответствии с Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (ETS N 123), директивой Европейского парламента и Совета Европейского Союза 2010/63/ЕС от 22.09.2010 г. о защите животных, используемых для научных целей.

Для цитирования: Смирнов А.Н., Бугорский И.Б., Блинов А.К., Смирнова А.Е., Кузьмич В.Г., Толкач П.Г., Язенок А.В. Экспериментальное моделирование химического пневмонита у крыс при внутрижелудочном введении бензина. *Токсикологический вестник*. 2026; 34(1): 37–46. <https://doi.org/10.47470/0869-7922-2026-34-1-37-46> <https://elibrary.ru/cbjvji>

Для корреспонденции: Смирнов А.Н., e-mail: sandstorm9@mail.ru

Участие авторов. Смирнов А.Н. — концепция и дизайн исследования, сбор материала, написание текста; Бугорский И.Б. — сбор материала и обработка данных, написание текста; Блинов А.К. — сбор и обработка материала; Смирнова А.Е. — сбор

и обработка материала; Кузьмич В.Г. – сбор и обработка материала; Толкач П.Г. – ответственность за целостность всех частей статьи, написание текста; Язенко А.В. – редактирование, утверждение окончательного варианта статьи. Все соавторы – утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех её частей.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии явных и потенциальных конфликтов интересов в связи с публикацией данной статьи.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Поступила в редакцию: 10 мая 2025 / Поступила после исправления: 16 июня 2025 / Принята в печать: 02 февраля 2026 / Опубликовано: 18 марта 2026

Anton N. Smirnov, Ivan B. Bugorskiy, Alena E. Smirnova, Andrey K. Blinov, Vladimir G. Kuzmich, Pavel G. Tolkach, Arkadiy V. Yazenok

Experimental modeling of chemical pneumonitis in rats after intragastric administration of gasoline

S.M. Kirov Military Medical Academy of the Ministry of Defense of the Russian Federation, 194044, St. Petersburg, Russian Federation

ABSTRACT

Introduction. The toxic effect of gasoline is associated with CNS dysfunction and respiratory damage, such as chemical pneumonitis, which contributes to the severity of the condition of patients with acute oral poisoning. Currently, there are no pathogenetically based approaches to the treatment of chemical pneumonitis caused by oral intake of gasoline. Adequate experimental models in animals are necessary for the development of pathogenetic therapy.

The aim of this study was to develop an experimental model of chemical pneumonitis in rats caused by intragastric gasoline administration.

Material and methods. The experimental study was performed on 128 rats. AI-92 gasoline (hereinafter referred to as gasoline) was used as a toxicant, which was administered intragastrically once using a probe at a dose of 10.3 ± 0.44 ml / kg, ($n = 6$ in the group). At stage 1, the acute toxicity of gasoline was assessed using the Finney probit analysis method, and the mean lethal dose (LD_{50}) was determined. At stage 2, the adequacy of the mathematically selected dose was checked. At stage 3, morphological, histological, and radiological changes in the lungs were studied on days 1, 2, 5, and 14 after intragastric administration of gasoline (LD_{50}).

Results. It was found that the mean lethal dose of gasoline after a single intragastric administration was 10.3 ± 0.44 ml/kg. Lethal outcomes due to direct neurotoxic effects occurred within the first two hours after exposure to gasoline ($30 \pm 14\%$), while lethal outcomes due to respiratory failure occurred within the first five days after exposure ($60 \pm 15\%$). An increase in the pulmonary coefficient was observed at all observation periods, with the most pronounced increase occurring 24 hours after exposure. The increase in the pulmonary coefficient was accompanied by the appearance of macroscopic changes: the surface of the lungs is cherry-blue in color with multiple subpleural hemorrhages, foamy exudate in the trachea, foci of hemorrhagic impregnation of the lung parenchyma; histological changes: subtotal interstitial edema with a pronounced cellular reaction, swelling and fragmentation of collagen fibers, areas of disatelectasis, destruction of alveolocytes with the formation of detritus and ruptures of the interalveolar septa; radiological changes: increased pulmonary pattern, focal infiltration in the upper segments of the lungs. By day 14 after exposure, histological changes in the lung tissues characteristic of chronic inflammation with moderate lymphoid infiltration, hyalinization of the alveolar membranes and local fibrous changes persisted. These identified changes in the lung tissues were caused by the direct damaging effect of gasoline on the components of the aerogemetic barrier, which was associated with its excretion through exhaled air.

Limitations. The study is limited by its methodology. Gasoline blood concentrations were not measured.

Conclusion. A reproducible experimental model of chemical pneumonitis in rats was developed using intragastric gasoline administration (LD_{50}), with disease severity determined by acute respiratory failure.

Keywords: gasoline; poisoning; experimental model; chemical pneumonitis

Compliance with ethical standards. The study was approved by the Independent Ethics Committee of the S.M. Kirov Military Medical Academy (Protocol No. 287 dated January 23, 2024), The study was conducted in accordance with the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes (ETS N 123) and with the Directive 2010/63/EC of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the Protection of Animals Used for Scientific Purposes.

For citation: Smirnov A.N., Bugorskiy I.B., Smirnova A.E., Kuzmich V.G., Tolkach P.G., Yazenok A.V. Experimental modeling of chemical pneumonitis in rats after intragastric administration of gasoline. *Toksikologicheskiy vestnik / Toxicological Review*. 2026; 34(1): 37–46. <https://doi.org/10.47470/0869-7922-2026-34-1-37-46> <https://elibrary.ru/cbjvji> (in Russian)

For correspondence: Anton N. Smirnov, e-mail: sandstorm9@mail.ru

Authors' contribution: Smirnov A.N. – concept and design of research, collection of material, writing; Bugorskiy I.B. – collection of material and data processing, writing; Blinov A.K. – collection and processing of material; Smirnova A.E. – collection and processing of material; Kuzmich V.G. – collection and processing of material; Tolkach P.G. – responsibility for the integrity of all parts of the article, writing; Yazenok A.V. – editing, approval of the final version of the article. All co-authors are responsible for approving the final version of the article and ensuring the integrity of all its parts.

Conflict of interest. The authors declare no apparent and potential conflicts of interest in relation to the publication of this article.

Funding. The study had no sponsorship.

Received: May 10, 2025 / Revised: June 10, 2025 / Accepted: February 2, 2026 / Published: March 18, 2026

Введение

Несмотря на относительно низкую частоту встречаемости в общей структуре химических отравлений, острые интоксикации моторными топливами сохраняют клиническую значимость в практике врачей. Отравления моторными топливами классифицируют по МКБ-10 как токсическое действие нефтепродуктов (Т52.0) или органических растворителей неуточнённых (Т52.9) [1]. Среди нефтепродуктов, включённых в данную классификацию, отравление бензином представляет особую клиническую значимость при относительно низкой распространённости случаев интоксикации. Согласно ретроспективному анализу данных отдела клинической токсикологии Санкт-Петербургского Научно-исследовательского института скорой помощи им. И.И. Джанелидзе и Клиники военно-полевой терапии Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова, за период 2018–2024 гг. частота отравлений бензином в Северо-Западном федеральном округе составляла менее 1% от общего числа интоксикаций. Однако тяжесть патологии, связанная с высоким риском формирования жизнеугрожающих осложнений (химический пневмонит, рецидивирующий пневмоторакс и др.), а также отсутствие стандартизированных алгоритмов лечения, обусловленное сложностью диагностики и многофакторностью патогенеза, подчёркивают важность изучения данной проблемы [2, 3].

Ввиду несовершенства организации маршрутизации данной категории пациентов, а также умышленного сокрытия ими факта отравления на рабочем месте большинство случаев интоксикации бензином лёгкой и средней степени тяжести остаются неучтёнными. Кроме того, часть тяжёлых отравлений кодируют как последствия токсического действия веществ преимущественно немедицинского назначения (Т97.0 по МКБ-10), что дополнительно искажает статистические данные [1]. Следствием этих системных ошибок становится то, что значительная часть пациентов с отравлением бензином поступает в отделения терапевтического профиля с ошибочными диагнозами «внебольничная или аспирационная пневмония», при этом клиническая картина характеризуется затяжным течением, резистентностью к стандартной антибиотикотерапии и риском абсцедирования [4, 5].

Токсическое действие бензина сопряжено со специфическим лёгочным повреждением — химическим пневмонитом, обуславливающим тяжесть состояния. Химический пневмонит — неинфекционный воспалительный процесс в лёгочной паренхиме, возникающий при прямом воздействии агрессивных химических агентов (кислот, щело-

чей, летучих органических соединений и др.) на респираторный тракт при ингаляции или аспирации [6, 7]. При пероральной интоксикации бензином химический пневмонит может формироваться как при аспирации, так и без неё. В последнем случае формирование патологических изменений в лёгочной ткани обусловлено экскрецией токсиканта через лёгкие с повреждением компонентов аэрогематического барьера [8, 9].

Высокая частота неблагоприятных исходов при интоксикации бензином и другими моторными топливами связана с ограниченной эффективностью существующих терапевтических подходов к лечению [8], что подчёркивает необходимость разработки новых методов коррекции данного патологического состояния. Анализ доступной литературы свидетельствует об отсутствии экспериментальных моделей, адекватно воспроизводящих патогенез повреждения лёгких при пероральном поступлении моторных топлив.

Цель настоящего исследования заключалась в разработке экспериментальной модели химического пневмонита у лабораторных животных, индуцированного внутрижелудочным введением бензина.

Материал и методы

Экспериментальное исследование выполнено на 128 белых беспородных крысах-самцах массой 250–350 г, полученных из «Питомника лабораторных животных Рапполово» Национального исследовательского центра «Курчатовский институт» (пос. Рапполово Ленинградской области). Исследование выполняли в соответствии с требованиями нормативно-правовых актов о порядке экспериментальной работы с использованием животных, в том числе по гуманному отношению к ним. Животных выдерживали в карантине в течение 14 суток, больных и ослабленных в исследование не включали. Для седации и выведения животных из эксперимента вводили раствор «тилетамин + золазепам» (Золетил 100™, Virbak, Франция).

В качестве токсиканта использовали автомобильный бензин марки АИ 92, который вводили животным внутрижелудочно. Наблюдение за животными осуществляли в течение 14 суток после воздействия [10]. На 1-м этапе исследования оценивали острую токсичность бензина для крыс при его однократном внутрижелудочном введении через зонд; животные были разделены на пять опытных групп ($n = 6$ в группе), которым бензин вводили однократно в дозах 8, 9, 10, 11 и 12 мл/кг. На 2-м этапе исследования была сфор-

Зависимость летальности животных от дозы бензина при его однократном внутрижелудочном введении, % ($X \pm S_x$)**Dependence of animal mortality on the dose of gasoline with its single intragastric administration, % ($X \pm S_x$)**

№ группы Group number	Доза бензина, мл/кг Gasoline dose, ml/kg	Количество животных в группе, голов Number of animals in the group	Количество павших животных в группе, голов The number of dead animals in the group	Летальность, % Lethality, %
1-я группа / 1 st group	8	6	0	0 + 10
2-я группа / 2 nd group	9	6	1	17 ± 17
3-я группа / 3 rd group	10	6	3	50 ± 22
4-я группа / 4 th group	11	6	4	67 ± 21
5-я группа / 5 th group	12	6	5	83 ± 17

мирована отдельная группа крыс ($n = 6$ в группе), которым бензин вводили однократно внутрижелудочно через зонд в дозе, соответствующей средней летальной (10,3 мл/кг). На 3-м этапе исследования животных подразделили на две группы: группу интоксикации ($n = 24$) и контрольную группу ($n = 24$). Крысам группы интоксикации бензин вводили однократно внутрижелудочно через зонд в дозе ЛД₅₀. Крысам контрольной группы однократно внутрижелудочно через зонд вводили физиологический раствор в эквивалентном объёме (10,3 мл/кг). Через 1, 2, 5 и 14 суток из опыта выводили по 6 животных из группы интоксикации и 6 из контрольной группы. Этим животным выполняли определение лёгочного коэффициента и гистологическое исследование лёгких. Дополнительно рентгенографию органов грудной клетки выполняли на 1-е, 5-е и 14-е сутки после воздействия

Животных выводили из эксперимента, в ходе аутопсии осуществляли эвисцерацию и осмотр внутренних органов, рассчитывали лёгочный коэффициент (ЛК) по формуле (1):

$$LK = (ML / MK) \cdot 1000; \text{отн. ед.}, \quad (1)$$

где ML – масса лёгкого, г; MK – масса тела крысы, г.

Лёгкие фиксировали в 10%-м растворе забуференного формалина, обезжировали, заливали в парафин и изготавливали срезы толщиной 4–5 мкм. Готовили стеклопрепараты для микроскопии по стандартной методике, окрашивали гематоксилином и эозином [11]. Микроскопию срезов проводили при помощи светооптического микроскопа МИКМЕД-6 (ЛОМО, Россия), оценивали качественные изменения.

Оценку токсичности бензина выполняли методом пробит-анализа в модификации Финни. Среднюю величину летальности в группах и её стандартную ошибку определяли с использованием таблиц процентов и их ошибок, для описания мер центральной тенденции продолжительности

жизни применяли медиану с нижним и верхним квартилями ($Me [Q_{25}; Q_{75}]$). Сравнение независимых показателей, распределение которых отличалось от нормального, проводили с помощью непараметрического U-критерия Манна – Уитни. Для сравнения качественных бинарных признаков использовали точный критерий Фишера. Статистическую значимость различий между группами устанавливали при уровне $p < 0,05$.

Результаты

Установлено, что ЛД₅₀ бензина при его внутрижелудочном введении составила $10,3 \pm 0,44$ мл/кг, ЛД₁₆ – 8,8 мл/кг, ЛД₈₄ – 11,9 мл/кг, ЛД₉₉ – 12,7 мл/кг. Летальность животных в опытных группах и эквивалентные дозы бензина для крыс представлены в **таблице**.

На втором этапе исследования животных подвергли интоксикации путём внутрижелудочного введения бензина в дозе ЛД₅₀. При проверке адекватности математически подобранной дозы определили, что летальность животных составила $60 \pm 16\%$, а медиана продолжительности жизни – 3 суток (**рис. 1**).

Появление симптомов интоксикации отмечали в период от 15-й до 30-й мин после введения бензина. Наблюдалось снижение двигательной активности и защитного поведения при взятии животных в руки, угасание рефлексов переворачивания, разгибания конечностей, снижение болевого, роговичного и глоточного рефлексов. Дыхание становилось аритмичным, была задействована вспомогательная мускулатура, развивалось брадипноэ. Через 30–40 мин после введения бензина положение тела животных в пространстве – на боку. В интервале 40–90 мин после воздействия у животных реакция на тактильные и болевые стимулы отсутствовала, определили признаки гипоксии (цианоз слизистых), агональные дыхательные движения, после чего фикси-

ровали летальный исход. У $30 \pm 14\%$ животных гибель наступала в первые 90–120 мин после воздействия, сопровождаясь слабоинтенсивными клонико-тоническими судорогами. У $60 \pm 15\%$ особей летальность развивалась в течение 5 суток после воздействия на фоне прогрессирующей дыхательной недостаточности.

На третьем этапе исследования животным в различные сроки после введения бензина проводили рентгенографию органов грудной клетки. При анализе рентгенограмм крыс контрольной и опытных групп, выполненных накануне воздействия, определили равномерно прозрачные лёгкие с веерообразно расходящимися чётко очерченными тенями крупных кровеносных сосудов, постепенно истончающимися к периферии (рис. 2, а, б).

При проведении анализа рентгенограмм, полученных после воздействия, выявили значимые ($p < 0,01$) различия в частоте встречаемости очаговой инфильтрации у животных, подвергшихся воздействию бензина, по сравнению с животными контрольной группы. На 1-е сутки у $20 \pm 9\%$ животных группы с интоксикацией наблюдали усиление лёгочного рисунка с очаговой инфильтрацией в верхних сегментах лёгких, тогда как в контроле патологические изменения отсутствовали (рис. 3, а, б). К 5-м суткам доля особей с рентгенологическими признаками поражения составила $50 \pm 12\%$ и была выше ($p < 0,001$) по сравнению с контролем (рис. 4, а, б).

На 14-е сутки у выживших животных рентгенологически фиксировали полное разрешение ранее выявленных изменений (рис. 5, а, б).

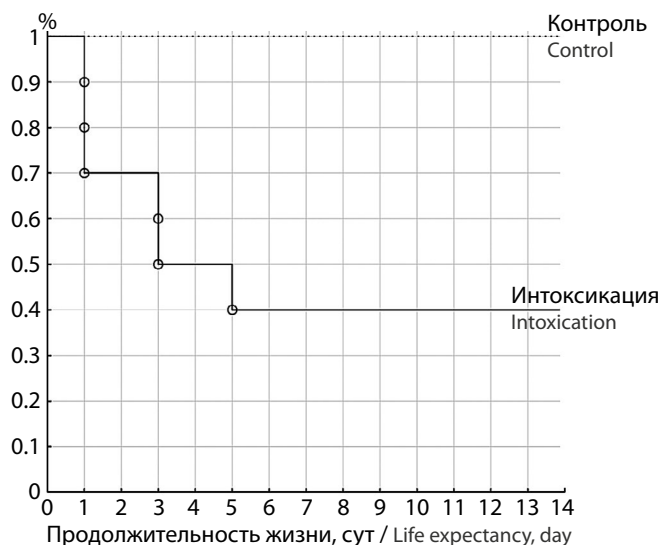


Рис. 1. График продолжительности жизни и кумулятивная доля крыс (%), метод Каплана – Мейера, выживших после внутрижелудочного введения бензина (ЛД₅₀).

Fig. 1. Cumulative proportion of surviving rats after intragastric administration of gasoline at median lethal dose (Kaplan–Meier plot). % – Cumulative proportion of surviving rats (Kaplan–Meier method).

Лёгочные поля сохраняли равномерную прозрачность, патологические затемнения и признаки перибронхиальной инфильтрации отсутствовали. В контрольной группе на всех этапах исследования (1-е, 5-е и 14-е сутки) при рентгенографии определили равномерно прозрачные лёгочные поля без инфильтративных изменений.

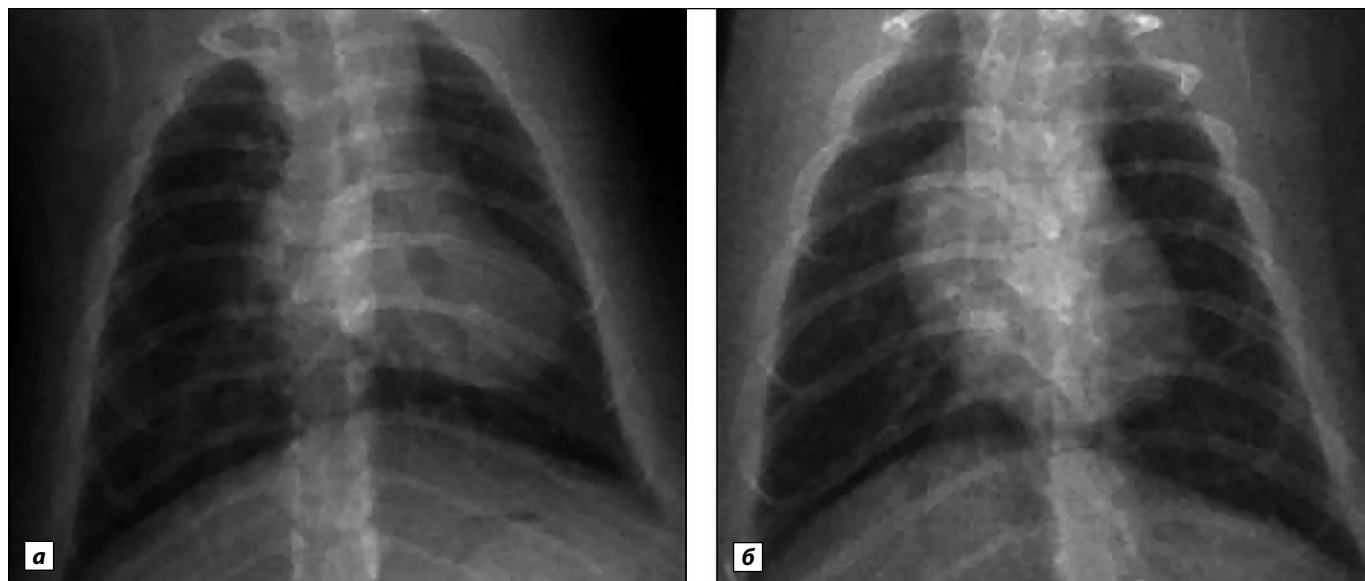


Рис. 2. Рентгенограммы органов грудной клетки крыс группы контроль (а) и интоксикация (б), выполненные накануне воздействия. Увеличено при печати.

Fig. 2. Chest X-rays of rats from the control group (а) and the group with intoxication (б) performed on the eve of exposure. Enlarged when printing.

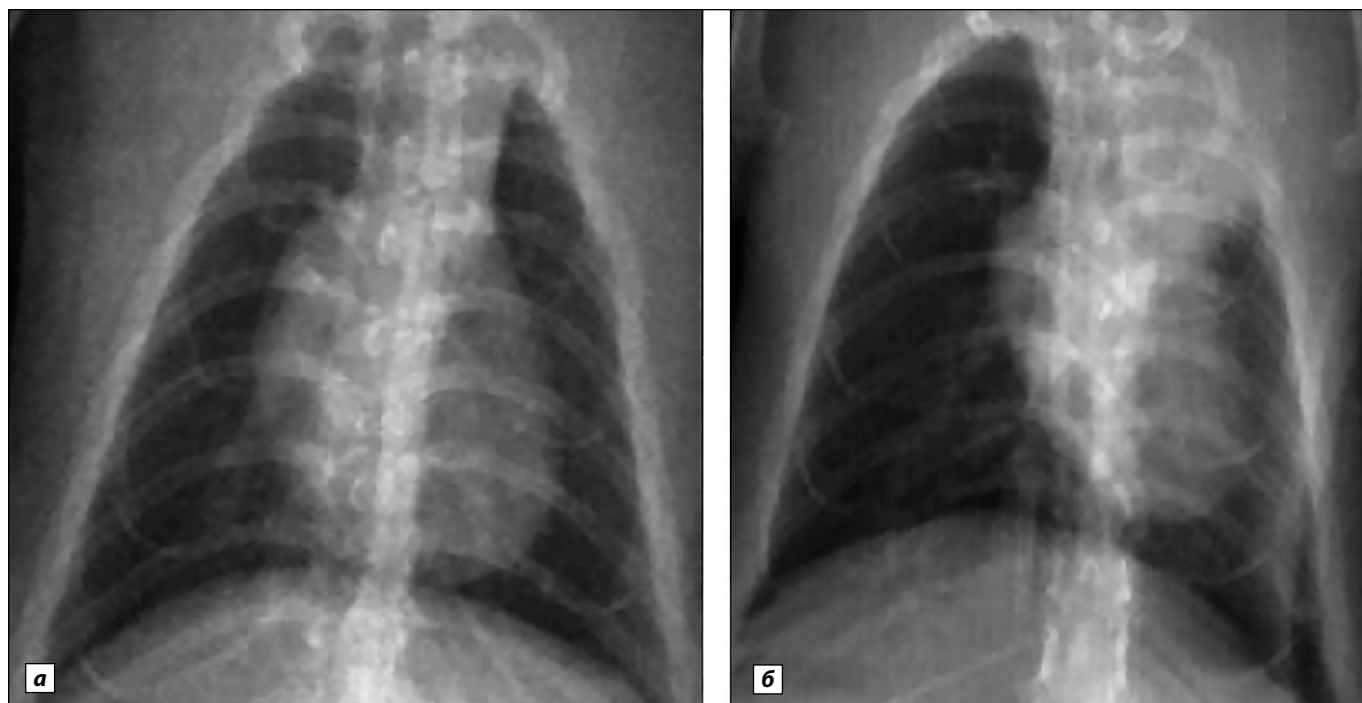


Рис. 3. Рентгенограммы органов грудной клетки крыс контрольной группы (а) и группы с интоксикацией (б), выполненные в первые сутки после воздействия. Увеличено при печати.

Fig. 3. Chest X-rays of rats from the control group (a) and the group with intoxication (b), performed on the first day after exposure. Enlarged when printing.

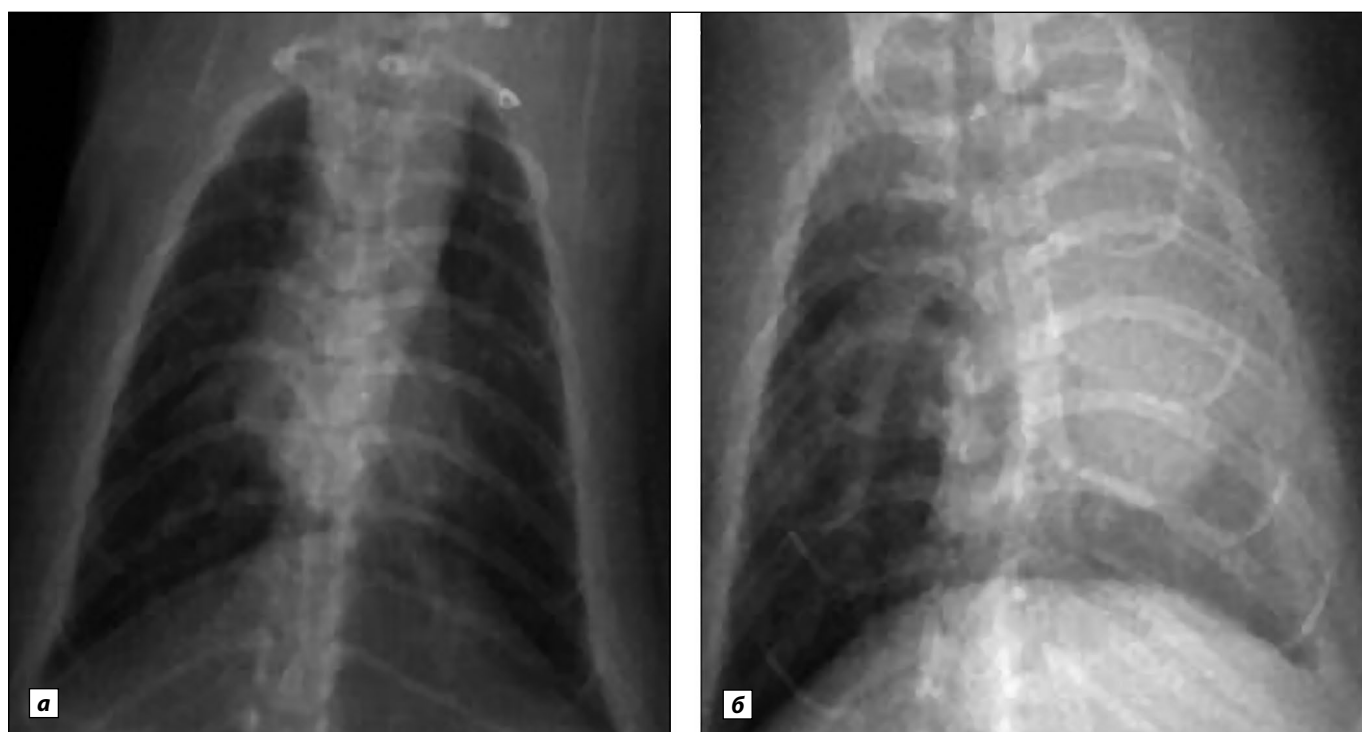


Рис. 4. Рентгенограммы органов грудной клетки крыс контрольной группы (а) и группы с интоксикацией (б), выполненные на пятые сутки после воздействия. Увеличено при печати.

Fig. 4. Chest X-rays of rats from the control group (a) and the group with intoxication (b), performed on the fifth day after exposure. Enlarged when printing.



Рис. 5. Рентгенограммы органов грудной клетки крыс контрольной группы (а) и группы с интоксикацией (б), выполненные на четырнадцатые сутки после воздействия.

Fig. 5. Chest X-rays of rats from the control group (a) and the group with intoxication (b), performed on the fourteenth day after exposure. Enlarged when printing.

Статистически значимое увеличение лёгочного коэффициента у крыс группы с интоксикацией по сравнению с контролем зафиксировано на 1-е, 2-е и 14-е сутки после воздействия. На 1-е сутки медиана ЛК в группе интоксикации составила 11,7 [10,5; 15,5] отн. ед., что в 2 раза ($p < 0,001$) превышало значения у животных контрольной группы (5,7 [5,2; 5,8] отн. ед.). На 2-е сутки ЛК снизился (по сравнению с 1-ми сутками после воздействия), но был на 50% выше ($p < 0,01$) по сравнению с контролем. К 14-м суткам после воздействия ЛК животных группы с интоксикацией был выше ($p < 0,05$) на 28% по сравнению с контролем (рис. 6, а, б).

При проведении макроскопического исследования лёгких установлено, что у животных контрольной группы патологические изменения отсутствовали. На 1-е сутки после воздействия бензина поверхность лёгких крыс группы с интоксикацией имела лаковый вишнёво-синюшный оттенок с множественными субплевральными кровоизлияниями. В трахее обнаружили пенистый экссудат прозрачного или геморрагического характера. При компрессии паренхимы выделялось незначительное количество тёмно-красной жидкости. Отмечали очаги геморрагического пропитывания диаметром 3–5 мм, а у части жи-

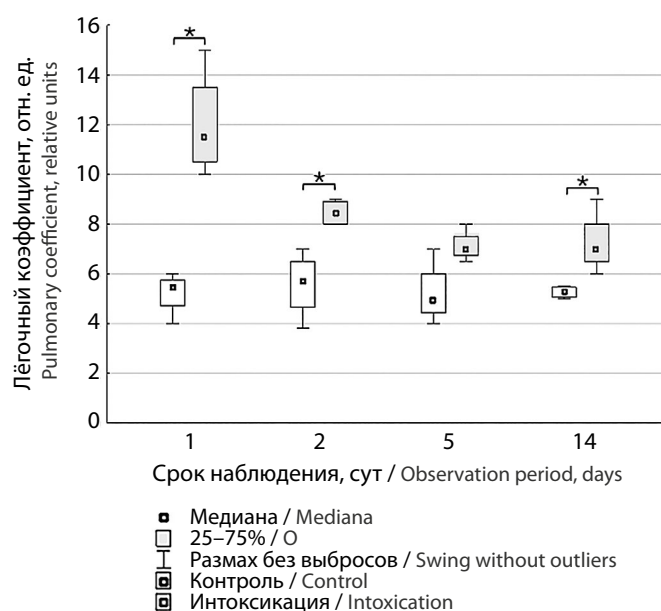


Рис. 6. Изменение лёгочного коэффициента у крыс в различные сроки после внутрижелудочного введения бензина в дозе ЛД₅₀ отн. ед., (Me [Q₂₅; Q₇₅]).

* – различия значимы по сравнению с контрольной группой, $p < 0,05$; в каждой группе $n = 6$.

Fig. 6. Changes in the pulmonary coefficient of rats at various times after intragastric administration of gasoline at a dose of LD₅₀ rel. units, (Me [Q₂₅; Q₇₅]).

* – the differences are significant compared to the control group, $p < 0,05$; in each group $n = 6$.

вотных — сливные очаги тёмно-серого цвета, занимающие до половины объёма лёгких.

К 5-м суткам после воздействия поверхность лёгких была бугристой за счёт чередования зон консолидации (коричнево-серые участки) и эмфизематозного вздутия по периферии долей. Паренхима утрачивала эластичность, на разрезе визуализировали некротические очаги диаметром до 12 мм.

К 14-м суткам после воздействия рентгенологическая картина у выживших животных демонстрировала восстановление прозрачности лёгочных полей и отсутствие инфильтративных изменений, что соответствовало данным контрольной группы. Однако при проведении макроскопического исследования были выявлены плотные тёмно-коричневые сливные зоны в прикорневых отделах, окружённые участками ателектазов.

При гистологическом исследовании лёгких, на 1-е и 2-е сутки после воздействия, выявили картину субтотального интерстициального отёка с выраженной клеточной реакцией. Просветы ацинусов были заполнены мелкозернистым эозинофильным экссудатом, содержащим эритроциты, полиморфноядерные лейкоциты и эозинофилы. Коллагеновые волокна соединительной ткани характеризовались набуханием и фрагментацией. Наблюдался участки дисателектазов, характеризующиеся чередованием спавшихся альвеол и эмфизематозно расширенных зон лёгочной паренхимы. В паренхиме визуализировали поля относительно сохранных ацинусов, перемежающиеся с участками деструкции альвеолоцитов, где клетки с мембранными дефектами формировали эозинофильную зернистую массу детрита. Межалвеолярные перегородки имели разрывы по типу «птичьих шпор», а в просвете сосудов отмечали агрегацию эритроцитов в виде «монетных столбиков» (рис. 7, а, б, см. на вклейке).

На 5-е сутки после воздействия в просвете бронхов и многих альвеолярных полостях обнаружили гнойный экссудат, нейтрофильную инфильтрацию межалвеолярных перегородок. В бронхах выявляли разрыхление, дезорганизацию, очаговую десквамацию и секвестрацию эпителия, что приводило к формированию гнойных масс, перекрывающих просвет альвеол и бронхиального дерева. По площади поражения лёгочной ткани изменения варьировали от очаговых до субтотальных. В долях с гнойно-некротическим пневмонитом перегородочные капилляры были сдавлены альвеолярным содержимым. В просветах сосудов мышечного типа идентифицированы тромбоцитарно-эритроцитарные тромбы, в центре которых визуализировали

лизируют лизированные эритроциты с нечёткими контурами, что указывает на деградацию клеточных мембран. Реологические изменения крови были выражены в её делении в просвете сосудов на форменные элементы и плазму. Местами встречали многочисленные диапедезные экстрavasаты. В сравнении с гистологическими препаратами лёгких, полученных на 1-е сутки после воздействия, выявленная эмфизема носила уже характер распространённого пневматоцеле. Выявили гранулематозную реакцию на липиды, окружённую соединительной тканью, фибробластами и лимфоцитами, образующими лимфатические фолликулы и пенистые макрофаги, заполненные оптически прозрачными везикулами (рис. 8, а, б, см. на вклейке).

На гистологических препаратах животных группы с интоксикацией, полученных на 14-е сутки после воздействия, наблюдали умеренно выраженную инфильтрацию альвеол полиморфноядерными лейкоцитами с небольшим количеством эозинофилов, макрофагов и лимфоидных клеток. При этом в некоторых участках повреждённых долей лёгких встречали умеренно выраженные гиалиновые мембраны.

Обсуждение

В выполненном экспериментальном исследовании определили основные токсикометрические параметры бензина при его однократном внутрижелудочном введении крысам.

Моделирование интоксикации крыс бензином (ЛД₅₀) позволило установить, что летальные исходы формируются в раннем постинтоксикационном периоде (первые два часа после воздействия) и в течение пяти суток после воздействия. Летальные исходы в раннем постинтоксикационном периоде были связаны с непосредственным нейротоксическим действием бензина, приводящим к центральному угнетению дыхания и кровообращения [12–15]. Летальные исходы, сформировавшиеся в течение пяти суток после воздействия, происходили на фоне прогрессирующей дыхательной недостаточности.

Известно, что бензин экскретируется с выдыхаемым воздухом, оказывая повреждающее действие на компоненты аэрогематического барьера, за счёт непосредственного повреждения липидов, активации каскада воспалительных реакций, генерации свободных радикалов и разрушения слоя сурфактанта [16–18]. Нарушение целостности аэрогематического барьера приводит к увеличению его проницаемости и накоплению внесосудистой жидкости в тканях лёгких [19]. Так,

уже через сутки после воздействия определили значимое увеличение лёгочного коэффициента, сопровождающееся появлением гистологических и рентгенологических признаков повреждения лёгких. Выявленные изменения сохранялись на 2-е и 5-е сутки после воздействия, в эти же сроки происходили летальные исходы животных, обусловленные дыхательной недостаточностью, вызванной нарушением структуры паренхимы лёгких. Снижение лёгочного коэффициента по сравнению со значениями, полученными на 1-е сутки после воздействия, может быть связано с компенсаторными механизмами, направленными на резорбцию отёчной жидкости через лимфатическую систему [20].

У выживших животных на 14-е сутки после воздействия лёгочный коэффициент оставался повышенным, определялись признаки повреждения при гистологическом исследовании. Тем не менее при проведении рентгенологического исследования никаких изменений не выявили. Таким образом, рентгенологическое исследование органов грудной клетки не в полной мере отражает состояние тканей лёгких в отсроченном постинтоксикационном периоде.

Выявленные изменения в тканях лёгких крыс после воздействия бензина (ЛД₅₀) характерны для такой формы патологии, как химический пневмонит [1, 2, 12, 21]. С учётом того, что у крыс отсутствует рвотный рефлекс [16], выявленные изменения тканей лёгких связаны с ингаляционным повреждением, по причине экскреции бензина с выдыхаемым воздухом [19, 22, 23]. Тяжесть состояния животных была обусловлена дыхательной гипоксией из-за нарушения газообмена в лёгких.

Ограничения исследования обусловлены его методологией. При выполнении исследования не определяли содержание бензина в крови животных.

Заключение

В проведённом исследовании разработана воспроизводимая экспериментальная модель химического пневмонита у крыс, вызванного внутрижелудочным введением бензина в дозе, соответствующей средней летальной, что подтверждено комплексом рентгенологических, гистологических и морфологических методов исследований. Данная модель может быть использована для оценки эффективности средств ранней патогенетической терапии отравлений моторными топливами.

ЛИТЕРАТУРА

(п.п. 2, 10, 11, 18, 19, 22, 23, 25 см. References)

1. Лодягин А.Н., Синенченко А.Г., Шиллов В.В., Батоцыренов Б.В., Синенченко Г.И. Структура острых химических отравлений в период пандемии COVID-19. *Токсикологический вестник*. 2022; 30(1): 4–11. <https://doi.org/10.47470/0869-7922-2022-30-1-4-11> <https://elibrary.ru/tlolgz>
3. Симутис И.С., Бояринов Г.А., Юрьев М.Ю., Петровский Д.С., Коваленко А.Л., Парфенов С.А. Возможности коррекции гипервоспаления при COVID-19. *Антибиотики и химиотерапия*. 2021; 66(3-4): 40–8. <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2021-66-3-4-40-48> <https://elibrary.ru/nmxgts>
4. Парфенов С.А., Боровков Е.Ю., Шагвалиев А.Г., Тучин И.А., Белов В.Г., Парфенов Ю.А. Современные направления профилактики внебольничной пневмонии у военнослужащих, проходящих военную службу по призыву. *Антибиотики и химиотерапия*. 2018; 63(1-2): 38–43. <https://elibrary.ru/xtgenn>
5. Ильинский Н.С., Парфенов С.А., Харитонов Т.В., Парфенов Ю.А. Влияние цитофлавина на восстановление когнитивных функций у страдающих алкоголизмом пожилых лиц. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2016; 116(11-2): 49–53. <https://doi.org/10.17116/jnevro201611611249-53> <https://elibrary.ru/yfsrpp>
6. Сагадуллина М.Р., Файсханов И.Р., Зарипова Л.И., Шамсутдинова Н.Г., Дьякова Е.В., Низамова С.Р. Клинические проявления поражения легких при интоксикации нефтепродуктами (бензином). *Практическая медицина*. 2022; 20(6): 113–8.
7. Лопатко В.С. Предикторы развития токсического отека легких у лабораторных животных при интоксикации веществами пульмонотоксического действия. *Известия Российской военно-медицинской академии*. 2020; 39(1): 53–9. <https://elibrary.ru/kqfndh>
8. Крюков Е.В., Тришкин Д.В., Агафонов П.В. *Военно-полевая терапия: национальное руководство*. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2023.
9. Симутис И.С., Бояринов Г.А., Юрьев М.Ю., Петровский Д.С., Коваленко А.Л., Сапожников К.В. Новый взгляд на коррекцию COVID-19-опосредованных нарушений лёгочного газообмена. *Казанский медицинский журнал*. 2021; 102(3): 362–72. <https://doi.org/10.17816/KMJ2021-362> <https://elibrary.ru/txubbb>
12. Андрос Н.О., Гунько М.В., Кононенко К.Н. Влияние стерилизации и кастрации на поведенческие реакции при совместном содержании декоративных крыс. *Ветеринария Северного Кавказа*. 2022; (4): 10–7. https://doi.org/10.56660/77368_2022_4_15 <https://elibrary.ru/tldxifd>
13. Симутис И.С., Бояринов Г.А., Юрьев М.Ю., Петровский Д.С., Коваленко А.Л., Сапожников К.В. Первый опыт применения меглюмина натрия сукцината в коррекции COVID-19-ассоциированной коагулопатии. *Общая реаниматология*. 2021; 17(3): 50–64. <https://doi.org/10.15360/1813-9779-2021-3-50-64> <https://elibrary.ru/ajbrby>
14. Ершова Г.В., Парфенов Ю.А., Сапожников К.В. Судебно-медицинская экспертиза оценки тяжести вреда здоровью в современном уголовном судопроизводстве. *Российский следователь*. 2019; (11): 26–30. <https://elibrary.ru/fkcoops>
15. Марченко Б.И., Дерябкина Л.А., Нестерова О.А., Тарасенко К.С. Острые отравления химической этиологии в промышленном городе. *Здоровье населения и среда обитания – 3НУСО*. 2023; 31(11): 33–41. <https://doi.org/10.35627/2219-5238/2023-31-11-33-41> <https://elibrary.ru/bclkaaj>
16. Оруджев Р.А., Джафарова Р.Э. Особенности токсического действия углеводородов нефти на организм человека. *Вестник Витебского государственного медицинского университета*. 2017; 16(4): 8–15. <https://doi.org/10.22263/2312-4156.2017.4.8> <https://elibrary.ru/zdjrev>
17. Ивашкин В.Т., Алексеев В.Г., Козловский И.А., Синопальников А.И., Абросимов А.В., Молодчина А.И. Поражения бронхолегочной системы при отравлении бензином. *Пульмонология*. 1992; (4): 76–80.
20. Коржевский Д.Э., Гилерович Е.Г., Кирик О.В., Сухорукова Е.Г. *Морфологическая диагностика*. СПб.: СпецЛит; 2013.
21. Коваленко А.Л., Суходолова Г.Н., Страхов С.И., Ковальчук А.С., Скрылева Л.П., Долгинов Д.М. Острые отравления нефтепродуктами в детском возрасте. *Московская медицина*. 2016; (51): 127. <https://elibrary.ru/rfslsz>
24. Торкунов П.А., Шабанов П.Д. Токсический отек легких: патогенез, моделирование, методология изучения. *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии*. 2008; 6(2): 3–54. <https://elibrary.ru/jqqbzr>

REFERENCES

1. Lodyagin A.N., Sinenchenko A.G., Shilov V.V., Batotsyrenov B.V., Sinenchenko G.I. Structure of acute chemical poisonings during COVID-19 pandemic (according to a multidisciplinary hospital). *Toxicological vestnik*. 2022; 30(1): 4–11. <https://doi.org/10.47470/0869-7922-2022-30-1-4-11> <https://elibrary.ru/tlolgz> (in Russian)
2. Harper C., Liccione J.J. *Toxicological Profile for Gasoline*. Atlanta; 1995.
3. Simutis I.S., Boyarinov G.A., Yuriev M.Yu., Petrovsky D.S., Kovalenko A.L., Parfenov S.A. Possibilities of hyperinflammation correction in COVID-19. *Antibiotiki i khimioterapiya*. 2021; 66(3-4): 40–8. <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2021-66-3-4-40-48> <https://elibrary.ru/nmxgts> (in Russian)
4. Parfenov S.A., Borovkov E.Yu., Shagvaliev A.G., Tuchin I.A., Belov V.G., Parfenov Yu.A. Modern directions of prophylaxis of community-acquired pneumonia among soldiers undergoing military service on conscription. *Antibiotiki i khimioterapiya*. 2018; 63(1-2): 38–43. <https://elibrary.ru/xtgenn>
5. Ilyinsky N.S., Parfenov S.A., Haritonova T.V., Parfenov Yu.A. The influence of cytoflavin on the recovery of cognitive function in elderly people with alcohol abuse. *Zhurnal nevrologii i psikiatrii im. S.S. Korsakova*. 2016; 116(11-2): 49–53. <https://doi.org/10.17116/jnevro201611611249-53> <https://elibrary.ru/yfsrpp> (in Russian)

6. Sagadullina M.R., Fayskhanov I.R., Zaripova L.I., Shamsutdinova N.G., Dyakova E.V., Nizamova S.R. Clinical manifestations of lung damage in petroleum products (gasoline) intoxication. *Prakticheskaya meditsina*. 2022; 20(6): 113–8. (in Russian)
7. Lopatko V.S. Predictors of the development of toxic pulmonary edema in laboratory animals during intoxication by pulmonotoxic substances. *Izvestiya Rossiiskoi voenno-meditsinskoi akademii*. 2020; 39(1): 53–9. <https://elibrary.ru/kqfndh> (in Russian)
8. Kryukov E.V., Trishkin D.V., Agafonov P.V. *Military Field Therapy: National Guidelines*. Moscow: GEOTAR-Media; 2023. (in Russian)
9. Simutis I.S., Boyarinov G.A., Yuriev M.Yu., Petrovsky D.S., Kovalenko A.L., Sapozhnikov K.V. A new look at the correction of COVID-19-mediated pulmonary gas exchange disorders. *Kazanskii meditsinskii zhurnal*. 2021; 102(3): 362–72. <https://doi.org/10.17816/KMJ2021-362> <https://elibrary.ru/txubbq> (in Russian)
10. Horn C.C., Kimball B.A., Wang H., Kaus J., Diemel S., Nagy A., et al. Why can't rodents vomit? A comparative behavioral, anatomical, and physiological study. *PLoS One*. 2013; 8(4): e60537. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0060537>
11. Andrews P.L., Davis C.J., Bingham S., Davidson H.L., Hawthorn J., Maskell L. The abdominal visceral innervation and the emetic reflex: pathways, pharmacology, and plasticity. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 1990; 68(2): 325–45. <https://doi.org/10.1139/y90-047>
12. Andros N.O., Gunko M.V., Kononenko K.N. The effect of sterilization and castration on behavioral reactions in the joint maintenance of decorative rats. *Veterinariya Severnogo Kavkaza*. 2022; (4): 10–7. https://doi.org/10.56660/77368_2022_4_15 <https://elibrary.ru/tdxifd> (in Russian)
13. Simutis I.S., Boyarinov G.A., Yuriev M.Yu., Petrovsky D.S., Kovalenko A.L., Sapozhnikov K.V. Meglumine sodium succinate to correct COVID-19-associated coagulopathy: the feasibility study. *Obshchaya reanimatologiya*. 2021; 17(3): 50–64. <https://doi.org/10.15360/1813-9779-2021-3-50-64> <https://elibrary.ru/ajbrby> (in Russian)
14. Ershova G.V., Parfenov Yu.A., Sapozhnikov K.V. Forensic medical assessment of the severity of harm to health in modern criminal proceedings. *Rossiiskii sledovatel*. 2019; (11): 26–30. <https://elibrary.ru/fkcofs> (in Russian)
15. Marchenko B.I., Deryabkina L.A., Nesterova O.A., Tarasenko K.S. Acute chemical poisoning in an industrial city: current situation, dynamics and forecast. *Zdorov'e naseleniya i sreda obitaniya – ZNISO*. 2023; 31(11): 33–41. <https://doi.org/10.35627/2219-5238/2023-31-11-33-41> <https://elibrary.ru/bclckaj> (in Russian)
16. Orujov R.A., Jafarova R.E. The peculiarities of the toxic effect of petroleum hydrocarbons on the human organism. *Vestnik Vitebskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta*. 2017; 16(4): 8–15. <https://doi.org/10.22263/2312-4156.2017.4.8> <https://elibrary.ru/zdjrev> (in Russian)
17. Ivashkin V.T., Alekseev V.G., Kozlovsky I.A., Sinopalnikov A.I., Abrosimov A.V., Molodchina A.I. Broncho-pulmonary system injuries during intoxication with benzene. *Pul'monologiya*. 1992; (4): 76–80. (in Russian)
18. Burns M.J., Dickson E.W., Sivilotti M.L., Hocker M., Porcaro W.A. Enhanced mortality from per fluorocarbon administration in a rat model of kerosene aspiration. *J. Toxicol. Clin. Toxicol.* 1999; 37(7): 855–9. <https://doi.org/10.1081/clt-100102465>
19. Gurujeyalashmi G., Hollinger M.A. Pulmonary toxicity of hydrocarbon fuels and related solvents. *Drug Chem. Toxicol.* 1996; 19(4): 339–57.
20. Korzhnevskii D.E., Gilerovich E.G., Kirik O.V., Sukhorukova E.G. *Morphological Diagnostics (Morfologicheskaya diagnostika)*. St. Petersburg: SpetsLit; 2013. (in Russian)
21. Kovalenko L.A., Sukhodolova G.N., Strakhov S.I., Kovalchuk A.S., Skryleva L.P., Dolginov D.M. Acute poisoning with petroleum products in childhood. *Moskovskaya meditsina*. 2016; (51): 127. <https://elibrary.ru/rslsz> (in Russian)
22. Wiehle R.D., Richardson M., Besch N., Besch P., Kirshon B., Reiter A., et al. Marker proteins in the particulate fraction of third-trimester amniotic fluid. *Exp. Lung Res.* 1995; 21(1): 17–39. <https://doi.org/10.3109/01902149509031742>
23. Kunimasa K., Arita M., Tachibana H., Tsubouchi K., Konishi S., Korogi Y., et al. Chemical pneumonitis and acute lung injury caused by inhalation of nickel fumes. *Intern. Med.* 2011; 50(18): 2035–8. <https://doi.org/10.2169/internalmedicine.50.5557>
24. Torkunov P.A., Shabanov P.D. Toxicpulmonaryedema: pathogenesis, modeling, research methodology. *Obzory po klinicheskoi farmakologii i lekarstvennoi terapii*. 2008; 6(2): 3–54. <https://elibrary.ru/jqqbrz> (in Russian)
25. O'Callaghan J.P., Daughtrey W.C., Clark C.R., Schreiner C.A., White R. Health assessment of gasoline and fuel oxygenate vapors: neurotoxicity evaluation. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 2014; 70(2 Suppl.): S35–42. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2014.05.002>

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Смирнов Антон Николаевич – адъюнкт ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия» Министерства обороны Российской Федерации» Министерства обороны России, 194044, г. Санкт-Петербург, Россия. E-mail: sandstorm9@mail.ru

Бугорский Иван Борисович – адъюнкт ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия» Министерства обороны Российской Федерации» Министерства обороны России, 194044, г. Санкт-Петербург, Россия. E-mail: Bugor-89@yandex.ru

Блинов Андрей Константинович – курсант 5 курса ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия» Министерства обороны Российской Федерации» Министерства обороны России, 194044, г. Санкт-Петербург, Россия. E-mail: sandstorm9@mail.ru

Смирнова Алена Евгеньевна – клинический ординатор ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия» Министерства обороны Российской Федерации» Министерства обороны России, 194044, г. Санкт-Петербург, Россия. E-mail: al.trofimova@mail.ru

Кузьмич Владимир Геннадьевич – кандидат медицинских наук, доцент кафедры военно-полевой терапии ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия» Министерства обороны Российской Федерации» Министерства обороны России, 194044, г. Санкт-Петербург, Россия. E-mail: q-zmich1978@mail.ru

Толкач Павел Геннадьевич – кандидат медицинских наук, заместитель начальника кафедры военной токсикологии и медицинской защиты ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия» Министерства обороны Российской Федерации» Министерства обороны России, 194044, г. Санкт-Петербург, Россия. E-mail: pusher6@yandex.ru

Язенок Аркадий Витальевич – доктор медицинских наук, профессор, начальник кафедры военно-полевой терапии ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия» Министерства обороны Российской Федерации» Министерства обороны России, 194044, г. Санкт-Петербург, Россия. E-mail: arkyazенок@yandex.ru

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Anton N. Smirnov – Adjunct at the S.M. Kirov Military Medical Academy of the Ministry of Defense of the Russian Federation, St. Petersburg, 194044, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0001-7596-6772> E-mail: sandstorm9@mail.ru

Ivan B. Bugorskiy – Adjunct at the S.M. Kirov Military Medical Academy of the Ministry of Defense of the Russian Federation, St. Petersburg, 194044, Russian Federation, <https://orcid.org/0009-0009-0149-2733> E-mail: Bugor-89@yandex.ru

Andrey K. Blinov – 5th-year Cadet at the S.M. Kirov Military Medical Academy of the Ministry of Defense of the Russian Federation, St. Petersburg, 194044, Russian Federation, <https://orcid.org/0009-0006-2142-8040> E-mail: sandstorm9@mail.ru

Alena E. Smirnova – Clinical Resident at the S.M. Kirov Military Medical Academy of the Ministry of Defense of the Russian Federation, 194044, St. Petersburg, Russian Federation, <https://orcid.org/0009-0003-1683-275X> E-mail: al.trofimova@mail.ru

Vladimir G. Kuzmich – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor of the Department of Military Field Therapy, S. M. Kirov Military Medical Academy of the Ministry of Defense of the Russian Federation, St. Petersburg, 194044, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0001-7754-3634> E-mail: q-zmich1978@mail.ru

Pavel G. Tolkach – Candidate of Medical Sciences, Deputy Head of the Department of Military Toxicology and Medical Protection, S.M. Kirov Military Medical Academy of the Ministry of Defense of the Russian Federation, St. Petersburg, 194044, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0001-5013-2923> E-mail: pusher6@yandex.ru

Arkadiy V. Yazenok – Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Military Field Therapy, S. M. Kirov Military Medical Academy of the Ministry of Defense of the Russian Federation, St. Petersburg, 194044, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0002-1334-8191> E-mail: arkyazенок@yandex.ru

*К статье А.Н. Смирнова и соавт.
To the article by Anton N. Smirnov et al.*

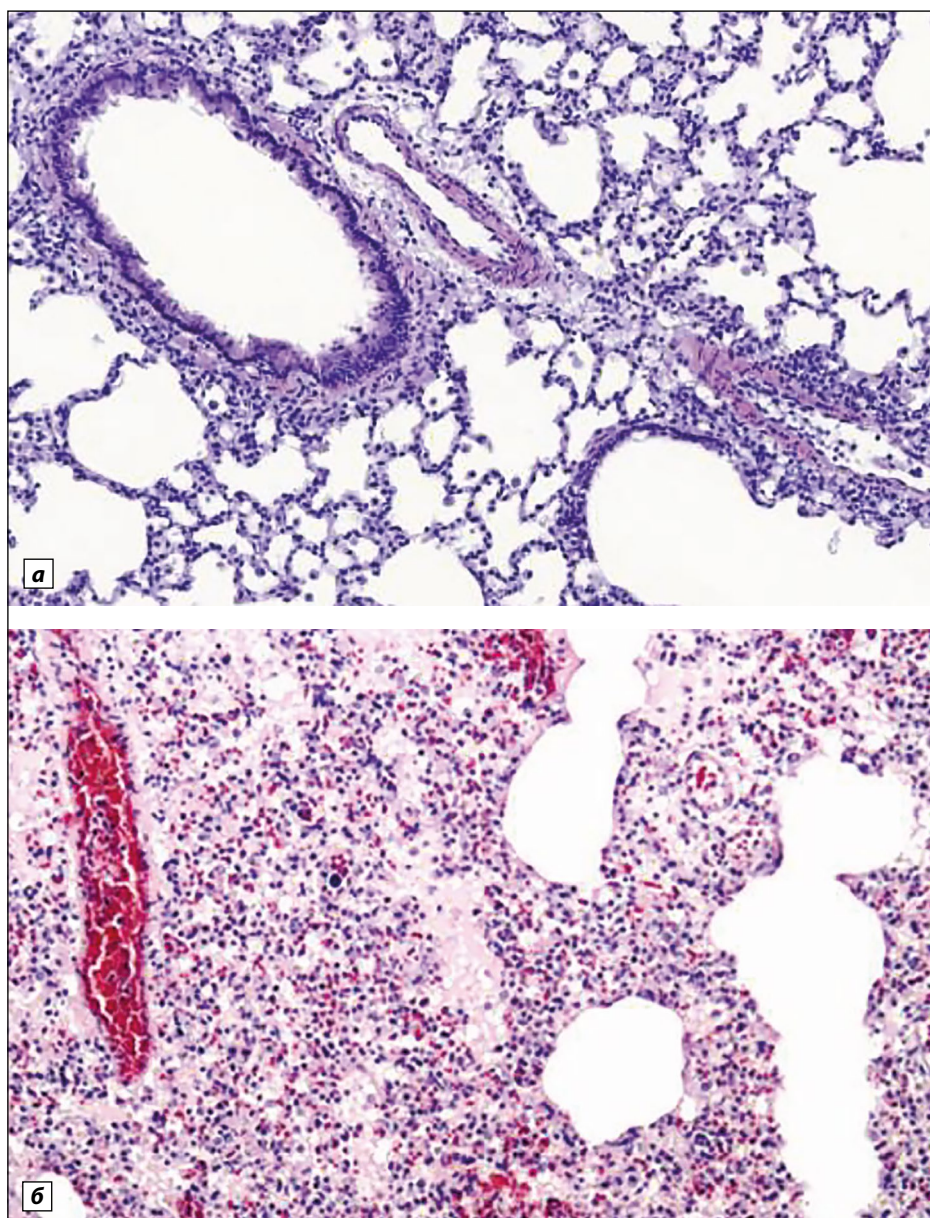


Рис. 7. Микропрепараты тканей лёгких животных контрольной группы (а) и группы с интоксикацией (б), полученные на 1-е сутки после внутрижелудочного введения бензина (ЛД₅₀). Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение объектива ×20.

Fig. 7. Micro-preparations of lung tissues of animals of the control group (a) and the group with intoxication (b), obtained on the 1st day after intragastric administration of gasoline (LD₅₀). Staining: hematoxylin and eosin. Magnification: ×20.

*К статье А.Н. Смирнова и соавт.
To the article by Anton N. Smirnov et al.*

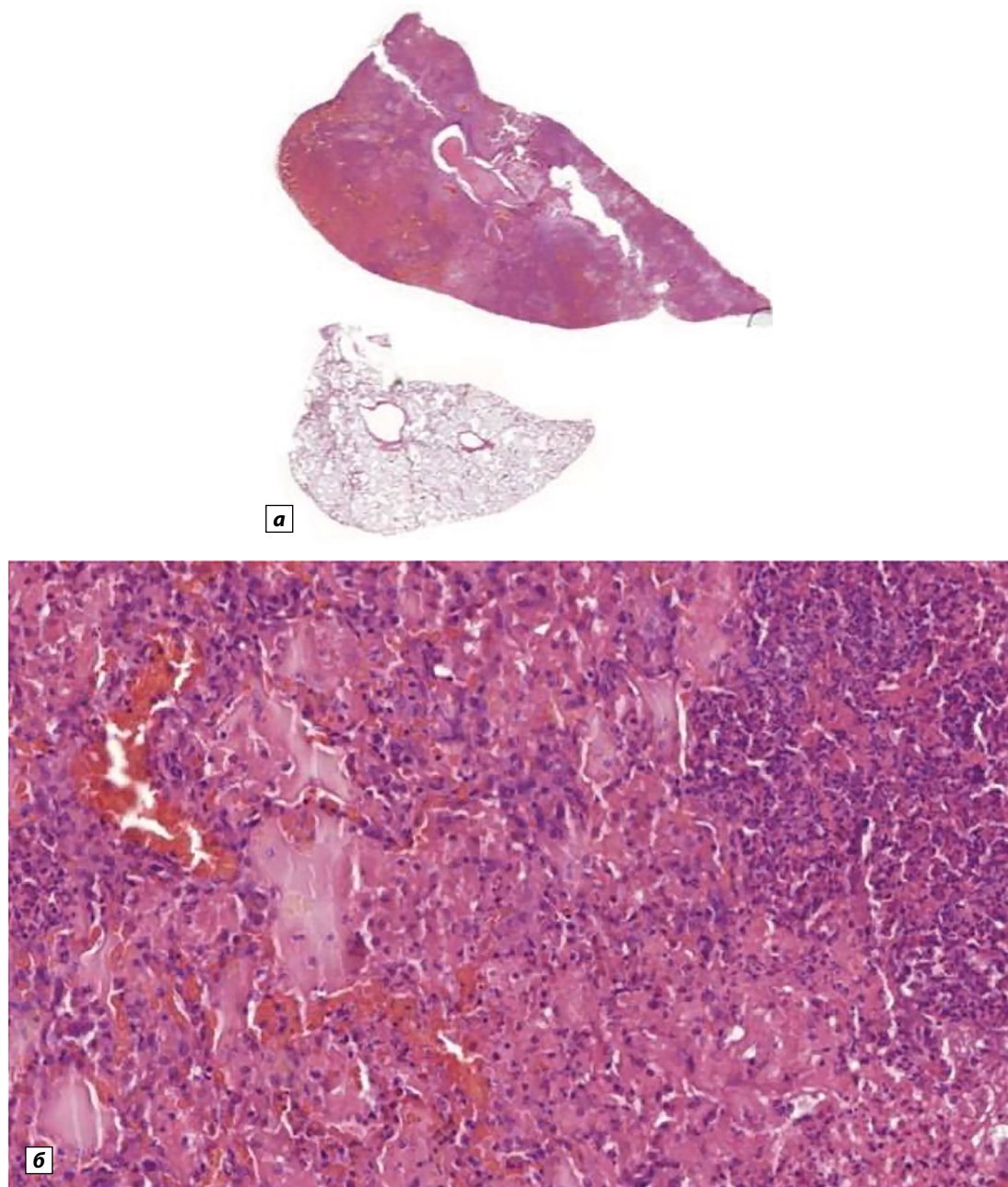


Рис. 8. Микропрепарат тканей лёгких животных группы с интоксикацией на 5-е сутки после внутрижелудочного введения бензина (ЛД₅₀): а (сверху) – увеличение объектива ×8; а (снизу) – увеличение объектива ×10; б – увеличение объектива ×20. Окраска гематоксилином и эозином.

Fig. 8. Micro-preparation of lung tissues of animals of the group with intoxication on the 5th day after intragastric administration of gasoline (LD₅₀): а (top) – magnification ×8; а (bottom) – magnification ×10; б – magnification ×20. Hematoxylin and eosin staining.