



На правах рукописи

МАТВЕЕВА ЕЛЕНА ЛАВРЕНТЬЕВНА

**МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ ЛЕЧЕБНЫХ
И ПРОФИЛАКТИЧЕСКИХ СРЕДСТВ ПРИ ОТРАВЛЕНИИ
ЖИВОТНЫХ ДИОКСИНОМ, СОЧЕТАННОМ ВОЗДЕЙСТВИИ Т-2
ТОКСИНА И АФЛАТОКСИНА В₁**

16.00.04 – ветеринарная фармакология с токсикологией

16.00.02 – патология, онкология и морфология животных

Матвеева

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени

доктора биологических наук

Казань 2007

Работа выполнена в ФГУ «Федеральный центр токсикологической и радиационной безопасности животных» (ФГУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» (г. Казань))

Научный консультант: доктор биологических наук, профессор
Тремасов Михаил Яковлевич

Официальные оппоненты: – доктор биологических наук, профессор
Конюхов Геннадий Владимирович
– доктор биологических наук, профессор
Великанов Валериан Иванович
– доктор ветеринарных наук, профессор
Ежкова Маргарита Степановна

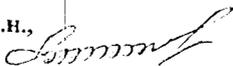
Ведущая организация: Всероссийский научно-исследовательский институт ветеринарной санитарии, гигиены и экологии РАСХН (г. Москва)

Защита состоится « 24 » мая 2007 г. в « 10 » часов на заседании диссертационного совета Д-220.012.01 при ФГУ «Федеральный центр токсикологической и радиационной безопасности животных» по адресу: 420075, Казань, Научный городок, тел. 239-53-20

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГУ «Федеральный центр токсикологической и радиационной безопасности животных».

Автореферат разослан « 3 » апреля 2007 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета, к.в.н.,
ст. научный сотрудник



Степанов В.И.

1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. В современных условиях производства происходит интенсивное нарастание техногенной нагрузки на экосистему. Из большого разнообразия химических веществ приоритетными загрязнителями окружающей среды являются такие органические соединения, как полихлорированные дибензо-пара-диоксины (ПХДД) и микотоксины - вторичные метаболиты микроскопических грибов (Таланов Г.А., Тутельян В. А., Кравченко Л.В., 1985; Федоров Л. А., 1993; Куценко В. В. и др., 1997; Курляндский Б. А., Новиков С. А., 1998; Смирнов А.М. и др., 1999; Кузнецов А.Ф., 2001; Желтов В.А., 2005; Новиков В.А., 2006). Бесспорно доказана их реальная опасность для человека и животных, они чрезвычайно широко распространены в природе и наносят значительный ущерб экономике страны, входят в список опасных природных экотоксикантов (Саркисов А.Х., 1985; Смирнов А.М., 1999; Кузнецов А.Ф., 2001).

Попадая в организм животных по трофическим цепям токсиканты вызывают патологические изменения в организме животных, приводят к нарушению метаболизма, иммунологического статуса, что является причиной низкой продуктивности и повышенной чувствительности животных к инфекционным и незаразным заболеваниям.

Под термином «диоксин» подразумевают десятки семейств, включающих трициклические кислородосодержащие ксенобиотики и бифинилы, не содержащие атомы кислорода. Это 75 полихлорированных дибензодиоксинов, 135 полихлорированных дибензофуранов, 210 веществ из броморганических семейств и несколько тысяч смешанных хлорбромсодержащих соединений. Отличительной чертой этих соединений является чрезвычайно высокая устойчивость к химическому и биологическому разложению, способность сохраняться в окружающей среде, концентрироваться в биомассе и переноситься по пищевым цепям. Эти

вещества являются супертоксикантами, универсальными клеточными ядами, поражающими все живое.

В настоящее время известно более 250 видов микроскопических грибов, продуцирующих около 300 микотоксинов. Многие микотоксины обладают тератогенными, мутагенными, аллергенными и иммунодепрессивными свойствами. Из наиболее известных в настоящее время микроскопических грибов, интерес представляют грибы рода *Fusarium* и *Aspergillus*, в частности *F. sporotrichiella* и *A. flavus*, *A. parasiticus*, которые продуцируют опасные для человека и животных микотоксины: Т-2 токсин, афлатоксины В₁, В₂, G₁, G₂, М₁.

Имеются данные об увеличении токсического действия при одновременном поступлении в организм нескольких и разных экотоксикантов, сопровождающихся массовой заболеваемостью, повышенным отходом животных, сложностью диагностики, лечения и профилактики в условиях сельскохозяйственных предприятий (Тремасов М.Я., Сметов П.К., 1995; Тремасов М.Я. и др., 2000; Мусин Р.Р., 2002; Семенов Э.И., 2006).

Специфических средств лечения при отравлении ксенобиотиками нет, поэтому назначают в основном симптоматическую терапию в зависимости от синдрома интоксикации. Однако симптоматическое лечение малоэффективно. Поиск эффективных средств защиты животных от воздействия экотоксикантов постоянно продолжается.

Исходя из вышесказанного, изучение влияния диоксина и сочетанного поступления Т-2 токсина и афлатоксина В₁ на организм животных, морфологическое обоснование применения лечебных и профилактических средств при отравлении данными ксенобиотиками является актуальной задачей.

Цель и задачи исследований. Целью работы являлось изучение влияния диоксинов на содержание порфиринов в моче и смешанных микотоксикозов (Т-2 токсин и афлатоксин В₁) на состояние перекисного

окисления липидов (ПОЛ) животных, а также комплексный морфологический анализ изменений в органах и тканях животных с последующим обоснованием использования лечебных и профилактических средств при отравлении ксенобиотиками. Для реализации поставленной цели были определены следующие основные задачи:

- изучить вопросы патогенеза отравлений животных при острой и хронической интоксикации диоксином;
- изучить гистологические и ультраструктурные изменения в органах подопытных животных при однократном и многократном поступлении диоксина;
- определить критерии ультраструктурного проявления при интоксикации животных пороговой дозой диоксина;
- провести морфологическую оценку лечебно-профилактических препаратов при диоксиновых интоксикациях;
- изучить влияние Т-2 токсина и афлатоксина В₁ при сочетанном их воздействии на организм животных;
- морфологически обосновать действие лечебных и профилактических препаратов при смешанных микотоксикозах.

Научная новизна. Впервые проведен ультраструктурный анализ изменений внутренних органов животных при хроническом отравлении диоксином в разных дозах, а также сочетанном воздействии Т-2 токсина и афлатоксина В₁. Установлено характерное для отравления диоксином дозозависимое нарастание энергетического дефицита клетки, вызванное деструкцией мембранных структур, матрикса митохондрий при отсутствии клинических и морфологических признаков (1/400 ЛД₅₀), что учтено при обосновании предельно допустимых концентраций (ПДК) яда в кормах для сельскохозяйственных животных, диагностике и разработке лечебно-профилактических средств. Выявлено нарушение структурированности крист при сохранении целостности наружной мембраны митохондрий, что предложено в качестве диагностического критерия при интоксикации

животных диоксином. Биохимическими и патоморфологическими исследованиями доказано синергетическое действие Т-2 токсина и афлатоксина В₁ при их сочетанном поступлении в организм животных. Морфологически обосновано использование лечебных и профилактических препаратов при отравлении животных диоксином, а также сочетанным поступлением Т-2 токсина и афлатоксина В₁. Впервые установлены фунгицидные и фунгистатические свойства производных трехядерных трифенолов, рекомендуемых для проведения профилактических мероприятий при микотоксикозах. Новизна проведенных исследований по изучению обеззараживающей эффективности четвертичных аммониевых соединений подтверждена 3 патентами.

Практическая значимость работы. Для дифференциальной диагностики при отравлении животных диоксином рекомендуем использовать в комплексе с клиническими, биохимическими, физико-химическими и другими методами электронно-микроскопические исследования, особенно на ранних стадиях интоксикации. В качестве лечебно-профилактического средства при острой и хронической интоксикации животных диоксином рекомендуем препарат димефосфон, при сочетанном поступлении Т-2 токсина и афлатоксина В₁ - аминазин и ксимедон .

На основании экспериментальных данных разработаны:

- «Рекомендации по диагностике, профилактике и лечению токсикозов животных, вызванных диоксинами»;
- «Временная инструкция по применению димефосфона и левамизола при отравлении животных диоксином»;
- «Рекомендации по борьбе со смешанными микотоксикозами животных в республике Татарстан»;
- «Методические рекомендации по экспериментальному обоснованию и расчету ПДК 2,3,7,8-ТХДД в объектах ветеринарного надзора», утвержденные в установленном порядке.

Апробация работы. Основные положения диссертационной работы доложены и обсуждены на: ежегодных сессиях ученого совета ФГУ «ФГНУ-ВНИВИ» по рассмотрению отчетов (1996-2006); Республиканских научно-производственных конференциях по проблемам ветеринарии и зоотехнии (Казань,1996,1997); Международной научно-практической конференции «Ветеринарные и зооинженерные проблемы животноводства» (Витебск, 1996); 4-ом Международном конгрессе Ассоциации морфологов (Н. Новгород,1997); Российской конференции по электронной микроскопии (Черноголовка,2000); Научно-производственной конференции (Уфа,2000); Международных научно-производственных конференциях (Казань,2003, 2004); Конгрессе по медицинской микологии (Москва,2005); Международном симпозиуме «Научные основы обеспечения защиты животных от экотоксикантов, радионуклидов и возбудителей опасных инфекционных заболеваний» (Казань,2005).

Публикации результатов исследований. По результатам выполненных исследований опубликовано 26 работ, в том числе 8 статей в центральных изданиях, рекомендованных ВАК РФ, в трудах Международных, Всероссийских, Республиканских конференций в Москве, Казани, Черноголовке, Витебске, Н. Новгороде, Уфе, Международных конгрессах Ассоциации морфологов и микологов, а также представлены в качестве 4 научно-методических документаций.

Основные положения, выносимые на защиту.

- структурные изменения внутренних органов и тканей при интоксикациях животных диоксином, а также при сочетанном воздействии Т-2 токсина и афлатоксина В₁;
- ультраструктурное обоснование пороговых доз диоксида на организм животных для расчета ПДК в кормах для сельскохозяйственных животных;
- морфологическое обоснование использования лечебно-профилактического препарата димефосфона при диоксиновых интоксикациях;

- морфологическое обоснование использования аминазина и ксимедона с целью снижения изменений в органах и тканях животных при сочетанном поступлении Т-2 токсина и афлатоксина В₁.

Объем и структура работы. Диссертационная работа изложена на 270 страницах компьютерной верстки, состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, результатов исследования и их обсуждения, заключения, выводов. Работа иллюстрирована 10 таблицами, 136 рисунками. Список использованной литературы включает 382 наименования, в том числе 214 - зарубежных авторов.

2. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Материал и методы

Работа выполнена в отделе токсикологии ФГУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» с 1996 по 2006 годы. Эксперименты выполнены на пяти видах животных (белые крысы, кролики, морские свинки, кошки, овцы). Животные для проведения эксперимента подбирались в группы по принципу аналогов с учетом породы, возраста, пола, массы тела и находились в одинаковых условиях кормления и содержания.

Для экспериментального исследования использовали 2,3,7,8-ТХДД, который задавали животным с кормом в виде масляного раствора в дозе ЛД₁₀₀, ЛД₅₀, 1/100, 1/200, 1/300, 1/400 ЛД₅₀ и кристаллический Т-2 токсин и афлатоксин В₁, синтезированные в лаборатории природных экотоксикантов ВНИВИ, отвечающие требованиям ГОСТ 10-07-301-86 в виде 5%-ного водно-спиртового раствора путем орального введения в дозе 1/10 ЛД₅₀.

В качестве лечебно-профилактических средств использовали димефосфон, левамизол, витамин Е при отравлении диоксином; аминазин и ксимедон – при сочетанном воздействии Т-2 токсина и афлатоксина В₁.

О степени интенсивности процесса перекисного окисления липидов судили по накоплению вторичных продуктов (ПОЛ) - малонового

дигидрида в реакции с 2-тиобарбитуровой кислотой (Гончаренко М.С. и Латинова А.М., 1985). Митохондрии выделяли из ткани печени по методу Евдотиенко Ю.В., Моховой Е.Н. (1967). Порфирины в моче определяли по Идельсону (1968).

Патологоанатомическое вскрытие подопытных животных проводили по общепринятой методике.

Патматериал фиксировали в 10%-ном нейтральном растворе формалина (Меркулов Г.А., 1969). Обезживание и заливку проводили по схеме Волковой-Елецкого (Саркисов Д.А., Перов Ю.Л., 1996). Срезы получали с парафиновых блоков на санном микротоме. Для изучения общей гистологической картины окраску срезов проводили гематоксилином и эозином.

Для изучения действия экотоксикантов на ультраструктуру клеток внутренних органов фиксацию материала проводили в 2-4%-ных растворах глутаральдегида в фосфатном буфере (рН 7,3-7,4), постфиксировали в 1%-ном растворе тетраоксида осмия. Обезживание и заливку в эпон исследуемого материала проводили по стандартным методикам (Уикли Б., 1975). Полимеризация проводилась в термостате при температурах 37°, 45°, 60° в течение трех суток. Поиск необходимого участка и отдельных клеток производили методом прицельного ультрамикроскопирования полутонких срезов, окрашенных метиленовым синим. Срезы для электронной микроскопии изготавливались на ультратоме LKB-111. Ультратонкие срезы контрастировали растворами уранилацетата и цитрата свинца по Рейнольдсу и просматривали в электронном микроскопе ПЭМ-100.

Оценку эмбриотропного действия экотоксикантов проводили согласно «Методическим указаниям по изучению эмбриотоксического действия фармакологических веществ и влияния их на репродуктивную функцию» (1986).

Изучение фунгицидных и фунгистатических свойств химических соединений проводили по общепринятым методикам (Ведьмина Е.А., Фурер Н.М., 1964; Першин Г.Н., 1973).

Для электронной микроскопии взвесь спор *A.niger* с концентрацией 200 тыс. микробных тел в 1 мл физиологического раствора смешивали с исследуемым раствором в соотношении 1:1. Экспозиция препарата спорами *Asp. niger* продолжалась от 5 до 120 минут. После окончания срока экспозиции проводили нейтрализацию препарата общепринятыми методами (Поляков А.А., 1975); материалы подвергались центрифугированию при 6000 об/мин в течение 30 минут. После чего надосадочную жидкость сливали, осадок подвергали промыванию физиологическим раствором с последующим повтором центрифугирования для удаления остаточного количества препарата. Для негативного контрастирования микроорганизмов использовали 2%-ный раствор фосфорно-вольфрамовой кислоты. Полученные препараты оценивали с использованием электронного микроскопа просвечивающего типа с минилинзами ПЭМ-100 при инструментальном увеличении 15-45 тыс.

Цифровой материал подвергался статистической обработке с вычислением критерия Стьюдента на персональном компьютере с использованием стандартной программы вариационной статистики Microsoft Excel.

На отдельных этапах работа проводилась совместно с доцентом В.В. Титовым, проф. Ю.А. Зимаковым, проф. В.А. Новиковым, проф. И.Н. Заляловым, н.с. Д.Х. Нигматовым, Э.А. Галиевым, Р.З. Гибадуллиным, А.А. Ивановым, А.И. Сергейчевым.

2.2. Результаты исследований

2.2.1. Изучение влияния диоксина при острой интоксикации на биохимические и патоморфологические показатели у животных

Для изучения влияния диоксина на организм животных при однократных интоксикациях было использовано 30 морских свинок, 96 белых крыс обоего пола массой 190-230г, 18 кроликов- самцов, живой массой 3-3,5 кг и 4 овцы. Животные были разделены на группы, отобранные по принципу аналогов. Первой группе, служившей контролем, в корм добавляли соответствующую дозу растительного масла, используемого в качестве растворителя диоксина. Животным второй группы однократно, внутри-желудочно вводили масляный раствор диоксина в дозах LD_{100} и LD_{50} .

2.2.1.1. Биохимические показатели. По литературным данным (Горденина Т.И.,1982; Ahlborg U.G. et al.,1987; Hakansson H. et al.,1987; Hakanson H. et al.,1987; Kocibi R.J.,1986) одним из наиболее постоянных положительных клинико-лабораторных тестов при отравлении диоксином является количественное изменение порфиринов в моче. Исходя из этих соображений были проведены исследования мочи на содержание уропорфирина и копропорфирина.

Мочу для исследований на содержание уропорфирина и копропорфирина забирали на 5-е, 10-е, 20-е, 25-е, 30-е, 35-е, 40-е и 45-е сутки опыта. Длительность эксперимента при отравлении диоксином в дозе LD_{100} составила 25 суток, в дозе LD_{50} – 45 суток.

Результаты исследования мочи при введении диоксина морским свинкам в абсолютно смертельной дозе показали статистически достоверное увеличение содержания уропорфирина на 5-е сутки эксперимента. В ходе дальнейших исследований происходило прогрессирующее статистически достоверное увеличение содержания уропорфирина в моче подопытных животных и к концу опыта превысило контрольный показатель в 8,5 раз.

В содержании копропорфирина в моче исследуемых животных также отмечалась статистически достоверная тенденция к увеличению с 5-х суток от момента введения диоксина, и это увеличение продолжалось вплоть до конца эксперимента, которое на 20-е сутки статистически достоверно превышало контрольное значение в 5 раз.

Интоксикация диоксином в дозе LD_{50} так же приводила к достоверному, прогрессирующему увеличению содержания уропорфирина и копропорфирина в моче подопытных животных, причем, увеличение содержания уропорфирина (в 7 раз у белых крыс, в 7,5 - у кроликов, в 8,5 - у овец) имело более выраженный характер, чем увеличение копропорфирина (в 5 раз у белых крыс, в 4,7 раза - у кроликов, в 5,4 раза - у овец) к концу эксперимента (на 45-е сутки).

2.2.1.2. Динамика клинико-морфологических изменений у животных при остром отравлении диоксином в дозах LD_{100} и LD_{50} . Выраженные клинические признаки отравления морских свинок диоксином в дозе LD_{100} наступали на 3-и сутки и проявлялись в виде серозных (у некоторых животных - гнойных) конъюнктивитов, ринитов. Общее угнетение сопровождалось скуденностью животных, снижением выраженности рефлексов на внешние раздражители (свет, звук и т.д.), моча приобретала оранжево-бурый цвет, отмечалось бледность видимых слизистых оболочек и прогрессирующее снижение массы тела, по сравнению с контрольными животными.

Макроскопические изменения у морских свинок характеризовались увеличением объема почек, сглаженностью границ коркового и мозгового веществ. Увеличенная в объеме печень с признаками венозного застоя выделялась неравномерной окраской паренхимы (от светло-коричневого до вишнево-красного цвета) и была дряблой. Округлой формы сердце характеризовалось неравномерной окраской миокарда, имевшего участки точечного и полосчатого кровоизлияния. Гипостатический отек легких сочетался очагами острого ателектаза. Вещество головного мозга было

отечным, а кровеносные сосуды умеренно кровенаполненными. У контрольных животных при вскрытии видимых изменений в органах и тканях обнаружено не было.

Вышеописанные клинические признаки при отравлении диоксином однократно в дозе LD_{50} у белых крыс наступали на 9-е сутки, у кроликов - на 10-е сутки и у овец – на 12-е сутки от момента введения диоксина.

Клинические признаки отравления белых крыс, затравленных диоксином однократно в дозе LD_{50} характеризовались угнетением, снижением двигательной активности, пугливостью, скученностью. Конъюнктивиты и риниты возникали на второй неделе опыта, сопровождавшиеся выделением катарального экссудата. На третьей неделе эксперимента было отмечено снижение массы тела, в среднем на 12%, а также взъерошенность волосяного покрова, сгорбленность, заострение морды. У некоторых особей отмечали окрашивание волосяного покрова вокруг мочевого канала в бурый цвет. В продолжении эксперимента наблюдали прогрессирующее снижение массы тела и потребления корма. На 35-е сутки эксперимента клиническая картина отравления белых крыс диоксином сопровождалась снижением рефлексов на внешние раздражители (свет, звук и т.д.), бледностью видимых слизистых оболочек, моча приобретала оранжево-бурый цвет, у некоторых животных отмечалось резкое истощение, отказ от корма. На 40-е сутки эксперимента данные симптомы интоксикации усилились, у некоторых крыс наблюдались парезы и параличи конечностей, цианоз видимых слизистых оболочек на фоне общего истощения. На 45-е сутки эксперимента наблюдалось частичное восстановление двигательной активности и пищевой возбудимости у выживших подопытных животных.

Макроскопически у белых крыс установлена однотипность изменений органов и тканей, свойственная отравлению токсическими веществами и наличию симптомов интоксикации. При этом отмечали анемию слизистых оболочек. Печень неравномерно окрашена, с поверхности тусклая, цвет от вишневого до серо-желтого. Сердечная мышца дряблая,

неравномерной окраски. Легкие красно-розового цвета с участками острого ателектаза. Кровеносные сосуды головного мозга кровенаполнены.

У кроликов наблюдали общее угнетение, снижение двигательной активности, сокращение глазной щели. На 17-18-е сутки опыта было отмечено снижение потребления корма, возникновение катаральных конъюнктивитов и ринитов. Через три недели после заправки наблюдали снижение массы тела на 14%, а также окрашивание волосяного покрова вокруг мочевого канала в бурый цвет. В ходе дальнейших исследований происходило постепенное нарастание симптомов интоксикации. На 38-е сутки опыта клиническая картина отравления сопровождалась снижением проявления рефлексов, нарушением течения обменных процессов, сопровождаемых гепато-ренальной недостаточностью, резким истощением и параличом задних конечностей. У выживших кроликов, на 45-е сутки эксперимента происходило частичное восстановление двигательной активности, пищевой возбудимости.

У кроликов, отравленных однократно диоксином в дозе LD_{50} , селезенка имела дряблую консистенцию, неравномерно окрашена (от вишневого до темно-фиолетового цвета), края тупые. Печень была увеличена в объеме, имела дряблую консистенцию, напряженную капсулу, пеструю окраску (от желто-песчаной до темно-вишневой). Сердце округлой формы, сердечная мышца дряблая, коронарные сосуды кровенаполнены. Почки умеренно упругие, капсула снимается хорошо, граница между корковым и мозговым веществами сглажена. Легкие не спавшиеся, в диафрагмальных долях заметны очаги отека, в сердечной и передних долях – очаги острой альвеолярной эмфиземы.

Клиническая картина острого отравления овец диоксином в дозе LD_{50} характеризовалась общим угнетением, снижением двигательной активности, пугливостью. На 19-21-е сутки наблюдали возникновение катаральных конъюнктивитов, сужение глазной щели, слизистые истечения из носовой полости, уменьшение потребления корма и воды. Отмечали прогрессирующее

снижение массы тела в среднем на 16% (на 32-е сутки опыта), бледность видимых слизистых оболочек, сгорбленность, выпадение шерсти, моча приобретала оранжево-бурый цвет.

Патологоанатомическая картина изменений внутренних органов подопытных овец при диоксиновом отравлении характеризовалась признаками белковой, жировой дистрофии паренхимы печени, почек, миокарда, общими гемодинамическими нарушениями и нарастанием признаков сердечной и легочной недостаточности.

2.2.1.3. Гистологические изменения при остром отравлении диоксином. Микроскопические изменения органов морских свинок при острой интоксикации ТХДД в дозе ЛД₁₀₀ отличались выраженным проявлением белковой дистрофии печени и почек с образованием многочисленных микронекрозов. Местами паренхима органов была полностью разрушена. В легких обнаруживали явления острой альвеолярной эмфиземы и отека. В мозжечке обнаруживали пикноз грушевидных нейроцитов, неравномерное распределение клеток зернистого слоя и увеличение содержания глиальных клеток в молекулярном слое. В продолговатом мозге наблюдали явления отека, гиперемии сосудов и частичный распад нейронов.

При гистологическом исследовании внутренних органов белых крыс, получивших диоксин в дозе ЛД₅₀, в отличие от контрольных животных, обнаруживали выраженные проявления дистрофических и некротических изменений. Местами в печени центрилобулярно выявлялись некротические участки, а в перилобулярной зоне отмечали явления цитолиза. Большинство гепатоцитов вследствие активной жировой инфильтрации приобретали перстневидную форму. Соединительнотканная основа по ходу портальных трактов выделялась выраженным отеком. В почках патогистологические процессы затрагивали канальцевую систему и кровеносные сосуды. Наблюдали гиалино-капельную, вакуольную дистрофию эпителия канальцев, а также многочисленные участки микронекрозов. Селезенка с явлениями

делимфотизации выделялась присутствием в красной пульпе органа мегакариоцитов с резко уменьшенной площадью цитоплазмы. Мышечная ткань миокарда характеризовалась резким разволокнением, отеком стромы и наличием мелкоочаговых кровоизлияний. Кардиомиоциты приобретали мелкозернистую структуру, в сочетании с пикнозом ядер.

Диоксин в дозе LD_{50} у подопытных кроликов вызывал дистрофические, некротические процессы в органах и тканях в сочетании с более выраженными поражениями стенок кровеносных сосудов. Изменения в печени проявлялись в виде нарушения балочного строения органа, возникновением обширных некротических участков на фоне резко выраженной паренхиматозной дистрофии. Ядра гепатоцитов выделялись неравномерным содержанием хроматина, их цитоплазма приобретала вакуолизированный вид. Значительная часть паренхимы органа была с некротическими очагами. Почки характеризовались локальными участками некроза эпителия извитых и особенно прямых канальцев. Нефротелий проксимальных канальцев выделялся разной степенью проявления зернистой, гиалино-капельной и вакуольной дистрофии. Клетки юкстагломерулярного аппарата характеризовались пикноморфностью. О нарушении клубочковой фильтрации органа свидетельствовали плохо выраженные просветы.

У подопытных овец при отравлении диоксином в дозе LD_{50} в печени по сравнению с животными контрольной группы наблюдали резко выраженную зернистую, местами гиалино-капельную дистрофию гепатоцитов, смещение их ядер. Хроматин в набухших ядрах располагался по периферии. В паренхиме органа встречались очаги некроза и некробиоза. Эпителий канальцев почек с явлениями зернистой, гиалино-капельной дистрофии местами был оголен и частично слущен. Миокард отличался резким разволокнением, отеком стромы и присутствием мелкоочаговых кровоизлияний. Большинство кардиомиоцитов имело пикноморфные ядра. В головном мозге выявлены периваскулярные отеки. В нейронах располагались обедненные хроматином ядра. Центры лимфоидных узелков

селезенки разрежены, в них наблюдалось значительное количество дегенерирующих клеток крови.

Таким образом, патоморфологические изменения в органах и тканях подопытных животных свидетельствовали о выраженном цитопатическом действии диоксина с полным разрушением паренхиматозных клеток печени и почек. Данные изменения особенно выражены у кроликов. Кроме того, действие яда резко нарушало структуру гистогематических барьеров в исследованных органах, о чем свидетельствовали многочисленные отеки, кровонезлияния и патологические изменения стенок сосудов микроциркуляции.

2.2.2. Изучение влияния диоксина при хронической интоксикации на биохимические и патоморфологические показатели у животных

Изучение хронических интоксикаций животных диоксином в дозах 1/100 и 1/200 ЛД₅₀ проводили на 72 белых крысах, 72 кроликах. Диоксин животным всех групп вводили в виде масляного раствора ежедневно в течение 30 суток: кроликам в дозе 0,3 мкг/кг массы тела (1/100 ЛД₅₀) и в дозе 0,15 мкг/кг (1/200 ЛД₅₀), белым крысам – 0,6 мкг/кг массы тела (1/100 ЛД₅₀) и 0,3 мкг/кг массы тела (1/200 ЛД₅₀). Контролем служили животные, которым в корм добавляли соответствующую дозу растительного масла, используемого в качестве растворителя диоксина.

По окончании опыта был проведен убой подопытных животных с последующим патоморфологическим исследованием.

2.2.2.1. Биохимические показатели. Установлено, что содержание порфиринов в моче подопытных белых крыс, получавших диоксин в дозах 1/100 ЛД₅₀ и 1/200 ЛД₅₀ в течение 30-и суток, увеличивался. По отношению к показателям животных контрольной группы превышение количества копропорфирина в моче животных, отравленных диоксином в дозе 1/200 ЛД₅₀ на 30-е сутки составляло 183%, урпорфирина - 258%. Более выраженное

увеличение содержания порфиринов происходило при использовании диоксида в дозе 1/100 ЛД₅₀ (копропорфирин -217%, уропорфирин -264%). Аналогичные результаты были получены в опытах на кроликах.

Таким образом, диоксин в дозах 1/100 ЛД₅₀ и 1/200 ЛД₅₀ при хронической интоксикации в течение 30-и суток достоверно увеличивал содержание порфиринов в моче подопытных животных.

2.2.2.2. Клинические признаки и патологоанатомические изменения.

При хроническом отравлении подопытных кроликов в течение 30-и суток в дозе 1/100 ЛД₅₀ внешние признаки интоксикации начинали проявляться на 9-13-е сутки от начала затравки. У животных наблюдали общее угнетение, снижение двигательной активности и потребления корма. Отмечали постепенное окрашивание мочи в бурый цвет.

Патологические изменения в печени характеризовались увеличением объема, неравномерной окраской и сглаженностью рисунка строения органа. Сердечная мышца выделялась также неравномерной окраской и дряблой консистенцией. Селезенка оставалась без видимых изменений. Почки имели сглаженный рисунок строения.

Диоксин в дозе 1/200 ЛД₅₀ при 30-суточной интоксикации подопытных белых крыс и кроликов каких-либо видимых клинических признаков, свойственных интоксикации, не вызывал.

При вскрытии наиболее выраженные признаки поражения наблюдали в печени и почках. Они характеризовались инъекцией кровеносных сосудов, неравномерностью окраски паренхимы. В почках границы коркового и мозгового веществ были сглаженными. Кроме того, у крыс-самцов наблюдали набухание и отечность семенников, белочная оболочка была напряжена, сосуды оболочки инъецированы.

Таким образом, хроническое отравление диоксином сопровождался преимущественно дистрофическими изменениями в паренхиматозных органах, а также в семенниках, при слабой выраженности некробиотических изменений.

2.2.2.3. Влияние разных доз диоксина на гистологическую картину внутренних органов подопытных животных. Печень кроликов при 30-и суточном отравлении диоксином в дозе 1/100 ЛД₅₀ не имела выраженной дольчатой структуры. Большинство гепатоцитов имели признаки зернистой, жировой, а в некоторых долях – вакуольной дистрофии. Отдельные гепатоциты находились в состоянии кариопикноза и кариорексиса. Местами выявлялись мелкие участки некрозов, соединительнотканная основа по ходу портальной системы была в состоянии отека. Эпителий извитых канальцев почек характеризовался наличием выраженных признаков зернистой дистрофии. Полость капсулы клубочков неравномерно расширена, в ее просвете обнаруживали слущенные клетки. Ядра отдельных эпителиальных клеток канальцев находились в состоянии пикноза и рексиса. В просвете прямых канальцев местами выявляли слущенные эпителиальные клетки. Клетки ретикулоэндотелия становились малочисленными. Узелки селезенки становились уменьшенными с признаками подавления пролиферативной активности. Кровеносные сосуды органа были сужены, малокровны, а стенки мелких артерий приобрели однородный вид.

Таким образом, диоксин вызывал преимущественно дистрофические и в меньшей степени некротические процессы в клетках паренхимы исследованных органов и подавлял митотическую активность клеток.

В печени белых крыс при хронической интоксикации диоксином в дозе 1/200 ЛД₅₀ на фоне выраженной зернистой дистрофии большинства гепатоцитов обнаруживали мелкие центрилобулярные очаги некрозов, а по периферии долек – участки некробиоза. Соединительнотканная основа триад была разволокненной, отечной. Местами вследствие нарушения гистогематических барьеров в перисинусоидальных пространствах располагались многочисленные эритроциты. Длительная интоксикация вызвала в почках значительные изменения в сосудистой системе канальцев и в эпителиальных клетках органа. В кровеносных сосудах отмечали набухание цитоплазмы, пикноз ядер эндотелиоцитов, а местами истончение их стенок и

кровоизлияния. В селезенке подопытных крыс процесс подавления лимфо-пролиферативной активности имел умеренную выраженность. Стенки центральных артерий были неравномерно утолщены. В миокарде на фоне полнокровия кровеносных сосудов, мелкоочаговых кровоизлияний отмечали выраженный отек межмышечной соединительной ткани. Кардиомиоциты были с признаками дистрофических изменений. Изучение патоморфологической картины семенников лабораторных белых крыс, убитых после 30-ти дневной затравки диоксином в дозе $1/200$ ЛД₅₀, позволило обнаружить выраженные нарушения сперматогенеза. Наблюдались участки десквамации сперматогенного эпителия и скопление его в просвете канальцев. Следует отметить заметное уменьшение клеток Сертоли. Оставшиеся суспенциты были лишены цитоплазматических выростов, в просвете канальцев не содержалось спермиев или они были представлены массой детрита. Отмечали разрежение плотности клеток сперматогенного эпителия в семенниках опытных крыс, по-сравнению с контролем, и наличие участков беспорядочного расположения клеток различных генераций в канальце.

Таким образом, 30-и суточное отравление диоксином в дозе $1/200$ ЛД₅₀ при отсутствии видимых клинических признаков интоксикации вызывало в структуре исследованных органов признаки нарастания нарушения обмена веществ, переходящие в отдельных случаях в некротические изменения, что в конечном итоге приводило к ослаблению митотической активности и гемодинамическим нарушениям в микроциркуляторном русле. В результате происходило нарастание печеночной, почечной, сердечной недостаточности и нарушение сперматогенеза.

2.2.2.4. Ультраструктурные изменения внутренних органов белых крыс при хроническом отравлении диоксином в дозе $1/200$ ЛД₅₀. На 10-е сутки после введения диоксина в дозе $1/200$ ЛД₅₀ в печени подопытных животных наблюдали выраженную мелкокапельную жировую инфильтрацию цитоплазмы гепатоцитов, полиморфизм их ядер. Повсеместно в органе обнаруживали очаги некробиоза. Как проявление нарушения

транскапиллярного обмена отмечали значительные расширения перисинусоидальных пространств и выраженное полнокровие сосудов портальной системы. Ультраструктурные изменения характеризовались постепенным просветлением матрикса ядра в сочетании с нарастающей гетерохроматизацией. Массивные глыбки хроматина располагались в краевых зонах, прилегающих к кариолемме. В митохондриях наблюдали фрагментацию крист с частичным разрушением мембран, в то же время обнаруживали гепатоциты с четкими контурами крист. Количество рибосом на мембранах канальцев гранулярной эндоплазматической сети заметно уменьшалось.

После 20-суточной затравки жировая инфильтрация в печени достигла максимальной выраженности. Большинство гепатоцитов приобрели перстневидную форму. Вместе с тем, в паренхиме органа появились более обширные участки с явлениями вакуольной дистрофии и некроза, пограничная зона которых была обильно инфильтрирована гистиоцитами. Изменения в ультраструктуре гепатоцитов характеризовались зигзагообразной (извилистой) формой кариолеммы, которая местами была разрушена. Хроматин ядерного вещества был резко уплотнен и располагался по периферии, что отражало подавление синтеза нуклеопротеидов. В цитоплазме этих клеток обнаруживались многочисленные лизосомы. Митохондрии имели различные размеры, одновременно с их гипертрофией отмечали деструктивные явления в виде лизиса, расслоения мембран и просветления матрикса. Профили цистерн гранулярной и агранулярной эндоплазматической сети становились резко расширенными, а их мембраны местами были разрушены. В цитоплазме малочисленных звездчатых ретикулоэндотелиоцитов отмечали явления эритрофагии.

На 30-е сутки патоморфологические изменения в печени, отмеченные в предыдущие сроки исследования, продолжали прогрессировать. Орган у подопытных животных в ходе хронической интоксикации диоксином терял балочную структуру. Центрилобулярно встречались очаги некрозов, а по

периферии долек – участки некробиоза с явлениями лизиса гепатоцитов. Соединительнотканная основа триад выделялась выраженным отеком. Местами межбалочные синусоидальные капилляры были резко сдавленными вследствие накопления эритроцитов в расширенных перисинусоидальных пространствах. Ультраструктурные изменения характеризовались резким уменьшением содержания гранул гликогена в цитоплазме гепатоцитов по сравнению с животными, подвергнутыми 10-и и 20-суточному воздействию диоксина. Наблюдали полное разрушение структуры печеночных клеток, что свидетельствовало о возникновении тотального некроза в органе. В сохранившихся клетках отмечали дальнейшее нарастание процесса вакуолизации эндоплазматической сети, пластинчатого комплекса и митохондрий.

На 10-й день после 30-суточной затравки у большинства животных, отмеченные выше дистрофически-некробиотические изменения, сохранялись. Регенераторные процессы в органе выявлялись только на уровне ультраструктурных изменений. В ядрах, сохранившихся гепатоцитов, нарастал процесс зухроматизации. Постепенно исчезала вакуолизация матрикса и появлялись внутренние перегородки митохондрий. Несмотря на расширенное состояние канальцев эндоплазматической сети на их поверхности появлялись рибосомы.

Ультраструктура клеток селезенки подопытных животных по сравнению с контрольными, показывала также выраженные деструкции органоидов. Так, после 10-и суточной затравки диоксином в лимфоцитах обнаружено смещение ядрышка к периферии ядра, конденсирование хроматина, который находился по внутренней поверхности ядерной мембраны, набухание и вакуолизация митохондрий, прогрессирующая вакуолизация канальцев пластинчатого комплекса, что особенно характерно для плазмоцитов после 20-и и 30-и суточной затравки. На 10-е сутки после окончания затравки наблюдали постепенное восстановление ультраструктур клеток. Профили канальцев гранулярной эндоплазматической сети были

неравномерно расширены, а их рибосомы были неравномерно распределены на их поверхности. В цитоплазме располагались многочисленные полисомы. Структура мембран крист митохондрий была контурированной.

В почках подопытных животных на 10-е сутки эксперимента наиболее характерной была резко выраженная вакуолизация митохондрий, цитоплазма эпителиальных клеток содержала множество крупных и мелких вакуолей, ЭПС почти полностью подвергалась вакуолизации. Как следствие ослабления синтетических процессов в ядре отмечали гетерохроматизацию, извилистость кариолеммы, уменьшение количества поровых комплексов. После 30-и суточной заправки изменения органоидов клеток, отмеченные в ранних сроках, продолжали прогрессировать. Нарастали изменения митохондрий, ЭПС и других органоидов, а также увеличивалось количество измененных клеток. В дальнейшем, на 10-е сутки после окончания заправки начинали появляться отчетливые признаки восстановления ультраструктур клеток почек. Так, размеры митохондрий приближались к нормальным, но они все же еще оставались набухшими, структура крист приобретала четкие очертания мембран, матрикс имел равномерное распределение. Репаративные процессы в ЭПС становились более выраженными. Однако все еще была заметна вакуолизация цитоплазмы некоторых клеток. Полости и цистерны пластинчатого комплекса были также несколько расширены.

Таким образом, электронно-микроскопические исследования позволили выявить вполне определенные ультраструктурные изменения в клетках органов, которые характеризовались ослаблением синтеза рибонуклеопротеидов, синтетической активности ультраструктур цитоплазмы при нарастании признаков энергетического дефицита. Особенно выраженные действия диоксина были отмечены в ультраструктуре митохондрий при отсутствии макроскопических признаков отравления.

2.2.3. Морфологическое обоснование предельно допустимой концентрации диоксина в кормах для животных

Опыты проведены на 120 белых крысах массой 140-180 г и 16 кроликах массой 3-3,5 кг, обоего пола. Трём группам крыс по 10 и кроликов по 4 животных в течение 60 дней скармливали корм, содержащий раствор 2,3,7,8-ТХДД в растительном масле из расчёта 1/200, 1/300 и 1/400 ЛД₅₀, которая составляет для крыс – 60, а для кроликов 30 мкг/кг. Контроль служили животные, которым в корм добавляли соответствующую дозу растительного масла, используемого в качестве растворителя диоксина.

Полярнографической оценкой функционального состояния митохондрий печени животных, получавших корм с добавленным в него диоксином, установлено, что доза 1/400 ЛД₅₀ как для крыс, так и для кроликов является пороговой. Задачей исследований явилось изучение ультраструктуры митохондрий гепатоцитов при хронической интоксикации подопытных животных пороговой дозой диоксина.

У подопытных белых крыс и кроликов при хронической интоксикации 1/400 ЛД₅₀ диоксина в гепатоцитах, наряду с сохранившимися свою структуру митохондриями, обнаруживали увеличенные и округленные, с нарушенными контурами крист, что свидетельствовало о нарушении энергетических функций митохондрий.

В целях уточнения существующих ПДК 2,3,7,8-ТХДД для животных проводили хронический опыт на кошках. Рацион первой группы содержал 0,0005 мкг 2,3,7,8-ТХДД на кг корма и скармливался в течение 30 суток; второй группы – 0,01 мкг/кг – 30 суток; третьей – 0,45 мкг/кг – 10 суток.

Вскрытия показали, что видимые изменения в органах кошек отмечались только в группе, получившей 2,3,7,8-ТХДД в дозе 0,45 мкг/кг корма 10-тикратно (увеличение печени и почек, наличие на их поверхности и в толще кровоизлияний и сглаженность границ).

У подопытных кошек в печени наблюдали нарушение балочного строения и атрофию гепатоцитов. Нарушение трансапиллярного обмена и других гемодинамических расстройств сопровождалось резким расширением синусоидальных капилляров, центральных, собирательных вен. Большинство гепатоцитов приобретали признаки зернистой дистрофии, а их ядра имели неравномерное содержание хроматина. Наиболее выраженные нарушения обмена веществ в сочетании с гемодинамическими расстройствами были отмечены у кошек, получавших диоксин в дозах 0,01 и 0,45 мкг/кг. В отдельных случаях в печени подопытных животных, получавших диоксин в дозах 0,01 и 0,45 мкг/кг, обнаруживали участки полностью лишенные эпителия, на фоне которого наблюдали соединительнотканый и сосудистый каркас органа. В селезенке подопытных кошек в зависимости от тяжести интоксикации патологические изменения проявлялись сглаживанием рисунка строения органа. Лимфатические узелки теряли структуру зонального расположения клеток. Венозные синусы красной пульпы становились опустошенными. Стенки кровеносных сосудов органа местами были неравномерно утолщенными. В эпителии канальцев почек отмечали признаки белковой дистрофии в сочетании с признаками нарушения клубочковой фильтрации. У животных, получивших 2,3,7,8-ТХДД в дозе 0,01 мкг/кг корма, наблюдали выраженную белковую дистрофию с последующей вакуолизацией цитоплазмы эпителиальных клеток извитых канальцев. Ядра приобретали пикноморфный вид. Более выраженные деструктивные изменения в почках, вплоть до явления некроза и некробиоза обнаруживали после применения яда в дозе 0,45 мкг/кг корма.

2.2.4. Морфологическое обоснование применения лечебно-профилактических препаратов при отравлении животных разными дозами диоксина

В качестве лечебно-профилактических средств использовали димефосфон, левамизол и витамин Е.

При острой интоксикации диоксином димефосфон задавали за 1 сутки до затравки и ежедневно после введения яда. Длительность эксперимента составила 45 дней.

Проведенные исследования показали, что при использовании препарата димефосфон в качестве лечебно-профилактического средства при остром отравлении диоксином белых крыс клинические признаки отравления проявлялись в более поздние сроки, а именно на 20-е сутки от момента введения диоксина, снижение массы тела было выражено не столь сильно, как в контрольной группе, количество погибших животных равнялось 15% от числа затравленных, в то время как в группе животных, зараженных диоксином без применения димефосфона, погибло 55% белых крыс. В результате использования димефосфона при затравке белых крыс, кроликов и овец диоксином в дозе LD_{50} в течение всего эксперимента происходило менее выраженные изменения гистоструктуры внутренних органов, количества уropорфирина и копропорфирина, по сравнению с нелечеными животными.

Результаты биохимических и клинико-морфологических исследований дали основание предположить, что препарат димефосфон оказывает некоторый защитный эффект при остром отравлении животных. Исходя из этого, в дальнейшем было проведено морфологическое изучение органов и тканей при хронической интоксикации диоксином на фоне применения димефосфона по сравнению с другими лечебно-профилактическими препаратами.

Изучение влияния димефосфона и левамизола при отравлении животных диоксином в дозе $1/100 LD_{50}$ проводили на 9 кроликах, которые были разделены на 3 группы. Диоксин подопытным животным вводили в виде масляного раствора ежедневно в течение 30-и дней в дозе 0,3 мг/кг массы тела, что составляет $1/100 LD_{50}$ для кроликов. Животным второй группы наряду с диоксином ежедневно выпаивали димефосфон в дозе 90 мг/кг массы животного. Подопытным кроликам третьей группы в ходе эксперимента дополнительно вводили внутримышечно 7,5%-ный раствор

левамизола в дозе 2,5 мг/кг массы тела в течение 3-х дней. После четырехдневного перерыва еще проводили два цикла введения препарата с перерывом в 4 дня. Всего курс лечения состоял из 9 инъекций левамизола.

Применение левамизола при отравлении кроликов диоксином оказывает благоприятное воздействие на гистологическую структуру селезенки и надпочечника, что связано с его иммуномодулирующим действием. Левамизол преимущественно оказывает протективное действие на систему внутренних мембран клеток.

Сравнивая результаты гистологических исследований органов и тканей животных при отравлении как диоксином, а также и при применении лечебно-профилактических препаратов – димефосфона и левамизола, можно отметить положительное влияние, оказываемое обоими средствами, что проявляется в сохранении гистологической структуры клеток органов и внутренней стабильности клеток. Однако димефосфон оказывает более эффективное действие на сохранение целостности структуры исследованных органов и тканей организма кроликов, чем левамизол.

Опыты по изучению эмбриотоксических и тератогенных свойств диоксина на фоне применения димефосфона и витамина Е были проведены на самках белых крыс половозрелого возраста, живой массой 180-220г. Животных делили на 4 группы по 12 крыс в каждой. Первой группе, служившей контролем, в корм добавляли соответствующую дозу растительного масла, используемого в качестве растворителя диоксина. Крысам второй группы с кормом давали масляный раствор 2,3,7,8-ТХДД в дозе 0,3 мкг/кг массы тела (1/200 ЛД₅₀) с 1 по 17 день беременности. Животным третьей группы, помимо аналогичной затравки, за 2-3 дня до начала опыта и в ходе всего эксперимента выпаивали лечебно-профилактический препарат димефосфон в дозе 90 мг/кг массы тела. Животным четвертой группы параллельно с введением диоксина в дозе 0,3 мкг/кг массы тела с кормом задавали витамин Е в дозе 1,5 мкг/кг массы тела

животного. На 20-й день беременности путем декапитации подопытных животных умерщвляли.

Результаты исследований отражают эффективность данных лекарственных препаратов. При этом димефосфон в сравнении с витамином Е оказал более высокое защитное действие. Так, постимплантационная гибель и общая эмбриональная смертность были ниже на 7% в группе животных, получавших димефосфон, чем в группе с применением витамина Е. В постнатальном периоде развития димефосфон способствовал более значительному приросту живой массы потомства и снижал гибель приплода, полученного от самок после отравления диоксином. У плодов опытных групп отмечали задержку окостенения костей осевого скелета. Отмечалось закономерное отставание в формировании хвостовых позвонков, пястных и плюсневых костей. У большинства плодов второй и четвертой групп неокрашенными оставались последние крестцовые позвонки, кости плюсны и пальцы, последние кости грудины. В четвертой группе эти процессы были менее выраженными.

Таким образом, пероральное введение с водой димефосфона в дозе 90 мг/кг массы тела заметно уменьшало действие диоксина и сокращало задержку внутриутробного развития плода, чем при применении витамина Е.

Далее были проведены патоморфологические исследования семенников белых крыс при хронической интоксикации диоксином в дозе $1/200$ ЛД₅₀ на фоне применения витамина Е и димефосфона. Исследования проводили на самцах белых крыс, массой 200 – 250 г, которых делили на 4 группы по 24 животных в каждой.

Трем опытным группам ежедневно в течение 30-и суток скармливали корм, контаминированный 2,3,7,8-ТХДД (активность действующего вещества 95%) в виде масляного раствора из расчета 0,3 мкг/кг массы тела ($1/200$ ЛД₅₀ для крыс). Первой группе животных, служившей биологическим контролем, в корм добавляли адекватную дозу растительного масла. Третьей группе на

фоне затравки подопытных крыс с кормом задавали витамин Е в дозе 1,5 мкг/кг массы тела. Животным четвертой группы помимо затравки за 2-3 дня до начала опыта и в ходе всего эксперимента выпаивали димефосфон в дозе 90 мг/кг массы тела.

У опытных крыс второй и третьей групп наблюдали достаточно выраженные патоморфологические изменения в извитых канальцах семенников. У животных третьей группы, которые получали диоксин вместе с витамином Е, наряду с существенными явлениями дистрофии и деструкции в некоторых канальцах отмечался морфологически завершённый сперматогенез. Сохранились участки десквамации сперматогенного эпителия и заметное разрежение плотности клеток.

У подопытных животных, получавших в течение 30-и суток диоксин в дозе 1/200 ЛД₅₀ вместе с димефосфоном, нарушения сперматогенеза заметно уменьшились. Количество канальцев со слущиванием сперматогенного эпителия уменьшалось по сравнению с таковым показателем при применении витамина Е. Во многих канальцах наряду с явлениями дистрофии и деструкции наблюдали некоторое увеличение объема сперматогоний и сперматоцитов. Появлялись канальцы с морфологически завершённым сперматогенезом. Расположение клеток сперматогенного эпителия в них было упорядоченным.

Таким образом, димефосфон заметно снижал токсическое действие диоксина на сперматогенез белых крыс (уменьшалось количество канальцев со слущиванием сперматогенного эпителия и увеличивался число канальцев с морфологически завершённым сперматогенезом), по сравнению с действием витамина Е.

2.2.5. Морфологическое обоснование биохимических изменений при сочетанном воздействии Т-2 токсина и афлатоксина В₁ в дозах 1/10 ЛД₅₀

Для биохимических и патоморфологических исследований смешанных микотоксикозов были проведены опыты на 40 белых крысах массой 180-200 г и 4 овцах. Первой группе подопытных животных вводили через зонд водно-спиртовой раствор Т-2 токсина, затем раствор афлатоксина В₁ в дозах 1/10 ЛД₅₀. Второй группе – раствор Т-2 токсина в дозе 1/10 ЛД₅₀, третьей – раствор афлатоксина в дозе 1/10 ЛД₅₀. Четвертая группа служила контролем, которая получала аналогичный объем растворителя. Наблюдение велось в течение 72 часов, после чего 2 крысы из каждой группы умерщвлялись для патологоанатомических и гистологических исследований. Оставшиеся подопытные животные наблюдались в течение 10-и суток.

2.2.5.1. Биохимические показатели. В жизнедеятельности организма биомембраны играют решающую роль, в структуре которых немаловажное место занимают липиды с высоким содержанием ненасыщенных жирных кислот. С учетом этого исследования процессов свободнорадикального (перекисного) окисления липидов в организме во взаимосвязи с морфологическими изменениями считаем целесообразным для изучения влияния ксенобiotиков на организм животных.

Состояние ПОЛ у животных оценивали путем определения малонового диальдегида (МДА) в крови. Установили, что содержание малонового диальдегида в плазме крови при введении белым крысам Т-2 токсина и афлатоксина В₁ в дозах 1/10 ЛД₅₀ не подвергалось существенным изменениям. При сочетанном введении микотоксинов максимальное значение малонового диальдегида отмечалось к 6 часу затравки и было на 17,5% больше фоновых показателей. С 12 часа наблюдения и до конца исследования происходило плавное снижение его количества.

В меньшей степени изменилось содержание малонового диальдегида в эритроцитах. К 6 часу отравления происходило уменьшение показателей при введении Т-2 токсина и афлатоксина В₁. При сочетанном введении наблюдалось их увеличение на 7,1%, а к концу исследования происходило плавное снижение количества МДА на 6,5% от исходных данных. Аналогичные результаты были получены в экспериментах на овцах.

Таким образом, динамика изменений процессов ПОЛ показывает синергетическое воздействие Т-2 токсина и афлатоксина В₁ при сочетанном поступлении в организм животных, чем при раздельном. Увеличение процессов ПОЛ в начале исследований и снижение к концу эксперимента объясняется образованием свободнорадикальных состояний в клетке в результате повреждающего действия микотоксинов.

2.2.5.2. Клинические признаки и патологоанатомические изменения.

После сочетанного введения токсинов подопытным крысам в дозе 1/10 ЛД₅₀ заметных клинических изменений не наблюдалось. Подопытные животные были активны, хорошо поедали корм.

При патологоанатомическом исследовании наиболее характерные изменения наблюдались в печени, почках, селезенке, сердце, желудке и тонком отделе кишечника. Слизистая оболочка дна желудка и тонкой кишки была в состоянии катарального воспаления, покрыта серой массой слизи, утолщена. Печень была неравномерно окрашена, с признаками венозного застоя. Мускулатура сердца выделялась неравномерной окраской и со сглаженным рисунком строения. В почках наблюдались отдельные точечные кровоизлияния, а селезенка была без видимых изменений.

2.2.5.3. Гистологические изменения внутренних органов белых крыс.

При микроскопическом исследовании в желудке у белых крыс обнаруживали катаральное воспаление слизистой оболочки, в мышечной оболочке – отек интерстициальной ткани с инфильтрацией мононуклеарными клетками. В слизистой оболочке тонкого отдела кишечника наблюдали выраженную слизистую дистрофию эпителия, местами с десквамацией энтероцитов.

Соединительнотканная основа ворсинок была инфильтрирована мононуклеарными клетками, разволокнена и отечна. Апикальная часть ворсинок была разрушена. Дуоденальные железы были в состоянии гиперсекреции.

В печени в местах локальной дезорганизации балочного строения обнаруживали массовый распад гепатоцитов с явлениями пикноза и рексиса ядерного вещества и цитоплазмы. Значительная площадь органа была представлена мелкими гепатоцитами округлой формы с выраженными признаками гетерохроматизации ядерного вещества и уплотнения цитоплазмы. В дольках с нарушенным радиальным расположением балок отмечали атрофию гепатоцитов с одновременным расширением синусоидов.

В почках подопытных животных обнаруживали признаки нарушения клубочковой фильтрации в виде распада и пикноза клеток эндотелия, капилляров и эндокриноцитов. Расширение полости капсулы явилось следствием выраженных деструктивных явлений в канальцах. Эпителиальные клетки характеризовались дистрофическими изменениями. В отдельных участках канальцевый эпителий приобретал вакуолизованный вид, в некоторых местах вследствие отторжения – огаленный вид, с сохранением только базальной мембраны. Более выраженный нефротоксический эффект проявлялся в структурах коркового вещества, особенно в канальцах проксимального отдела нефронов.

В селезенке наблюдали кровенаполненность красной пульпы, набухание цитоплазмы ретикулоцитов, компактные скопления лимфоцитов. Единичные макрофаги пребывали в состоянии распада. Мегакарициты выделялись малочисленностью ядер и резким уменьшением площади цитоплазмы. Отмеченные изменения отражали нарастающую эритро-, лимфоцито- и тромбоцитопению.

Миокард выделялся резким разволокнением мышечных волокон, отеком стромы и наличием мелкоочаговых кровоизлияний. Мышечные волокна местами утрачивали поперечную исчерченность. Вблизи очагов

кровоизлияний обнаруживали проявления многочисленной складчатости мышечных волокон. В большинстве участках гистосреза кардиомиоциты приобретали мелкозернистую структуру, сопровождаемую пикнозом ядер.

Оценка эмбриотоксического действия микотоксинов показала, что число плодов на одну самку при введении Т-2 токсина уменьшилось на 11,9%, афлатоксина В₁ - на 17,4%, при сочетанном введении - на 31,8%. Число резорбций во второй группе крыс увеличилось на 5,8%, в третьей уменьшилось на 5,3%, в четвертой группе возросло на 8,0%, по сравнению с контрольной группой. Гибель эмбрионов до имплантации увеличивалась по сравнению с первой группой в 2,8 раза при поступлении Т-2 токсина, в 2,8 раза - при интоксикации афлатоксином В₁, в 3,3 раза - при сочетанном поступлении. Гибель эмбрионов после имплантации также возросла. Так при отравлении Т-2 токсином она составила 11,5%, афлатоксином В₁ - 9,25%, при сочетанном поступлении - 13,58%. Масса плода во второй группе была меньше контрольной на 5,6%, в третьей - на 8,0%, в четвертой - на 14,2%. Продолжительность беременности сократилась по сравнению с контрольной группой животных на 5,9% во второй группе, на 8,1% - в третьей, на 11,7% - в четвертой группе.

Оценку тератогенного действия микотоксинов проводили на 4-х поколениях белых крыс. В первом поколении количество крысят на одну самку составила при введении Т-2 токсина - 7,17, афлатоксина В₁ - 7,33, при сочетанном применении - 6,83. Во втором поколении количество крысят уменьшилось по сравнению с контрольной группой на 7,1% во второй группе, на 9,8% - в третьей и на 21,6% - в четвертой группе крыс. Количество крысят на одну самку в третьем поколении было следующим: 7,00 в контрольной группе, 6,83 - во второй, 6,8 - в третьей, 6,50 - в четвертой, однако данные не были достоверными. В четвертом поколении количество крысят на одну самку снизилось по сравнению с первым поколением на 24% при отравлении Т-2 токсином, на 12,8% - при введении афлатоксина В₁, на 7,0% - при сочетанном поступлении этих микотоксинов.

2.2.5.4. Гистологические и ультраструктурные изменения внутренних органов овец. Сочетанное действие Т-2 токсина и афлатоксина В₁ в дозах 1/10 ЛД₅₀ в течение 30-и суток вызвало в печени подопытных животных наиболее выраженные деструктивные изменения, проявившиеся токсической дистрофией, нарушением местной гемодинамики. По всей площади органа отмечали распад балочной структуры и большинства гепатоцитов. В почках также отмечали выраженные признаки деструктивных изменений, в большинстве клубочков происходили патологические процессы, отражающие полное прекращение фильтрации. Клетки эпителия канальцев вакуолизированы, отторгались от базальной мембраны с накоплением в просвете канальцев белковых включений. В коре больших полушарий на фоне явлений периваскулярного отека вещества мозга наблюдали пикноз нейроцитов, в отдельных случаях сочетаемые с начальными фазами нейронофагии. Мышечные волокна характеризовались набуханием, вакуолизированием, а кардиомиоциты - зернистой цитоплазмой. Местами межмышечная соединительная ткань была инфильтрирована лимфоидными клетками и эритроцитами. В селезенке наблюдали резкое разрежение плотности расположения клеток лимфоидной ткани и уменьшение объема узелков. Стенка центральных артерий была с признаками мукоидного набухания. В желудке подопытных животных ярко проявлялась картина десквамативного катара. В тонком отделе кишечника наблюдались аналогичные явления со значительным разрушением ворсинок и отдельных крипт.

Таким образом, при длительном сочетанном поступлении микотоксинов в организм животных наблюдались изменения в виде отека вещества головного мозга, распада отдельных нейронов и дистрофических явлений в печени и почках.

Для полной характеристики патологии, развивающейся у подопытных овец при сочетанном поступлении Т-2 токсина и афлатоксина В₁ проведены электронно-микроскопические исследования внутренних органов и тканей.

Ультраструктурные изменения гепатоцитов печени показали выраженное уменьшение количества органоидов и их разрушение. Кариолемма имела извилистую форму, ее целостность была местами нарушена, поровые комплексы выделялись нечетко. Хроматин ядерного вещества резко уплотнен и занимал большую площадь среза ядра. В цитоплазме вследствие полного разрушения органоидов возникали зоны деструкции. По мере нарастания тяжести дистрофических изменений увеличивалась электронная плотность цитоплазмы клеток селезенки, уменьшалось их количество по сравнению с таковыми контрольной группы. Действие микотоксинов вызвали резкое набухание митохондрий, разобщение крист и просветление матрикса. Наблюдалось расширение канальцев эндоплазматической сети и цистерн пластинчатого комплекса. В клетках головного мозга степень изменений ультраструктуры нейронов, глиоцитов и эндотелиоцитов кровеносных капилляров колебалась в больших пределах. В коре больших полушарий у нейронов отмечена перегруппировка хроматина, множественные локальные расширения перинуклеарного пространства. В митохондриях выявлена фрагментация наружной, внутренней или даже обеих мембран, сопровождавшаяся появлением миелиноподобных телец в матриксе митохондрий.

Таким образом, ультраструктурные изменения характеризовались различной степенью выраженности деструктивных процессов в клетках печени, почек, селезенки, головного мозга, появлением участков с бесструктурным содержимым и вакуолями, лизисом и пикнозом ядер, изменениями структуры органоидов

2.2.6. Морфологическое обоснование применения лечебных и профилактических препаратов при микотоксикозах

Опыты проводились на белых крысах (10 групп) и овцах (2 группы), затравленных многократно микотоксинами в дозе 1/10 ЛД₅₀ и обработанных лечебными препаратами. В качестве лечебных препаратов применяли аминазин и ксимедон в различных дозах (пероральное введение), лечение начинали сразу после затравки микотоксинами.

Исследования показали, что при сочетании двух средств аминазина и ксимедона в дозах 0,3 мг/кг и 5 мг/кг после смешанного поступления в организм крыс и овец Т-2 токсина и афлатоксина В₁ в течение 15-и суток отмечался наибольший процент выживания - 83 и 75 соответственно.

Таким образом, выявлено, что наиболее эффективным средством при лечении животных, пораженных микотоксинами, является сочетание препаратов аминазин и ксимедон.

При макроскопическом осмотре органов и тканей леченных в течение 15-и суток животных при сочетанном воздействии Т-2 токсина и афлатоксина В₁ установлено их соответствие морфологии возрастным и видовым параметрам для овец, изменений структуры органов не выявлено.

При гистологическом анализе внутренних органов установлены менее выраженные дистрофические изменения со стороны клеток паренхимы печени, почек, миокарда, что проявлялось более четкой выраженностью гистологической структуры. Так, в клетках паренхимы печени и почек подопытных животных на фоне хорошо сохраненного рисунка строения органа со слабо выраженными признаками зернистой дистрофии отдельных эпителиоцитов отмечали незначительные по выраженности нарушения гемодинамики в системе микроциркуляторного русла. Селезенка имела четкий рисунок строения, а большинство лимфатических узелков - выраженные признаки зонального распределения иммунокомпетентных клеток. Микроскопические изменения эпителия желудка характеризовались

постепенным восстановлением клеток поверхностно-эпителиального слоя, трубчатых желез и соединительнотканной основы. Эпителиоциты выделялись выраженной клеточной дифференцировкой. Сосуды слизистой и подслизистой оболочек были умеренно полнокровными.

Ультраструктурные изменения в гепатоцитах характеризовались восстановлением целостности системы внутренних мембран и органоидов. Большинство ядер приобретали выровненную кариолемму с наличием четко выраженной структуры поровых комплексов. В центральной части кариоплазмы располагалось одно, реже два ядрышка, а по ее периферии находились скопления гетерохроматина. В перикариальной области отмечали сужение профилей гранулярной эндоплазматической сети, на большей части внутренней поверхности которой находились фиксированные полисомы. Количество свободных рибосом становилось меньше. Обращало внимание выраженность структуры пластинчатого комплекса, окруженного многочисленными везикулами. Митохондрии выделялись четко контурированными наружными мембранами и значительным количеством параллельно расположенных крист, матрикс становился электронноплотным. Повсеместно в цитоплазме располагались многочисленные гранулы гликогена. В отдельных гепатоцитах было отмечено неравномерное расширение профилей эндоплазматического ретикулума с очагами диссоциации полисом, набухание отдельных митохондрий с просветлением их матрикса, присутствием крупных липидных включений, уменьшение гранул гликогена. Клетки эпителия канальцев проксимального отдела почек приобретали четко обозначенные границы клеточной стенки и ядра. Сферической формы ядра клеток выделялись преобладанием эухроматина и хорошо выраженным ядрышком. Наблюдалось увеличение количества митохондрий и выраженную контурированность их мембран крист. В апикальной части этих клеток восстанавливалась мембранная структура щеточной каймы. Базальная мембрана имела умеренную электронную плотность и становилась выровненной по толщине. Нейроны головного мозга

характеризовались четкими мембранами клеточной стенки и многочисленных отростков. Нейроплазма содержала органоиды, наиболее выраженными были митохондрии с мембранами крист и электронно-плотным матриксом. Присутствие вакуоль значительно уменьшалось и возрастало присутствие свободных полисом, что свидетельствовало о возрастании синтетических процессов в клетках. В нервных клетках, отростках отмечали восстановление структуры мембран и нейрофибрилл.

Таким образом, лечение подопытных животных аминазином и ксимедоном в дозах 0,3 и 5 мг/кг массы тела при хроническом сочетанном поступлении Т-2 токсина и афлатоксина В₁ способствовало восстановлению структуры систем внутренних мембран клеток и активизировало синтетические процессы в ядре и цитоплазме, о чем свидетельствовали восстановление компонентов эндоплазматической сети и пластинчатого комплекса митохондрий и наличие продуктов биосинтеза в цитоплазме эпителиальных клеток исследованных органов.

В аспекте профилактики микотоксикозов и осложнений на их фоне, проводили первичные изучения фунгицидных и фунгистатических свойств четвертичных аммониевых соединений, предложенных сотрудниками Института органической и физической химии (ИОФХ) им. А.Е.Арбузова КНЦ РАН.

Проведенными исследованиями показано, что N-[Алкоксиполи(этиленокси)карбонилметил]аммоний хлориды, N,N-Диметил-N-бензил-N-[алкоксиполи(этиленокси) карбонилметил]аммоний хлориды и пента[[поли(этиленокси) карбонилметил]аммониевые} производные трехядерных трифенолов обладают выраженными фунгицидными и фунгистатическими свойствами. Так, фунгистатическая активность в отношении *Aspergillus niger* и *Ascophaera apis* составила – 0,00125-0,0025%, фунгицидная – 0,1%.

Изучение ультраструктуры конидий *Aspergillus niger* подвергнутых воздействию данных препаратов показало отслоение споровой оболочки,

местами частичное или полное разрушение последней. Кортекс просматривался лишь на отдельных участках. Структура его была размытой, что свидетельствовало о деструктивных изменениях гранулярного компонента. Ядра практически не просматривались.

Результаты исследований свидетельствовали, что четвертичные аммониевые соединения обладают выраженными фунгицидными и фунгистатическими свойствами, которые могут быть использованы для обеззараживания складов хранения кормов для сельскохозяйственных животных, а также средств транспорта и др.

3. ВЫВОДЫ

1. Патоморфологическая картина острого отравления диоксином в дозах ЛД₁₀₀ и ЛД₅₀ свидетельствует о политропном действии ксенобиотика с вовлечением в необратимый патологический процесс центральной нервной и сердечно-сосудистой систем, почек, селезенки, легких с доминирующим влиянием на печень. Результаты, полученные в опытах на кроликах и овцах, сопоставимы с данными исследований на белых крысах и морских свинках.

2. Хроническая интоксикация диоксином в дозе 1/100 ЛД₅₀ сопровождается развитием различной степени выраженности дегенеративно-дистрофических процессов в паренхиматозных органах (печень, почки, селезенка, головной мозг), характеризующихся зернистостью и вакуолизацией цитоплазмы, пикнозом и лизисом ядер клеток. Доза 1/200 ЛД₅₀ диоксина вызывает патологические процессы в организме животных на субклеточном, клеточном и тканевом уровнях при отсутствии видимых клинических признаков отравления. Деструктивные изменения сопровождаются нарушением кровообращения на уровне микроциркуляторного русла, морфологически проявляющееся переполнением кровью посткапиллярных венул, кровоизлияниями, развитием стаза и периваскулярных отеков, как результат нарушения нервной регуляции

деятельности сердечно-сосудистой системы и повреждения структурных компонентов стенки кровеносных сосудов.

3. Ультраструктурные изменения при хронической интоксикации диоксином в дозе $1/200$ ЛД₅₀ сопровождаются нарушением метаболических процессов в митохондриальной и микросомальной системах, угнетением биосинтетических процессов, понижением детоксикационной функции эндоплазматической сети и характеризуются:

а) со стороны ядра – просветлением матрикса и выраженным конденсированием хроматина, смещением ядрышка к периферии ядра, локальными расширениями перинуклеарного пространства, лизисом мембран кариолеммы и кариопикнозом;

б) со стороны цитоплазмы – набуханием митохондрий, укорочением крист, просветлением матрикса, лизисом и расслоением мембран, расширением каналов и цистерн гранулярного эндоплазматического ретикулума с образованием различной величины вакуолей, фрагментацией ее и локальной деструкцией мембран, выраженным уменьшением количества рибосом и полисом, гипертрофией и атрофией пластинчатого комплекса.

4. Наиболее показательным критерием при хроническом введении подопытным животным пороговых доз диоксина является изменение структуры и функций митохондрий гепатоцитов (увеличение размеров, вакуолизация, разрушение крист), что предлагается учитывать при разработке новых ПДК в кормах для сельскохозяйственных животных.

5. Использование димефосфона в дозе 90 мг/кг массы тела перорально с водой при интоксикации животных диоксином оказывает более выраженное лечебно-профилактическое действие на органы и ткани (предотвращает деструктурированность клеточных элементов, сохраняя целостность клеточной оболочки) по сравнению с левамизолом, в большей степени сокращает задержку внутриутробного развития плода, снижает гибель приплода и токсическое действие на сперматогенез по сравнению с витамином Е.

6. Синергетическое воздействие Т-2 токсина и афлатоксина В₁ в дозах 1/10 ЛД₅₀ при однократном поступлении на организм животных сопровождается увеличением продуктов ПОЛ (содержание малонового диальдегида), что связано с образованием свободнорадикальных состояний в клетке в результате повреждающего действия микотоксинов и морфологически подтверждается выраженными воспалительными процессами в желудке и тонком отделе кишечника, дистрофическими изменениями в головном мозге, печени, почках и селезенке при отсутствии клинических признаков интоксикации.

7. При однократном поступлении в организм беременных крыс Т-2 токсина и афлатоксина В₁ в дозах 1/10 ЛД₅₀ наблюдаются эмбриотоксические и тератогенные эффекты. Гибель эмбрионов до имплантации увеличивается в 3,3 раза, после имплантации – на 13,6%. Во втором поколении количество крысят на одну самку уменьшается по сравнению с контрольной группой на 21,6%.

8. Хроническая интоксикация сочетанным воздействием Т-2 токсина и афлатоксина В₁ в дозах 1/10 ЛД₅₀ сопровождается выраженным угнетением и истощением животных, с преобладанием признаков поражения центральной нервной системы. Сосудистые расстройства, дистрофические и некротические изменения обнаруживаются в кардиомиоцитах, гепатоцитах, клетках головного мозга и эпителии канальцев почек. В желудочно-кишечном тракте преобладают изменения воспалительного характера.

9. Ультраструктурные изменения при сочетанном воздействии Т-2 токсина и афлатоксина В₁ в дозах 1/10 ЛД₅₀ характеризуются различной степенью выраженности дистрофических процессов в клетках печени, почек, селезенки, появлением участков с бесструктурным содержимым и вакуолями, лизисом и пикнозом ядер, изменениями структуры органоидов. В нейронах головного мозга отмечается перегруппировка хроматина, множественные локальные расширения перинуклеарного пространства, в митохондриях -

фрагментация наружной, внутренней или даже обеих мембран, сопровождающаяся появлением мизелиноподобных телец в матриксе.

10. Наибольший лечебно-профилактический эффект при сочетанном воздействии Т-2 токсина и афлатоксина В₁ в дозах 1/10 ЛД₅₀ у белых крыс и овец достигается комплексным применением аминазина и ксимедона в дозах 0,3 мг/кг и 5 мг/кг массы тела соответственно. При этом снижается выраженность гемодинамических изменений, улучшаются гистоструктурные показатели органов и тканей, в последующем, наблюдается соответствие паренхиматозных и интерстициальных элементов параметрам здорового органа.

11. Установлено, что для обеззараживания складов хранения кормов для сельскохозяйственных животных, средств транспорта наиболее перспективными являются четвертичные аммониевые соединения, обладающие выраженными фунгицидными и фунгистатическими свойствами в отношении микроскопических грибов.

4. ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

1. Для дифференциальной диагностики отравления животных диоксином рекомендуется использование в комплексе с клиническими, биохимическими, физико-химическими и другими методами электронно-микроскопические исследования, особенно на ранних стадиях отравления.

2. Для практического использования предлагаются следующие документы: «Рекомендации по диагностике, профилактике и лечению токсикозов животных, вызванных диоксинами»; «Временная инструкция по применению димефосфона и левамизола при отравлении животных диоксином»; «Рекомендации по борьбе со смешанными микотоксикозами животных в республике Татарстан»; «Методические рекомендации по экспериментальному обоснованию и расчету предельно допустимых

концентраций 2,3,7,8-ТХДД в объектах ветеринарного надзора», утвержденные в установленном порядке.

3. Теоретические и практические аспекты диссертации целесообразно использовать в учебном процессе при чтении лекций, проведении лабораторно-практических занятий и научных исследований, а также при написании монографий, справочников и учебных пособий.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. **Матвеева, Е.Л.** Особенности клиники отравления морских свинок диоксином при возможном биотестировании безопасности объектов ветнадзора/ Ю.А. Зимаков, В.В. Титов, Е.Л. Кузнецова, Е.Л. Матвеева// Материалы республиканской научно-производственной конференции по проблемам ветеринарии и зоотехнии. - Казань, 1996. - С.100.

2. **Матвеева, Е.Л.** Влияние диоксина на животных/ Е.Л. Матвеева, Е.Л. Кузнецова// Материалы 1 Международной научно-практической конференции «Ветеринарные и зооинженерные проблемы животноводства». – Витебск, 1996. – С. 72.

3. **Матвеева, Е.Л.** К вопросу о характере патоморфологических изменений у животных, больных смешанным Т-2-афлатоксикозом/ В.В. Титов, Е.Л. Матвеева, М.Я. Тремасов, А.И. Сергейчев// Материалы республиканской научно-производственной конференции по актуальным проблемам ветеринарии и животноводства.- Казань, 1997.- С. 274.

4. **Матвеева, Е.Л.** Патоморфологические особенности интоксикации диоксином у морских свинок и крыс/ Э.А. Галиев, Е.Л. Матвеева, В.В. Титов, Ю.А. Зимаков, В.Г. Софронов// Морфология.- 1997.- Т.113.- С.34.

5. **Матвеева, Е.Л.** Патоморфологические изменения у животных при сочетанном воздействии микотоксинов/ Р.Р. Зинатуллин, В.В. Титов, А.И. Сергейчев, Е.Л. Матвеева, В.В. Титов// Морфология.- 1997.- Т.113.- С.51.

6. **Матвеева, Е.Л.** Ультраструктура гепатоцитов при действии диоксина/ Е.Л. Матвеева, Р.З. Гибадуллин, Э.А. Галиев// Материалы Российской конференции по электронной микроскопии.- Черноголовка, 2000.- С. 268.

7. **Матвеева, Е.Л.** Методические рекомендации по экспериментальному обоснованию и расчету предельно допустимых концентраций 2,3,7,8-ТХДД в объектах ветеринарного надзора /Ю.А.Зимаков, В.Г. Софронов, В.А. Новиков, Е.Л. Матвеева и др.//Фонд ВНИВИ инв. №2309, Казань, 2000.-8с.

8. **Матвеева, Е.Л.** Токсическое действие диоксина на животных/ Э.А. Галиев, В.А. Новиков, Ю.А. Зимаков, В.Г. Софронов, В.В. Титов, Е.Л. Матвеева, М.Я. Тремасов// Ветеринарный врач.- 2001.- №4(8).- С. 44-48.

9. **Матвеева, Е.Л.** Диагностика отравлений животных диоксином/ Ю.А. Зимаков, Р.З. Гибадуллин, Е.Л. Матвеева, В.В. Титов// Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э.Баумана.- 2003.- Т. 174.- С. 161-168.

10. **Матвеева, Е.Л.** Сохранение ультраструктуры и функций митохондрий печени как критерий безопасности при определении пороговых доз и расчете допустимых уровней 2,3,7,8- ТХДД/ Ю.А. Зимаков, Р.З. Гибадуллин, Е.Л. Матвеева// Токсикологический вестник.- 2003.- №6.- С. 25-29.

11. **Матвеева, Е.Л.** Ультраструктура внутренних органов при отравлении животных диоксином/ Е.Л. Матвеева, М.Я. Тремасов, Ю.А. Зимаков, А.З. Равилов, В.С. Угрюмова// Ветеринария.- 2004.- №7.- С.52-54.

12. **Матвеева, Е.Л.** Патоморфологические изменения у животных при отравлении диоксином/ Е.Л. Матвеева, В.В. Титов, М.Я. Тремасов, В.А. Новиков, А.З. Равилов, В.С. Угрюмова// Ветеринария.- 2005.- №1.- С. 53-55.

13. **Матвеева, Е.Л.** Электронно-микроскопические исследования внутренних органов при воздействии диоксина/ Е.Л. Матвеева// Материалы

международной научно-производственной конференции по актуальным проблемам агропромышленного комплекса.- Казань, 2003.- С.229-230.

14. **Матвеева, Е.Л.** N (Алкоксиполи (этиленокси) карбонилметил) аммоний хлориды, обладающие фунгистатической и бактерицидной активностью, и способ их получения/П.С. Фахретдинов, В.С. Угрюмова, Е.Л. Матвеева и др.//Патент РФ № 2216535 от 20.11.03. - 2003.- Бюлл. №32.

15. **Матвеева, Е.Л.** Пента (поли (этиленокси) карбонилметил аммониевые) производные трехядерных трифенолов, обладающие фунгистатической, фунгицидной, бактерицидной активностью, и способ их получения/ П.С. Фахретдинов, В.С. Угрюмова, Е.Л. Матвеева и др. //Патент РФ № 2221773 от 20.01.04. – 2004.- Бюлл. №2.

16. **Матвеева, Е.Л.** N,N – Диметил-N-бензил-N(алкоксиполи (этиленокси) карбонилметил аммоний хлориды, обладающие бактерицидной активностью, и способ их получения/ П.С. Фахретдинов, В.С. Угрюмова, Е.Л. Матвеева и др. //Патент РФ № 2223261 от 10.02.04. – 2004.- Бюлл. №4.

17. **Матвеева, Е.Л.** Проблемы диоксинов в экологически безопасном экономическом росте/ Е.Л. Матвеева// Материалы научно-практической конференции «Будущее России: перспективы и стратегии развития».- Казань, 2004.- С.89.

18. **Матвеева, Е.Л.** Фармакокоррекция показателей воспроизводительной функции при отравлении животных диоксином/ Д.Х. Нигматов, Е.Л. Матвеева, В.А. Новиков, М.Я. Трemasов, А.К.Чулков// Ветеринарный врач, 2005.- №2.- С.15-17.

19. **Матвеева, Е.Л.** Патоморфологические изменения органов при смешанных микотоксикозах/ Е.Л. Матвеева, М.Я. Трemasов, А.В. Иванов //Материалы Конгресса по медицинской микологии.- Москва,2005.- Т.5.- С.146-148.

20. **Матвеева, Е.Л.** Влияние димефосфона и витамина Е на гонадотоксичность диоксина/ Е.Л. Матвеева, Д.Х. Нигматов, В.А. Новиков// Материалы международного симпозиума «Научные основы обеспечения

защиты животных от экотоксикантов, радионуклидов и возбудителей опасных инфекционных заболеваний».- Казань,2005.- С.194-200.

21. **Матвеева, Е.Л.** Варианты влияния разных ксенобиотиков на биологическое окисление в патогенезе токсикозов/ Ю.А.Зимаков, Р.З. Гибадуллин, Е.Л. Матвеева, Г.Г. Галяутдинова// Материалы международного симпозиума «Научные основы обеспечения защиты животных от экотоксикантов, радионуклидов и возбудителей опасных инфекционных заболеваний».- Казань,2005.- С.126-130.

22. **Матвеева, Е.Л.** Профилактика гепатотропных проявлений хронической диоксиновой интоксикации/ Е.Л. Матвеева// Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э.Баумана.- 2006.- Т. - С.168-172.

23. **Матвеева, Е.Л.** Патоморфологические изменения у животных при смешанных микотоксикозах/ Е.Л. Матвеева// Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э.Баумана.- 2006.- Т. - С. 96-102.

24. **Матвеева, Е.Л.** Рекомендации по диагностике, профилактике и лечению токсикозов животных, вызванных диоксинами /А.В. Иванов, В.А. Новиков, М.Я.Тремасов и др.//М., изд-во ФГНУ « Росинформагротех», 2006.- 16 с.

25. **Матвеева, Е.Л.** Временная инструкция по применению димефосфона и левамизола при отравлении животных диоксином / М.Я. Тремасов, В.А. Новиков, Ю.А. Зимаков, и др.//Утверждено Главным управлением ветеринарии КМ РТ, Казань.- 2006.- 3 с.

26. **Матвеева, Е.Л.** Рекомендации по борьбе со смешанными микотоксикозами животных в республике Татарстан /М.Я. Тремасов, Ф.Г. Ахметов, Б.В. Камалов и др.//Министерство сельского хозяйства и продовольствия РТ, Казань.-2007.-16 с.

МАТВЕЕВА ЕЛЕНА ЛАВРЕНТЬЕВНА

**МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ ЛЕЧЕБНЫХ
И ПРОФИЛАКТИЧЕСКИХ СРЕДСТВ ПРИ ОТРАВЛЕНИИ
ЖИВОТНЫХ ДИОКСИНОМ, СОЧЕТАННОМ ВОЗДЕЙСТВИИ Т-2
ТОКСИНА И АФЛАТОКСИНА В₁**

16.00.04 – ветеринарная фармакология с токсикологией

16.00.02 – патология, онкология и морфология животных

**Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
доктора биологических наук**

Подписано в печать 03.04.2007. Формат 60x90 1/16
Гарнитура Times New Roman, 10. Усл. печ. 2,0. Уч.-изд.л. 0,9.
Тираж 100 экз.

Типография «Таглитат» ИЭУП
Лицензия № 172 от 12.09.96 г.
420108, г.Казань, ул.Зайцева, 17