



На правах рукописи

СОФРОНОВА СВЕТЛАНА АНАТОЛЬЕВНА

**ИЗЫСКАНИЕ СРЕДСТВ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ЖИВОТНЫХ ПРИ
СОЧЕТАННОМ ОТРАВЛЕНИИ СОЛЯМИ СВИНЦА И КАДМИЯ**

16.00.04—ветеринарная фармакология с токсикологией

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание учёной степени
кандидата биологических наук

23 ЯНВ 2009

Казань – 2009

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

Научный руководитель: доктор ветеринарных наук, профессор Новиков Валерий Александрович

Официальные оппоненты: доктор биологических наук, профессор
Конюхов Геннадий Владимирович
доктор биологических наук Гасанов
Ализаде Солтанович

Ведущая организация: ФГОУ ВПО «Чувашская государственная сельскохозяйственная академия»

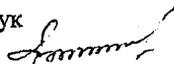
Защита состоится «10» февраля 2009г. в 10 часов на заседании диссертационного совета Д-220.012.01 при ФГУ «Федеральный центр токсикологической и радиационной безопасности животных» (420075, г. Казань, Научный городок - 2).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГУ «ФЦТРБ – ВНИВИ»

Электронный вариант автореферата и текст объявления о защите размещен на сайте организации: www.fgu.vnivi.narod.ru

Автореферат разослан «9» января 2009г.

Ученый секретарь диссертационного совета, кандидат ветеринарных наук ст. научный сотрудник



В.И. Степанов

1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. В последние годы биосфера все более интенсивно загрязняется разнообразными химическими веществами, в результате чего ухудшается экологическая ситуация, происходит накопление токсикантов в почве и растениях, и как следствие в кормах и сельскохозяйственной продукции (Гаврилов Ю.А., Макаров Ю.А., 2006). Одним из наиболее распространенных загрязнителей окружающей среды являются тяжелые металлы, избыточное поступление которых в трофические цепи опасно для здоровья животных и человека. Среди металлов – загрязнителей преобладают элементы с повышенной экотоксичностью, к которым в первую очередь относятся кадмий и свинец (Новиков В.А. и соавт., 2006, Касымов А.Х. и соавт., 2008).

Поступающие с кормами тяжелые металлы, как правило, не вызывают острого отравления животных, однако, обладая кумулятивными свойствами, они негативно действуют на многие органы и системы живого организма: нарушаются биохимические процессы, ингибируется активность ферментов, угнетаются белковый и нуклеиновый обмены, блокируется поступление в организм жизненно важных элементов, снижается резистентность животных, повышается их восприимчивость к различным заболеваниям (Иванов А.В., Софронов В.Г., Папуниди К.Х., 2000; Лисунова Л.И. и соавт., 2008).

Ведущим механизмом токсического действия соединений тяжелых металлов является угнетение ими многих ферментных систем в результате блокирования сульфгидрильных и других функциональных групп в активных центрах и иных биологически важных участках белковых молекул (Курляндский Б.А., Филлов В.А., 2002, Плетенева Т.В., 2005).

В последнее время все чаще встречаются загрязнения кормов двумя или несколькими представителями тяжелых металлов. В то же время токсическое действие металлов при сочетанном поступлении их в организм животных недостаточно изучено, не определена эффективность лекарственных средств при смешанных токсикозах. Поэтому существует

необходимость более глубокого изучения вопросов сочетанного действия тяжелых металлов и изыскания эффективных лекарственных средств при одновременном воздействии на животных нескольких токсикантов.

Цель и задачи исследования. Целью настоящей работы явилось изучение влияния кадмия и свинца на организм при совместном их воздействии на животных, а также изыскание средств лечения при сочетанном свинцово - кадмиевом токсикозе.

В этой связи перед нами были поставлены следующие задачи:

1. Провести скрининг и оценку сорбционной способности потенциальных энтеросорбентов в отношении свинца и кадмия.

2. Определить эффективность цеолита (Майнита) Майнского месторождения Ульяновской области и бентонита Биклянского месторождения Республики Татарстан при сочетанном отравлении животных тяжелыми металлами.

3. Изучить клинико-гематологические, биохимические, иммунологические и патоморфологические показатели у животных при сочетанном отравлении их свинцом и кадмием и на фоне применения лекарственных средств.

4. Изучить влияние энтеросорбентов – цеолита и бентонита на токсикокинетику свинца и кадмия при раздельном и сочетанном воздействии их на животных.

Научная новизна работы. Впервые изучена токсикокинетика свинца и кадмия при сочетанной интоксикации животных этими металлами и применении натрия сульфида, бентонита Биклянского и цеолита Майнита. Показано, что применение этих лечебных препаратов снижает аккумуляцию тяжелых металлов в организме животных и ускоряет их выведение.

Установлено нормализующее влияние натрия сульфида, бентонита и цеолита на гематологические и биохимические показатели, их стимулирующее действие на фагоцитарную активность нейтрофилов,

повышение количества Т- и В-лимфоцитов и концентрации лизоцима при сочетанном отравлении животных тяжелыми металлами.

Изучены патоморфологические изменения в органах и тканях у кроликов и овец при раздельном и сочетанном отравлении их свинцом и кадмием и применении энтеросорбента цеолита Майнита.

Практическая ценность работы. На основании проведенных исследований дана токсикологическая оценка сочетанного воздействия свинца и кадмия на лабораторных и сельскохозяйственных животных. При сочетанном воздействии кадмия и свинца на организм животных рекомендуется применять натрия сульфид в дозе 10 мг/кг массы животного, бентонит Биклянский в дозе 1% от рациона или цеолит Майнит в дозе 300 мг/кг живой массы в течение 30 суток. Результаты исследований вошли в «Рекомендации по диагностике, лечению и профилактике отравлений животных солями тяжелых металлов и другими токсическими элементами». – М.: ФГНУ «Росинформагротех», 2006. – 34 с.

Апробация материалов диссертации. Основные материалы диссертационной работы доложены на научных сессиях ФГУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» по итогам НИР за 2006-2008 гг., всероссийских и международных научно – практических конференциях и симпозиумах (Казань, 2006, 2007, 2008; Троицк, 2007; Ижевск, 2008; Воронеж 2008).

Публикации результатов исследований. По материалам диссертации опубликовано 8 научных работ, в том числе 1 статья в реферируемом ВАК издании.

Основные положения, выносимые на защиту:

- оценка сорбционных свойств различных энтеросорбентов в отношении свинца и кадмия;
- клинико-гематологические, биохимические и иммунологические показатели организма для оценки токсического действия свинца и кадмия при раздельном и сочетанном воздействии их на животных;
- корректирующее действие натрия сульфида, бентонита Биклянского

и цеолита Майнита на содержание тяжелых металлов в органах и тканях, на гематологические и иммунобиохимические показатели при сочетанном отравлении свинцом и кадмием.

Объем и структура диссертации. Работа изложена на 158 страницах компьютерного текста и состоит из следующих разделов: общая характеристика работы, обзор литературы, собственные исследования, обсуждение, выводы, практические предложения, список литературы. Работа содержит 30 таблиц и иллюстрирована 10 рисунками. Список литературы включает 244 литературных источника, в том числе 57 зарубежных авторов.

2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Работа выполнена в 2005–2008 гг. в лаборатории тяжелых металлов и синтетических ядов отдела токсикологии ФГУ «ФЦТРБ - ВНИВИ» (г. Казань).

Экспериментальные исследования проведены на трех видах животных - белых крысах, кроликах, овцах. Группы животных подбирали по принципу аналогов с учетом породы, возраста, пола и живой массы. Перед постановкой опытов животных выдерживали в карантине, кормление проводили согласно принятым нормам.

Для экспериментальной интоксикации животных применяли свинца ацетат ($C_4H_6O_4Pb \times 3H_2O$) – ГОСТ 4426 – 75 и кадмия хлорид ($CdCl_2 \times 2,5H_2O$) – ГОСТ 4330 – 76.

В опытах *in vitro* изучали сорбционную способность цеолита Майнского месторождения Ульяновской области; бентонита Биклянского месторождения республики Татарстан; углеродного энтеросорбента зоокарба; полисорба; фитосорбента, разработанного в КГТУ (КХТИ), изучали также детоксицирующие свойства натрия сульфида, $Na_2S \cdot 9H_2O$, ГОСТ 2053–77.

В основу эксперимента по определению адсорбционной способности сорбентов *in vitro* была положена методика, описанная Крюковым В.С. и соавт. (1992). В пробирки наливали по 5 мл дистиллированной воды, затем

вносили свинца ацетат или кадмия хлорид в дозе 50 мкг и исследуемый сорбент в дозе 50 мг таким образом, чтобы соотношение токсиканта и сорбента составляло 1:1000. Одновременно с опытными пробами ставили контрольную (без сорбента). Раствор, содержащий свинца ацетат или кадмия хлорид и сорбент (рН 2 или 7), выдерживали в водяной бане при температуре 38°C при периодическом встряхивании в течение 2 часов. После этого содержимое пробирок центрифугировали при 1500 об/мин в течение 10 минут, затем надосадочную жидкость помещали в чистые пробирки.

Озоление надосадочной жидкости проводили по ГОСТ 26929-94, анализ на содержание свинца и кадмия в минерализатах осуществляли методом атомно-абсорбционной спектрометрии (ГОСТ 39178-96).

Далее опыты по изучению отобранных сорбентов продолжили на животных. Об эффективности действия препаратов судили по клиническим, гематологическим и биохимическим показателям, по естественной резистентности и иммунобиологической реактивности опытных и контрольных групп животных, а также по остаточному содержанию тяжелых металлов в органах и тканях животных.

Общий анализ крови включал определение содержания эритроцитов, гемоглобина, лейкоцитов по общепринятым методам. В мазках крови, окрашенных по Романовскому-Гимза, с помощью микроскопирования выводили лейкоцитарную формулу (Кудрявцев А.А. и соавт, 1974; Привольнов Т. М., 1969; Симонян Г.А., Хисамутдинов Ф.Ф., 1995).

Общий белок сыворотки крови определяли на рефрактометре ИРФ – 22. Определение белковых фракций сыворотки крови проводили методом Олла и Маккарда в модификации Карпока С.А. (1962), основанном на свойствах фосфатных растворов осаждать белки, с последующим колориметрированием на КФК – 2 при красном светофильтре. Содержание кальция определяли унифицированным колориметрическим методом, неорганического фосфора - молибдатным UV – методом, SH – групп –

колориметрическим методом. Содержание ферментов в сыворотке крови определяли на анализаторе EXPRESS PLUS.

Фагоцитарную способность нейтрофилов крови определяли по методике Кост С.А. и Стенко М.И. (1974), объектом фагоцитоза служила однодневная культура *Staphylococcus aureus* с наличием 2 млрд. клеток в 1 мл. Фагоцитарную способность нейтрофилов определяли по показателям фагоцитоза: фагоцитарной активности, фагоцитарному индексу, фагоцитарному числу и фагоцитарной емкости.

Активность лизоцима в сыворотке крови устанавливали нефелометрическим методом по Дорофейчуку В.Г. (1968), основанном на способности лизоцима растворять мукополисахариды оболочки ряда бактерий. В качестве стандарта для определения титра лизоцима в испытуемом материале служила однодневная культура *Micrococcus lysodecticus*.

Уровень Т-лимфоцитов в периферической крови определяли методом спонтанного розеткообразования с гетерогенными эритроцитами (Е-РОК). Идентификацию В-лимфоцитов проводили методом ЕАС-розеток по Фримелло Г. (1987).

Содержание свинца и кадмия в органах и тканях определяли атомно-абсорбционным методом на ААС Perken Elmer AAnalyst 200.

Для гистологических исследований от убитых животных брали кусочки печени, почек, селезенки, мозга. Заливку в парафин осуществляли по схеме Волковой-Елецкова (1996). Окраску гистопрепаратов проводили гематоксилин-эозином по Ганзену (Меркулов Г.А., 1969).

Обработку цифрового материала проводили методом вариационной статистики с применением критерия достоверности по Стьюденту на персональном компьютере с использованием программ Excel. Разница между сравниваемыми величинами считалась достоверной при уровнях P меньше или равной 0,05.

3. Результаты собственных исследований

3.1. Изучение *in vitro* сорбционных свойств сорбентов различных групп в отношении тяжелых металлов

Максимальные сорбционные свойства в отношении свинца ацетата при температуре 38⁰С и рН 2 проявили цеолит Майнского месторождения (80,5%), полисорб (60,2%) и бентонит Биклянский (58,5%). При повышении рН до 7 адсорбционная способность повышалась у цеолита с 80,5 до 91,5%. Адсорбционная способность других сорбентов при изменении рН среды оставалась без существенных изменений. Наименьшую сорбционную способность к свинцу ацетату при рН 2 проявил фитосорбент (9,5%); а при рН 7 она понижалась до 4,5%.

При рН 2 и температуре 38⁰С лучше сорбировали кадмия хлорид цеолит Майнского месторождения (60,2%) и бентонит Биклянского месторождения (38,6%). При рН 7 детоксикационная активность натрия сульфида повышалась с 40,8 до 49,7%, адсорбционная способность сорбентов оставалась без существенных изменений. Самый низкий процент адсорбции кадмия хлорида наблюдался у фитосорбента; его активность сохранялась низкой при изменении рН в ту или иную сторону.

Исследования *in vitro* показали, что из изучаемых сорбентов наибольшей способностью сорбировать тяжелые металлы обладают цеолит Майнского месторождения Ульяновской области и бентонит Биклянского месторождения Республики Татарстан. У натрия сульфида была выявлена способность значительно повышать детоксицирующую активность при изменении рН среды с 2 до 7.

3.2. Изучение лечебной эффективности натрия сульфида при отравлении животных тяжелыми металлами

3.2.1. Влияние натрия сульфида на гематологические и биохимические показатели животных

Проведены опыты на 36 белых крысах и 12 кроликах, разделенных на две группы по 18 крыс и 6 кроликов в каждой группе. Первой группе животных скармливали в течение 30 дней корм, контаминированный свинца

ацетатом в дозе 25 мг/кг и кадмия хлоридом в дозе 1,5 мг/кг. Животные второй группы одновременно с солями тяжелых металлов в вышеуказанных дозах получали натрия сульфид в дозе 10 мг/кг живой массы.

При интоксикации крыс одновременно свинца ацетатом и кадмия хлоридом симптомы отравления появлялись на 14 день затравки, которые характеризовались уменьшением потребления корма, взъерошенностью шерстного покрова, снижением двигательной активности. Клинические признаки отравления при использовании натрия сульфида наступали на 18 сутки и были менее выраженными, чем в первой группе животных.

При исследовании крови затравленных крыс на 10, 20 и 30 сутки отмечалось снижение количества эритроцитов на 9, 21 и 37%; гемоглобина – на 10; 17 и 25%.

Содержание общего белка в эти сроки уменьшалось на 6; 13 и 16%; кальция – на 13; 23 и 29%; SH-групп – на 14; 28,5 и 36,5% соответственно. На 30 сутки концентрация альбуминов уменьшалась на 21%; α -глобулинов – на 30,5%; количество β – и γ -глобулинов повышалось к этому сроку на 58 и 24,5% соответственно.

При применении натрия сульфида отравленным животным наблюдалось менее выраженное изменение гематологических и биохимических показателей. Так, к 30 суткам содержание эритроцитов понизилось на 21%; гемоглобина – на 19%; общего белка – на 4,5%; альбуминов – на 17%; SH-групп – на 27%, кальция – на 19%; концентрация β – и γ -глобулинов повышалась на 39,5 и 21,6% соответственно.

При скармливании кроликам корма, загрязненного свинца ацетатом и кадмия хлоридом, клинические признаки отравления проявлялись на 15 день у двух животных в виде общего угнетения, отказа от корма, взъерошенности шерстного покрова. В то же время, как и у крыс, отмечалось уменьшение количества эритроцитов, гемоглобина, SH-групп, общего белка, альбуминов, α -глобулинов, кальция, повышение концентрации β – и γ -глобулинов. Как и в опытах на крысах при добавлении в рацион натрия сульфида отмечалось

менее выраженное нарушение морфологических и биохимических показателей крови.

3.2.2. Влияние натрия сульфида на выведение тяжелых металлов из организма животных

Изучение распределения и накопления кадмия и свинца в печени, почках, сердце, мышечной и костной ткани белых крыс и кроликов при сочетанном отравлении этими металлами показало следующие закономерности. Максимальное количество свинца наблюдалось в костной ткани, почках, печени. На 30 сутки содержание этого токсического элемента превышало фоновые показатели в указанных органах в 5; 7 и 6,5 раз у крыс и в 4,2; 7,4 и 6,7 раз у кроликов. У белых крыс, получавших натрия сульфид, содержание свинца на 30 сутки было меньше в печени на 33; почках – на 11; костях – на 19; сердце – на 60; мышцах – на 22%; у кроликов в печени на 37,5; почках – на 25; костях – на 27,5; сердце – на 46; мышцах – на 24% меньше, чем у нелеченных животных.

Содержание кадмия увеличивалось на протяжении всего эксперимента во всех исследуемых органах, с максимальным накоплением в почках и печени. К 30 суткам исследований его содержание в печени, почках, сердце, мышцах и костях превышало фоновые показатели в 15,7; 11,5; 4,5; 5 и 3 раза у крыс, и в 12,5; 9,7; 6,7; 4,5 и 3,2 раза у кроликов.

При одновременном поступлении кадмия и свинца и применении натрия сульфида содержание токсичного элемента в почках и печени у крыс было на 41 и 25,5%, у кроликов - на 47,5 и 16% ниже, чем у нелеченных животных.

Полученные экспериментальные данные свидетельствуют о том, что для кадмия и свинца органами-мишенями служат почки и печень. Применение натрия сульфида снижало накопление тяжелых металлов в органах и тканях животных. Корректирующее действие натрия сульфида на содержание свинца и кадмия в органах вероятно связано с его способностью

вступать во взаимодействие с тяжелыми металлами и образовывать нерастворимые сернистые соединения, выводимые из организма.

3.3. Изучение лечебной эффективности минеральных сорбентов при отравлении животных тяжелыми металлами

Опыты проведены на 60 белых крысах, 30 кроликах и 15 овцах.

Затравку животных осуществляли в течение 30 дней путем скармливания корма, контаминированного кадмия хлоридом и свинца ацетатом в дозах 1,5 и 25 мг/кг соответственно как раздельно, так и сочетано. При изучении эффективности сорбентов в корм добавляли бентонит из расчета 1% от рациона или цеолит в дозе 300 мг/кг массы животного.

3.3.1. Клинические признаки, морфологические, биохимические и иммунологические показатели крови животных при отравлении свинцом и кадмием и применении сорбентов

При сочетанном отравлении крыс кадмием и свинцом симптомы отравления появлялись на 14 день эксперимента, которые характеризовались уменьшением потребления корма, взъерошенностью шерстного покрова, снижением двигательной активности. У животных, отравленных тяжелыми металлами и леченных сорбентами, клинические признаки наступали в более поздние сроки, а именно: при применении бентонита - на 20 сутки, при введении цеолита - на 23 сутки от начала затравки.

Результаты исследований гематологических и биохимических показателей крови белых крыс при сочетанном отравлении животных свинца ацетатом и кадмия хлоридом описаны в разделе 3.2.1.

При отравлении белых крыс кадмием и свинцом и применении бентонита к 30 суткам изменения крови характеризовались уменьшением содержания эритроцитов и гемоглобина на 24 и 16,5% соответственно. Содержание лимфоцитов к 20 дню было на 12% меньше исходных значений. Количество сегментоядерных нейтрофилов имело тенденцию к повышению, и к 30 суткам оно было на 22,5% выше по сравнению с фоновыми показателями. Концентрация SH-групп на 10, 20 и 30 сутки опыта уменьшилась на 11; 18,6 и 24,7% соответственно. Содержание общего белка

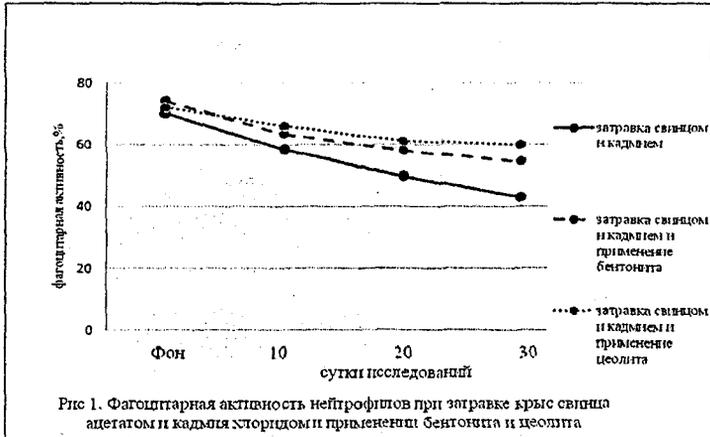
на протяжении всего опыта существенно не изменялось. Содержание кальция к 30 суткам уменьшалось на 15,2%, неорганического фосфора - повышалось на 11%.

Исследования крови белых крыс, сочетанно затравленных солями свинца и кадмия и леченных цеолитом, свидетельствуют о менее выраженных изменениях морфологических и биохимических показателей, чем у нелеченных животных. Так, содержание эритроцитов понизилось на протяжении опыта на 13,6%, гемоглобина - на 9%. В структуре лейкоформулы изменения количества лимфоцитов, нейтрофилов, а также эозинофилов и моноцитов были незначительными. В содержании общего белка и белковых фракций статистически достоверных изменений не обнаружено. Количество кальция уменьшалось к 30 суткам на 17,3%, неорганического фосфора - повышалось на 13,4%. Содержание сульфгидрильных групп к этому сроку снижалось на 16,6% по сравнению с фоновыми значениями.

При скормливании крысам корма, контаминированного свинца ацетатом и кадмия хлоридом, на 10, 20 и 30 сутки происходило снижение фагоцитарной активности нейтрофилов на 17; 29 и 39% (рис. 1); фагоцитарного индекса - на 14; 17 и 43%; фагоцитарного числа - на 28; 41 и 65%; фагоцитарной емкости - на 9; 21 и 49% соответственно. Активность лизоцима на протяжении опыта понижалась на 14,7 - 37%. Количество Т-лимфоцитов снижалось на 20 и 30 сутки на 19,2 и 25,8%; В-лимфоцитов - на 18 и 29% соответственно.

При затравке крыс свинца ацетатом и кадмия хлоридом и применении бентонита фагоцитарная активность нейтрофилов понижалась на 10, 20 и 30 сутки на 14,5; 22 и 26,5%; фагоцитарный индекс - на 7; 13,5 и 23,7%; фагоцитарное число - на 20,5; 32,4 и 44%; фагоцитарная емкость - на 10,6; 22,2 и 31%; активность лизоцима - на 10,6; 15,5 и 27,3% соответственно. Содержание Т-лимфоцитов понижалось на 10, 20 и 30 сутки исследований на 8,4; 17,2 и 19%; В-лимфоциты сохранялись в пределах фоновых величин.

При отравлении крыс солями свинца и кадмия и применении цеолита показатели фагоцитоза существенно не изменялись, активность лизоцима на 10 сутки понизилась на 10,2%, а на 20 и 30 сутки она приближалась к первоначальным значениям. Содержание Т- и В-лимфоцитов колебалось в пределах фоновых величин.



При скармливании кроликам и овцам корма, загрязненного свинца ацетатом и кадмия хлоридом по отдельности, наблюдалось менее выраженное угнетение гематологических, биохимических и иммунологических показателей, чем у животных, подвергнутых сочетанной затравке металлами.

Добавление кроликам и овцам цеолита в корм, загрязненный кадмием и свинцом, как и у крыс, существенно снижало токсическое действие металлов, что проявлялось в менее выраженных изменениях гематологических и иммунобиохимических показателей животных.

При изучении ферментативных процессов в сыворотке овец было зафиксировано повышение активности креатининкиназы, аспаратаминотрансферазы, аланинаминотрансферазы, щелочной фосфатазы, гамма-глутамилтрансферазы, лактатдегидрогеназы, амилазы у всех животных, подвергнутых затравке тяжелыми металлами (табл.).

Таблица – Активность ферментов в сыворотке овец при отравлении кадмия хлоридом и свинца ацетатом и применении цеолита

Группа животных	Сроки исследования, сут	Исследуемые показатели			
		АСТ, ммоль/(ч-л)	АЛТ, ммоль/(ч-л)	Щелочная фосфатаза, ммоль/(ч-л)	Гамма-глутамилтрансаминаза, ммоль/(ч-л)
Затравка свинцом	Фон	6,30±0,37	3,96±0,23	4,79±0,27	2,79±0,22
	10	6,87±0,50	4,80±0,22	5,19±0,34	3,50±0,15
	20	7,70±0,27	5,19±0,27	5,73±0,28	3,88±0,21
	30	8,95±0,36	5,29±0,35	7,59±0,40	4,20±0,30
Затравка кадмием	Фон	7,02±0,29	4,08±0,20	5,10±0,31	2,55±0,20
	10	7,77±0,32	4,70±0,29	5,65±0,28	3,40±0,10
	20	8,81±0,41	5,00±0,33	6,24±0,32	3,90±0,14
	30	10,49±0,55*	5,30±0,23*	7,81±0,44	4,28±0,12*
Затравка свинцом и кадмием	Фон	6,58±0,45	4,02±0,31	4,95±0,23	2,75±0,11
	10	8,14±0,25	4,59±0,15	6,99±0,27*	3,69±0,12
	20	9,44±0,90	5,10±0,11	8,60±0,57	4,52±0,19*
	30	11,08±0,33*	5,89±0,37*	9,40±0,65*	5,00±0,27
Затравка свинцом и кадмием и лечение цеолитом	Фон	7,35±0,50	4,08±0,46	5,68±0,43	2,61±0,19
	10	8,34±0,41	4,47±0,29	6,19±0,53	3,10±0,12
	20	8,69±0,33	4,52±0,33	6,73±0,25	4,00±0,25
	30	8,87±0,29	4,20±0,37	7,21±0,38	4,09±0,14*

Примечание: *- различия достоверны с точностью $p \leq 0,05$

При сочетанном отравлении овец солями свинца и кадмия активность указанных ферментов повышалась интенсивнее, чем при отдельном отравлении этими металлами. Увеличение активности данных ферментов является признаком поражения печени, что связано с повышенной проницаемостью мембран гепатоцитов, указывает на прогрессирующую мышечную дистрофию, свидетельствует об угнетении центральной нервной и сердечно – сосудистой системы. Введение в рацион отравленных животных

цеолита в дозе 300 мг/кг оказывало корригирующее действие на ферментообразование.

Введение в рацион кроликов и овец цеолита без предварительной затравки токсикантами способствовало повышению количества гемоглобина, эритроцитов, лимфоцитов, общего белка, альбуминов и кальция.

Анализируя данные клинических, гематологических, биохимических и иммунологических исследований следует отметить, что при сочетанной затравке животных солями свинца и кадмия и использовании бентонита и цеолита проявление клинических признаков интоксикации происходит в более поздние сроки по сравнению с группой животных, не получающих минеральные сорбенты. Изменения гематологических и иммунобиохимических показателей у леченных животных были менее существенными и концу исследований они приближались к фоновым значениям.

Установлено, что цеолит по сравнению с бентонитом оказывает более выраженное лечебное действие, что проявляется в меньшем угнетении гематологических, биохимических и иммунологических показателей и более быстром восстановлении их до исходных значений.

3.3.2. Влияние энтеросорбентов на выведение тяжелых металлов из организма животных

Изучение влияния бентонита Биклянского на токсикокинетику свинца и кадмия проведено на белых крысах. Изучение влияния цеолита Майнита на токсикокинетику свинца и кадмия при отдельной и сочетанной интоксикации ими проведено на белых крысах, кроликах и овцах. Для изучения накопления и распределения тяжелых металлов в организме у животных отбирали пробы печени, почек, сердца, а также мышечную и костную ткани.

Ежедневная затравка в течение 30 дней животных свинца ацетатом в дозе 25 мг/кг корма приводила к накоплению металла в организме, при этом наибольшее его содержание отмечалось в костной ткани, почках и печени. К

30 суткам исследований содержание свинца в этих органах превышало фоновые показатели в 3,6; 5,9 и 4,2 раза у кроликов и в 2,3; 3,5 и 5 раз у овец.

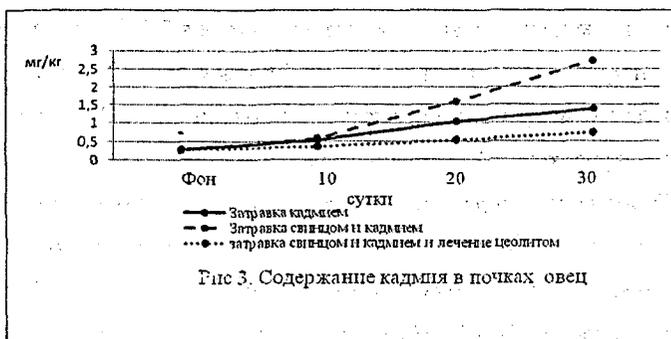
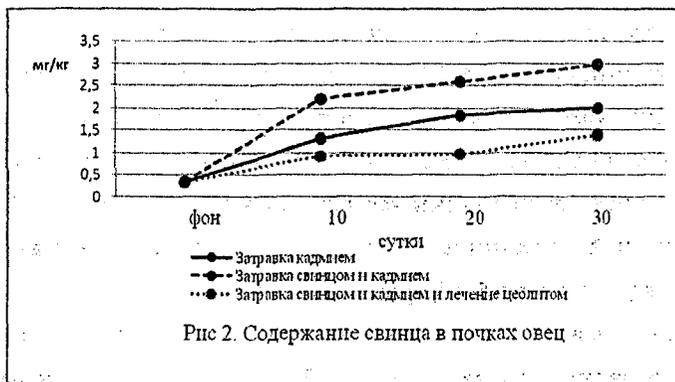
При субхронической затравке животных кадмия хлоридом в дозе 1,5 мг/кг корма отмечалось увеличение содержания металла во всех органах и тканях, с преимущественным накоплением в почках и печени. К 30 суткам исследований содержание кадмия в этих органах превышало фоновые значения у кроликов в 5 и 4,3 раза и у овец в 5,8 и 3,7 раза.

При сочетанной затравке животных свинцом и кадмием в вышеуказанных дозах на протяжении 30 суток содержание свинца в костях, почках и печени превышало фоновые показатели в 5,6; 8,3 и 9,4 раз у крыс; в 4,4; 8,7 и 7,9 раз у кроликов; в 2,7; 5 и 5,6 раз у овец. Содержание кадмия в почках и печени превышало фоновые показатели в 9,6 и 5 раз у крыс; в 9,7 и 5,3 раза у кроликов; в 7,3 и 4 раза у овец.

Применение бентонита в дозе 1% от рациона при сочетанной интоксикации крыс свинцом и кадмием способствовало снижению содержания свинца в костях, почках и печени на 26,4; 17 и 44%; кадмия — в почках и печени на 18 и 26,7% по сравнению с нелечеными животными.

Применение цеолита в дозе 300 мг/кг живой массы при сочетанной интоксикации тяжелыми металлами способствовало снижению содержания свинца по сравнению с нелечеными животными в костях, почках и печени на 33; 47,2 и 62,5% у крыс; на 35; 53,2 и 60,7% у кроликов; на 29; 56 и 57,5% у овец (рис. 2). Содержание кадмия также понижалось в почках и печени на 59,4 и 40% у крыс; на 73,2 и 38% у кроликов; на 68,4 и 44,8% у овец (рис.3).

Добавление в рацион животных цеолита в дозе 300 мг/кг без предварительной затравки тяжелыми металлами способствовало снижению фонового содержания свинца в печени, почках, сердце, мышечной и костной ткани на 21,2; 36,5; 50; 36,4 и 5%. Содержание кадмия в печени, почках, сердце и костной ткани понижалось на 28,6; 30,8; 33,3 и 50%.



Концентрацию тяжелых металлов в крови определяли у овец на 10, 20 и 30 сутки эксперимента. В группе животных, затравленных одновременно кадмия хлоридом и свинца ацетатом, наибольшее накопление тяжелых металлов в крови наблюдалось на 10 сутки исследований. Содержание свинца в этот срок увеличилось в 3,9 раз, кадмия - в 18 раз по сравнению с фоновыми показателями. При этом концентрация свинца была выше на 48,5%, кадмия - на 33,3%, чем у животных при раздельном отравлении этими металлами. На 20 и 30 сутки наблюдали постепенное снижение уровня металлов в крови, что объясняется распределением их по внутренним органам и тканям организма. В группе животных, получавших совместно с солями тяжелых металлов цеолит, содержание свинца в зависимости от срока было в 1,4 - 1,8 раза, кадмия - в 2,5 - 3,6 раз ниже, чем у животных, не получавших сорбент. При добавлении в корм животных цеолита без

предварительной заправки тяжелыми металлами, на 30 сутки наблюдали понижение в крови свинца на 35,7%, кадмия - в 2 раза по сравнению с фоновыми показателями.

Таким образом, в результате исследований было выяснено, что при сочетанном воздействии тяжелых металлов содержание свинца и кадмия в органах и крови было выше, чем при раздельном введении их, что обусловлено, вероятно, потенцированным действием данных металлов. Добавление цеолита оказывало существенное влияние на снижение токсичных элементов во внутренних органах и крови животных.

3.3.3. Патоморфологические изменения в органах при отравлении животных тяжелыми металлами и применении цеолита

При патоморфологическом исследовании у животных, подвергавшихся воздействию тяжелых металлов, наблюдали гемодинамические расстройства в виде кровоизлияний и гиперемий, дистрофические процессы в печени и почках.

При гистологическом исследовании наблюдали следующие изменения. При заправке животных свинца ацетатом в дозе 25 мг/кг корма в печени наблюдалась умеренно выраженная вакуольная и хорошо выраженная зернистая дистрофия, некробиоз отдельных гепатоцитов, кровоизлияния в синусы, признаки регенерации единичных гепатоцитов, гистиолимфоцитарная инфильтрация портальных трактов. В почках и сердце гистоструктуры были без особенностей.

Заправка животных кадмия хлоридом в дозе 1,5 мг/кг корма приводила к нарушению структуры паренхиматозных органов. В почках умеренная зернистая дистрофия с десквамацией верхушек эпителия, в клубочках нарушение строения базальных мембран в виде утолщения, эозинофильные массы в просветах капсул, периваскулярные кровоизлияния в паренхиме. В печени вакуольная дистрофия, очаговая зернистая дистрофия, регенерация единичных гепатоцитов. В сердце признаки очагового межучного

полиэкссудативного миокардита с преимущественной лимфоцитарной инфильтрацией.

При сочетанной заправке животных кадмия хлоридом и свинца ацетатом в вышеуказанных дозах наблюдались изменения гистоструктуры внутренних органов, нарушение проницаемости сосудов с периваскулярными кровоизлияниями в печени, почках, легких. В печени резко выраженная зернистая дистрофия с участками некробиоза и некроза гепатоцитов, балочное строение в дольках нарушалось, синусоиды были расширены. В почках зернистая дистрофия с признаками умеренной десквамации верхушек эпителия извитых канальцев, единичные некробиозы эпителия, в клубочках почек базальные мембраны были утолщены, в просветах капсул имелись небольшие скопления эозинофильных масс. В сердце определялись признаки очагового миокардита с инфильтрацией из лимфоцитов, гистиоцитов, единичных лейкоцитов и эозинофильных масс.

При сочетанной заправке животных кадмия хлоридом, свинца ацетатом и лечения цеолитом в дозе 300 мг/кг живой массы в печени наблюдалась белковая дистрофия гепатоцитов, единичные некробиозы, признаки регенерации клеток. Структура сердца и почек не отличалась от нормы.

4. ВЫВОДЫ

1. Сочетанное пероральное поступление свинца и кадмия в организм животных в течение 30 суток в дозах 25 и 1,5 мг/кг корма соответственно вызывает потенцирование токсического эффекта, которое характеризуется более выраженными изменениями гематологических и биохимических показателей крови, чем при раздельном воздействии токсикантов, и сопровождается снижением у кроликов и овец количества эритроцитов на 31 - 37%, гемоглобина - на 24 - 26%, общего белка - на 21 - 17%, альбуминов - на 24 - 28%, сульфгидрильных групп - на 55 - 54%, неорганического фосфора - на 22 - 28%, кальция - на 26 - 34%, повышением активности ферментов АЛТ, АСТ, ГГТ, ЛДГ, щелочной фосфатазы у овец на 47; 68,5; 82; 40; 90% соответственно.

2. Совместное воздействие свинца и кадмия в течение 30 суток вызывает у животных (кроликов и овец) снижение фагоцитарной активности нейтрофилов на 39 и 40%, фагоцитарного числа – на 63 и 65%, фагоцитарного индекса – на 40 и 39%, фагоцитарной емкости – 43 и 40%, активности лизоцима – на 38 и 36%, а также количества Т-лимфоцитов – на 27 и 23%, В-лимфоцитов – на 22 и 27% соответственно, что значительно больше, чем при раздельном применении токсикантов.

3. При одновременном оральном поступлении свинца и кадмия происходит более существенное накопление в органах животных каждого из токсикантов. При сочетанной заправке овец тяжелыми металлами концентрация свинца была выше в печени, почках и костной ткани на 10, 42 и 16%; кадмия в печени и почках – на 12 и 25 % соответственно, чем при раздельной интоксикации животных этими металлами.

4. Применение бентонита Биклянского месторождения Республики Татарстан с кормом в дозе 1% от рациона снижает содержание свинца в печени, почках и костях белых крыс на 44, 17 и 26%; кадмия – соответственно на 26, 31 и 10%, отодвигает сроки проявления клинических признаков сочетанного воздействия свинца и кадмия, нормализует белковый и минеральный обмен животных, способствует повышению иммунобиологической реактивности организма.

5. Использование цеолита Майнского месторождения Ульяновской области с кормом в дозе 300 мг/кг живой массы снижает содержание свинца в печени, почках и костях кроликов и овец соответственно на 61 и 57%; 53 и 56%; 35 и 29%; кадмия – на 44 и 45%; 73 и 68%; 31 и 35%, нормализует гематологические и биохимические показатели крови, белковый и минеральный обмен, способствует повышению фагоцитарной и лизоцимной активности, оптимизации процентного содержания Т- и В-лимфоцитов.

6. Применение натрия сульфида в дозе 10 мг/кг живой массы с кормом, контаминированным тяжелыми металлами, уменьшает содержание свинца в печени, почках и костной ткани белых крыс и кроликов на 33 и

37%; 11 и 25%; 19 и 28%; кадмия – на 25 и 16%; 41 и 47%; 14 и 15% соответственно, в результате чего снижается токсическое действие ксенобиотиков, нормализуются морфологический и биохимический состав крови.

7. Сочетанное поступление в организм животных свинца ацетата в дозе 25 мг/кг и кадмия хлорида в дозе 1,5 мг/кг в течение 30 дней приводит к выраженным нарушениям гистоструктуры внутренних органов и нарушению проницаемости сосудов с периваскулярными кровоизлияниями в печени и почках. При лечении отравленных животных цеолитом в дозе 300 мг/кг живой массы белковая дистрофия паренхиматозных органов имеет меньшую степень выраженности.

5. ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

1. Для снижения токсического действия кормов, загрязненных соединениями свинца и кадмия, уменьшения накопления токсикантов в органах и повышения естественной резистентности животных рекомендуем вводить в рацион натрия сульфид в дозе 10 мг/кг живой массы, бентонит Биклянский в количестве 1% от рациона или цеолит Майнит в дозе 300 мг/кг живой массы в течение 30 суток с повторением курса при необходимости через 30 суток.

2. Результаты исследований вошли в «Рекомендации по диагностике, лечению и профилактике отравлений животных солями тяжелых металлов и другими токсическими элементами». – М.: ФГНУ «Росинформагротех», 2006. – 34 с.

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Софронова, С.А. Влияние цеолита на токсикокинетику свинца и кадмия при совместном поступлении их в организм животных / С.А. Софронова, Э.К. Папуниди, В.А. Конюхова, В.А. Новиков // «Научный потенциал аграрному производству»: Всероссийская научно – практическая

конференция, посвященная 450-летию вхождения Удмуртии в состав России. – Ижевск, 2008. – Т. 3. – С. 159 – 163.

2. **Софронова, С.А.** Лечебная эффективность натрия сульфида при совместном воздействии кадмия и свинца на животных / **С.А. Софронова** // Токсикозы животных и актуальные проблемы болезней молодняка: Материалы международной научной конференции. – Казань, 2006. – С. 196 – 199.

3. **Конюхова, В.А.** Токсикокинетика свинца и кадмия при сочетанном воздействии их на организм животных / **В.А. Конюхова, С.А. Софронова, В.А. Новиков** // Токсикозы животных и актуальные проблемы болезней молодняка: Материалы международной научной конференции. – Казань, 2006. – С. 133 – 135.

4. **Софронова, С.А.** Влияние натрия сульфида на токсикокинетiku кадмия и свинца при совместном воздействии их на животных / **С.А. Софронова, В.А. Конюхова, А.В. Иванов** // Актуальные проблемы болезней молодняка в современных условиях: Материалы международной научно – практической конференции. – Воронеж: «Истоки», 2008. – С. 242 – 246.

5. **Софронова, С.А.** Влияние цеолитов на биохимические показатели и содержание тяжелых металлов в органах овец при сочетанном воздействии на них свинца и кадмия / **С.А. Софронова, Э.К. Папуниди, Н.М. Ахмерова, В.А. Конюхова** // Ветеринарный врач. – 2008. - №2. – С. 4 – 6.

6. **Софронова, С.А.** Изыскание органических энтеросорбентов для адсорбции тяжелых металлов в опытах *in vitro* / **С.А. Софронова** // Актуальные проблемы ветеринарии: Материалы научно-практической конференции молодых ученых и специалистов. – Казань, 2007. – С. 72 – 73.

7. **Софронова, С.А.** Изучение сорбционных свойств энтеросорбентов на основе растительных полисахаридов при комбинированном отравлении животных свинцом и кадмием / **С.А. Софронова, В.А. Конюхова, Э.И. Семенов, А.В. Канарский** // Фармакологические и экотокологические аспекты ветеринарной медицины:

Материалы научно – практической конференции фармакологов. – Троицк, 2007. – С. 292 – 297.

8. **Софронова, С.А.** Сравнительная оценка эффективности действия природных сорбентов на выведение тяжелых металлов из организма животных / **С.А.Софронова** // Научно – практическая конференция молодых ученых и специалистов «Достижения молодых ученых в производстве», посвященная 100-летию со дня рождения профессора Х.Х. Абдуллина. – Казань, 2008. – С. 93 – 97.

Подписано в печать 30.12.2008.

Сдано в набор 06.01.2009

Заказ № 3

Формат 60×84 1/16. Тираж 100 экз.

Отпечатано в типографии ФГУ «ФЦТРБ – ВНИВИ» (г. Казань)

Адрес: 420075, г. Казань, Научный городок – 2.