

На правах рукописи

**БАРАНОВСКАЯ АНЖЕЛА ТРОФИМОВНА**

**ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ  
ТОКСИКОДИНАМИКИ СОЕДИНЕНИЙ АЛЮМИНИЯ  
У ЖИВОТНЫХ**

16.00.02 – патология, онкология и морфология животных

16.00.04 – ветеринарная фармакология с токсикологией



2009

003486383

Автореферат  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата ветеринарных наук

Омск – 2009

Работа выполнена в Федеральном государственном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Омский государственный аграрный университет»

**Научные руководители:**

доктор ветеринарных наук, профессор  
**Герунова Людмила Карповна**  
кандидат ветеринарных наук, доцент  
**Жабин Николай Петрович**

**Официальные оппоненты:**

доктор биологических наук, профессор  
**Мкртчян Офелия Заветовна**  
доктор ветеринарных наук, профессор  
**Ноздрин Григорий Антонович**

**Ведущая организация:**

Федеральное государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Красноярский государственный аграрный университет»

Защита состоится « 8 » декабря 2009 г. в « 10<sup>00</sup> » часов на заседании диссертационного совета Д.220.050.03 при ФГОУ ВПО «Омский государственный аграрный университет» в институте ветеринарной медицины ОмГАУ по адресу: 644122, г. Омск – 122, ул. Октябрьская, 92, (3812) 23-74-71, тел./факс 23-30-31 (для Н.П. Жабина).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке института ветеринарной медицины Омского ГАУ.

Электронный вариант автореферата и текст объявления о защите диссертации размещены на официальном сайте организации [www.omgau.ru](http://www.omgau.ru)

Автореферат разослан 6 ноября 2009 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета



Н. П. Жабин

## 1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы.** Интерес к изучению токсичности соединений алюминия обусловлен многообразием химических форм алюминия в биосфере, его миграционной способностью в почвенной и водной средах (О. В. Харламова с соавт., 2004).

Наиболее распространенной формой существования алюминия в почвах являются алюмосиликаты. При изменении рН среды в кислую или щелочную сторону происходит высвобождение металла с образованием подвижных миграционных форм и различных соединений, обладающих высокой реакционной способностью (В. А. Филон, 1988).

К масштабным антропогенным источникам появления алюминия в окружающей среде относят горнорудные разработки бокситов, твердые выбросы и сточные воды предприятий различных отраслей промышленности (F. F. Lopez, 2002; Б. И. Сызыныс, 2004).

Основными источниками поступления алюминия в организм человека являются пища, вода, атмосферный воздух, лекарственные препараты, возрастающее использование его соединений в пищевой промышленности - пищевые добавки, упаковочный материал, посуда (Л. Росивал, Р. Энгст, А. Соколай, 1982; W.S. Shu, 2003).

Широкое использование соединений алюминия в ветеринарии в качестве сорбирующих и эрготропных средств, в составе минеральных добавок, фунгицидов и зооцидов (В. М. Субботин и др., 2001) способствует возникновению отравлений животных, а при накоплении в продуктах питания животного происхождения – проникновению в организм человека.

Количество алюминия в тканях у животных увеличивается с возрастом (L. Angelow, 1993; G. Berthon, 2002). Данный микроэлемент также обнаруживается в органах и тканях человека. Наиболее высоким содержанием отличаются мозг, почки, печень, поджелудочная и щитовидная железы (R.V. Martin, 1994).

По этой причине особый интерес представляет изучение способности алюминия накапливаться в органах и тканях животных, обуславливающей соответствующие патоморфологические и гистохимические изменения, что имеет принципиальное значение в токсикологической оценке алюминий-содержащих лекарственных средств и минеральных добавок.

**Цель работы** – с использованием морфологических методов исследований обосновать токсикодинамику и потенциальную опасность для животных алюминийсодержащих препаратов с последующей разработкой способа гистохимического определения алюминия в органах и тканях.

### **Задачи исследований:**

1. Изучить кумулятивные свойства алюминия и вызываемые им патоморфологические изменения в органах и тканях крыс и их потомства.

2. Определить степень выраженности структурных изменений в органах и тканях цыплят при скармливании алюминийсодержащих подкормок.

3. Оценить степень риска трансплацентарных эффектов и аутоиммунных реакций в организме животных при острой и хронической интоксикациях алюминийсодержащими препаратами.

4. Разработать способ гистохимического определения алюминия в органах и тканях животных.

5. С помощью патоморфологических исследований доказать целесообразность применения энтеросорбентов для элиминации алюминия.

**Научная новизна** исследований заключается в разработке способа гистохимического определения алюминия в органах и тканях животных на основе известных аналогов.

Установлены дифференциальные патоморфологические признаки поражения желудочно-кишечного тракта при отравлении животных соединениями алюминия. Обосновано развитие аутоиммунных реакций в крови, печени, почках, селезенке и лимфатических узлах. Выявлены нежелательные трансплацентарные эффекты.

Доказано положительное влияние энтеросорбентов на морфофункциональное состояние органов и тканей при экспериментальной интоксикации гидроксидом алюминия.

**Теоретическая и практическая значимость работы.** Разработан способ гистохимического определения алюминия в органах и тканях животных (патент 2353936 РФ, МПК G 01 N33/84 от 27.04.2009), позволяющий проводить дифференциальную диагностику отравлений соединениями алюминия.

По результатам проведенных исследований изданы методические рекомендации для специалистов ветеринарной службы «Соединения алюминия в сельском хозяйстве: токсикологическая оценка и потенциальная опасность», утвержденные центром научного обеспечения АПК Министерства сельского хозяйства и продовольствия Омской области (протокол № 1 от 21.02.2008). Результаты исследований являются основанием для разработки комплексных диагностических и лечебно-профилактических мероприятий при использовании соединений алюминия в животноводстве.

**Апробация результатов научных исследований.** Основные материалы диссертационной работы доложены и одобрены на научных конференциях преподавателей и аспирантов ОмГАУ (Омск, 2005; 2006; 2007 гг.), 2-й Международной межвузовской научно-практической конференции аспирантов и соискателей (Санкт-Петербург, 2004), конференции молодых ученых, посвященной 75-летию УГАВМ (Троицк, 2005), Международной научно-практической конференции, посвященной 100-летию со дня рождения Заслуженного деятеля науки РСФСР, доктора ветеринарных наук, профессора, академика ВАСХНИЛ Я. Р. Коваленко (Москва, 2006), Международной научно-практической конференции, посвященной 100-летию со дня рождения профессора А. А. Авророва (Воронеж, 2006), Международной научно-практической конференции, посвященной 60-летию ГМУ «Краснодарский НИВИ» (Краснодар, 2006).

### **Основные положения диссертации, выносимые на защиту:**

1. В токсикодинамике соединений алюминия преобладают нарушения структуры и функции желудочно-кишечного тракта с развитием воспалительных, дистрофических и некробиотических изменений в центральной нервной системе и паренхиматозных органах без выраженной зависимости от уровня накопления металла в органах и тканях.

2. Развитие аутоиммунных процессов в крови, внутренних органах и лимфатических узлах свидетельствует об участии иммунной системы в реализации механизмов токсического действия соединений алюминия.

3. Трансплацентарные эффекты алюминия проявляются нарушением внутриутробного развития и снижением жизнеспособности потомства у крыс.

4. Энтеросорбенты полисорб ВП и зоокарб снижают содержание алюминия в органах и тканях, нивелируя при этом патоморфологические изменения в организме животных.

**Публикация результатов исследований.** Основные положения диссертации изложены в 8 научных публикациях, в том числе одна статья опубликована в рецензируемом научном журнале, определенном ВАК РФ.

**Объем и структура диссертации.** Диссертация изложена на 174 страницах компьютерного текста и включает разделы: введение, обзор литературы, собственные исследования, обсуждение полученных результатов, заключение, выводы и практические рекомендации. Работа иллюстрирована 4 таблицами, 52 рисунками. Список литературы включает 155 источников, в том числе 75 иностранных авторов.

## **2. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ**

### **2.1. Материал и методы исследований**

Тема диссертационной работы является самостоятельным разделом плановой научно-исследовательской работы института ветеринарной медицины Омского государственного аграрного университета «Фармакотоксикологическая оценка новых лекарственных средств и пестицидов» (номер государственной регистрации № 01.2.00103080).

Экспериментальная работа выполнена в лабораториях кафедр анатомии, цитологии, гистологии и эмбриологии домашних животных; внутренних незаразных болезней, фармакологии и токсикологии ОмГАУ в период с октября 2004 года по июнь 2007 года.

Исследования проведены на 35 лабораторных белых мышах, 320 лабораторных беспородных крысах и 152 цыплятах породы ломан браун в возрасте 20-60 суток. Крыс и мышей содержали в специальном помещении

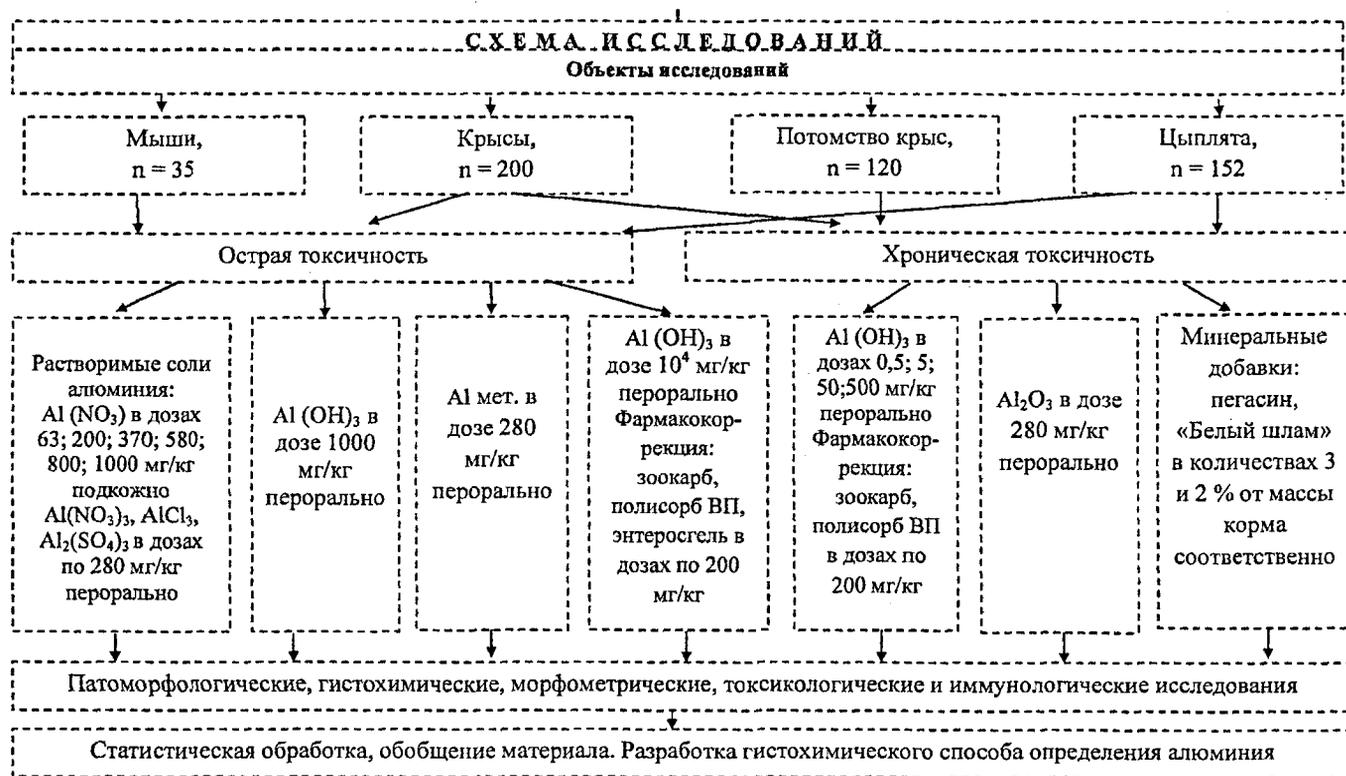


Рисунок 1 – Общая схема открытого, проспективного, нерандомизированного, контролируемого исследования

кафедры, их кормление осуществляли согласно нормам рациона для лабораторных животных (Г. Е. Батрак, А. М. Кудрин, 1979). Цыплят также содержали в помещении кафедры, их кормление осуществляли согласно нормам и рационам кормления сельскохозяйственной птицы.

За подопытными животными вели систематическое наблюдение. За две недели перед началом каждого опыта проводили клиническое обследование по общепринятой методике: у крыс определяли массу, отмечали их общее клиническое состояние (подвижность, аппетит, цвет видимых слизистых оболочек). В опытах использовали только клинически здоровых, подобранных по принципу аналогов животных. Схема опытов представлена на рис. 1.

Эвталазию животных осуществляли в соответствии с Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (2003).

Патологоанатомическое исследование павших и убитых в ходе экспериментов животных проводили по общепринятой методике с регистрацией патологических изменений и взвешиванием органов. Патологический материал фиксировали в 4% нейтральном растворе формальдегида, жидкости Карнуа и холодном ацетоне (+4°C) (В.Г. Елисеев, 1967; Г.А. Меркулов, 1969). Срезы получали с парафиновых и замороженных блоков на ротационном микротоме.

Для изучения общей гистоморфологической картины срезы окрашивали гематоксилином и эозином, а также по Ван-Гизону. Гистохимические исследования проводили общепринятыми методами, приведенными в руководствах Г.А. Меркулова (1969), Э. Пирса (1962), Р. Лилли (1969), А.И. Кононского (1976), В.Г. Елисеева с соавт. (1967). Нуклеиновые кислоты (ДНК и РНК) выявляли галлоцианин-хромовыми квасцами по Эйнарсону. Общие и кислые белки определяли по методу Микель-Кальво, общие липиды – суданом черным В по Лизону, нейтральные жиры – суданом III по Геркстгеймеру. Гликоген и нейтральные гликозаминогликаны (нейтральные ГАГ) выявляли ШИК-реакцией по методу Шабадша, кислые гликозаминогликаны (кислые ГАГ) – альциановым синим по Стивену, сульфатированные гликозаминогликаны (сульфатированные ГАГ) – основным коричневым по Шубичу.

Определение остаточных количеств алюминия в органах и тканях животных проводили при участии кандидата биологических наук О.Е. Бдюхиной, используя спектрофотометрический метод определения алюминия с эриохромцианином R в биологических объектах (Л.К. Герунова, О.Е. Бдюхина, 2005) и разработанный нами гистохимический метод.

Для выявления аутоиммунных реакций использовали метод «свободной суспензии» по Каннингему в модификации Н.Н. Клемпарской, позволяющий обнаруживать клетки, образующие зоны локального гемолиза в препаратах с цитратной кровью того же животного. Данный метод является чувствительным тестом для выявления состояния аутосенсбилизации.

Статистическую обработку результатов исследований осуществляли на персональном компьютере IBM PC с использованием параметрического t- критерия Стьюдента и пакета программ EXCEL (М. Додж и др., 1997).

## **2.2. Патоморфологическая характеристика токсикодинамических эффектов соединений алюминия в организме лабораторных животных**

Острое отравление лабораторных белых мышей раствором нитрата алюминия при подкожном введении в дозах 63, 200, 370, 580, 800 и 1000 мг/кг в пересчете на алюминий клинически характеризовалось угнетением центральной нервной системы и язвенно-некротическими поражениями тканей в местах введения раствора.

Степень выраженности патоморфологических изменений в месте инъекции зависела от введенной дозы. В местах введения кожный покров и мышечная ткань были некротизированы. При гистологическом исследовании установлено, что при подкожном введении отмечаются гиперплазия и изъязвление эпидермиса. В ороговевающем слое наблюдали отложение алюминия, который окрашивался алюминоном в ярко-красный цвет. В мышечной ткани в местах введения нитрата алюминия в максимальной дозе отмечали очаги коагуляционного некроза с воспалительной реакцией. Волокна мышечной ткани плохо окрашивались, утрачивали характерную исчерченность, ядра фрагментировались и не окрашивались.

При внутрижелудочном введении раствора нитрата алюминия в дозе 280 мг/кг массы тела в пересчете на алюминий отмечали гибель 50 % опытных животных.

Вскрытие павших животных показало ярко выраженную инъекцию сосудов плевры и брюшины. В грудной полости отмечали скопление кровянистого экссудата, в паренхиматозных органах — острую застойную гиперемию, в желудочно-кишечном тракте — метеоризм. При микроскопическом исследовании установлены дистрофические изменения слизистой оболочки желудка. Эпителиоциты были уплощены, граница между ними отсутствовала, ядра в состоянии пикноза. В местах десквамации эпителия наблюдали эрозии, базальная мембрана при этом была обнажена. Собственный слой слизистой оболочки отечен и инфильтрирован лимфоцитами.

При исследовании кишечника отмечали уплощение клеток эпителия, местами — атрофию. При гистологическом исследовании печени животных наблюдали дезорганизацию в строении долек и потерю балочной структуры, площадь поперечного сечения синусоидов возрастала, что наиболее ярко выражено в сосудах, локализованных вокруг центральной вены. Паренхима находилась в состоянии жировой дистрофии, площадь гепатоцитов у крыс достоверно увеличивалась по сравнению с контрольными показателями (табл. 1).

В селезенке выявляли расширение и переполнение кровеносных сосудов, деструктивные изменения клеток пульпы. При микроскопическом исследовании срезов почек отмечали кровоизлияния в мозговом веществе, почечные клубочки были сжаты, просветы извитых канальцев сужены.

Таблица 1 – Морфометрические показатели печени крыс при острой интоксикации солями алюминия, n=120

Зоны печеночной дольки:	Показатели:		
	площадь ядер гепатоцитов, мкм <sup>2</sup>	площадь гепатоцитов, мкм <sup>2</sup>	площадь поперечного сечения синусоидов, мкм <sup>2</sup>
1-я группа – контрольная			
Центральная	10,17 ± 1,11	164,16 ± 10,64	65,47 ± 6,76
Промежуточная	9,17 ± 1,51	149,21 ± 4,94	63,57 ± 4,35
Перипортальная	9,13 ± 1,31	142,13 ± 1,13	64,13 ± 6,23
2-я группа – Al(NO <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>			
Центральная	12,16 ± 1,78	266,02 ± 9,39**	142,36 ± 7,31**
Промежуточная	11,92 ± 1,31	248,11 ± 7,21**	135,13 ± 6,51**
Перипортальная	11,39 ± 1,59	193,41 ± 4,22**	102,76 ± 6,98**
3-я группа – AlCl <sub>3</sub>			
Центральная	11,14 ± 1,43	198,23 ± 7,48**	157,14 ± 6,97**
Промежуточная	12,24 ± 1,42	200,46 ± 8,65**	105,43 ± 5,87**
Перипортальная	11,45 ± 1,13	210,15 ± 7,76**	132,54 ± 6,98**
4-я группа – Al <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub>			
Центральная	11,65 ± 1,43	178,56 ± 7,43**	97,51 ± 6,59**
Промежуточная	12,15 ± 1,54	182,87 ± 7,54**	92,15 ± 6,49**
Перипортальная	11,32 ± 1,39	188,53 ± 8,52**	94,28 ± 6,14**

Примечание: \* - P ≤ 0,05, \*\* - P ≤ 0,01

Для исключения токсического влияния нитрат-иона животные опытных групп были интоксигированы хлоридом и сульфатом алюминия в дозах по 280 мг/кг в пересчете на алюминий. Результаты патологоанатомического исследования животных были аналогичны описанному выше.

При окраске срезов органов с целью выявления алюминия разработанным нами гистохимическим способом с помощью ауристрикарбоновой кислоты (алюминона) металл обнаруживали в виде красных включений в определенных участках желудка. Максимальное накопление алюминия отмечали в подслизистой основе слизистой оболочки.

С помощью спектрофотометрического метода установлено, что в печени концентрация алюминия возрастала в 3,15 раз, почках – в 1,49 раз, сердце – в 3,34 раза, головном мозге – в 5,93 раза, селезенке – в 6,12 раз и лёгких – в 2,23 раза по сравнению с контролем (рис.2).

Характер токсикокинетических кривых при однократном введении в организм крыс гидроксида алюминия представлен на рис.3.

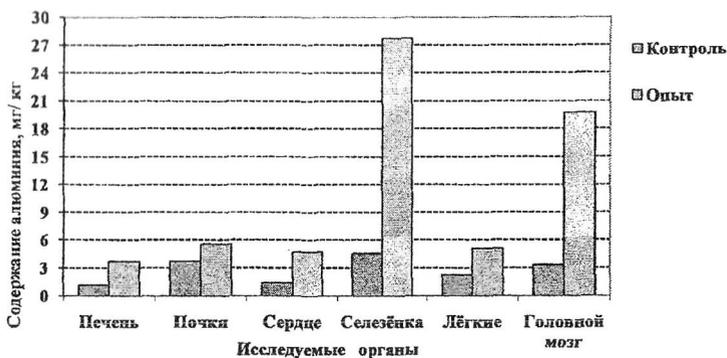


Рисунок 2 – Содержание алюминия в органах крыс через 72 часа после перорального введения нитрата алюминия в дозе 280 мг/кг.

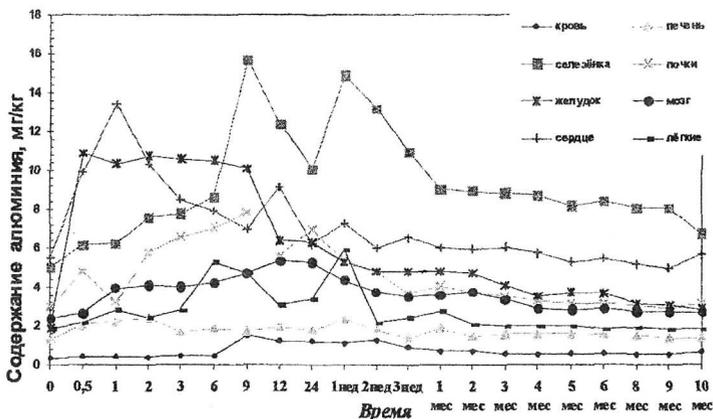


Рисунок 3 – Содержание алюминия в органах и тканях при однократном введении крысам гидроксида алюминия в дозе 1000 мг/кг

Выборочный убой и периодические патоморфологические исследования в ходе эксперимента показали, что патологоанатомическая картина является отражением кумуляционных свойств алюминия и развивающихся аутоиммунных процессов. Первоначально развившиеся изменения с течением времени прогрессировали, не имея прямой связи с накоплением металла в отдельных органах. Отличительной особенностью патоморфологических изменений через 3 месяца после начала опыта было появление пигментации по

ходу кровеносных сосудов на серозной оболочке ободочной кишки. В желудке отмечали эктазии с образованием дивертикулов.

Многопиковый характер кривых, характеризующих токсикокинетику алюминия, не соответствует в полной мере прогрессирующим патоморфологическим изменениям, что указывает на высокую степень риска аутоиммунных процессов в органах и тканях.

Хроническая интоксикация крыс гидроксидом алюминия в дозе 500 мг/кг характеризовалась дистрофическими изменениями слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта, дистрофическими и некробиотическими изменениями в паренхиматозных органах с увеличением количества лимфоцитарных инфильтратов. Курсовое введение энтеросорбентов зоокарба и полисорба ВП в дозах по 200 мг/кг способствовало снижению уровня алюминия в крови и органах и нивелировало токсические эффекты.

### **2.3 Трансплацентарные эффекты соединений алюминия**

Потомство крыс, получавших БШ в дозе 500 мг/кг, при рождении имело массу выше контрольного показателя. Однако через неделю и до окончания эксперимента этот показатель в опытной группе был достоверно ниже массы интактных крысят. Большая голова, маленькое туловище и длинные конечности указывали на нарушение пропорций телосложения.

При вскрытии отмечали, что почки увеличены, корковое вещество бледно-серого цвета сливалось с мозговым. При микроскопическом исследовании установлено, что клетки эпителия извитых канальцев находятся в состоянии дистрофии, большая часть клеток подвержена некротическим изменениям. Сердце резко увеличено в объеме, верхушка его закруглена. На гистопрепаратах мышечные волокна утолщены, поперечная исчерченность их частично утрачена. Печень дряблая, тестоватая, окраска ее неравномерная – от желто-коричневого цвета до темно-красного. При микроскопическом исследовании отмечали нарушение балочной структуры органа. Стенки желудка уплотнены, на всем протяжении кишечника отмечается увеличение солитарных фолликулов и пейеровых бляшек. Брыжеечные лимфоузлы увеличены.

Аналогичные изменения были обнаружены у крысят от самок, получавших металлический алюминий и оксид алюминия в дозах по 280 мг/кг. Патоморфологическую картину внутриутробной интоксикации металлическим алюминием дополняли признаки выраженного отека головного мозга.

### **2.4 Развитие аутоиммунных процессов в организме крыс при интоксикации**

Интоксикация соединениями алюминия сопровождалась увеличением содержания бляшкообразующих клеток в крови, лимфатических узлах, печени, почках и селезенке. Энтеросорбенты полисорб ВП и зоокарб снижали интенсивность аутоиммунных процессов (табл.2).

Таблица 2 – Процентное содержание бляшкообразующих клеток в крови и органах крыс, при интоксикации соединениями алюминия и энтеросорбции, n= 60

Группы:	Объекты исследования:				
	кровь	лимфатические узлы	печень	селезенка	почки
Контрольная	4,6±0,3	4,6±0,4	3,8±0,14	4,9±0,15	3,2±0,44
Острая интоксикация					
Al(OH) <sub>3</sub>	7,5±0,1**	11,1±0,58**	12,3±0,71**	7,0±0,28*	11,8±0,9**
Al(NO <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>	10,0±0,8**	11,4±0,66**	13,3±0,52**	13,8±0,6**	6,4±2,0
AlCl <sub>3</sub>	9,4±0,71**	9,0±0,54**	11,5±0,43**	13,6±0,5**	9,0±1,4**
Al <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub>	7,4±0,51*	9,1±0,31**	9,5±0,14**	7,3±0,65	12,5±0,5**
Хроническая интоксикация					
Al(OH) <sub>3</sub>	12,6±0,5**	9,5±0,85**	9,8±1,73**	10,9±2,8*	8,6±0,4**
Al(OH) <sub>3</sub> + полисорб	8,3±0,68 <sup>1</sup>	7,5±0,6	9,8±0,56	10,2±1,3	6,4±0,7
Al(OH) <sub>3</sub> + зоокарб	8,1±0,34 <sup>1</sup>	7,6±0,84	8,7±0,8	10,5±0,65	6,8±1,09

Примечание: \* -  $P \leq 0,05$ ; \*\* -  $P \leq 0,01$  - достоверно по отношению к контролю; <sup>1</sup> -  $P \leq 0,05$  - достоверно по отношению к хронической интоксикации Al(OH)<sub>3</sub>.

Данные таблицы свидетельствуют о том, что соединения алюминия вызывают развитие аутоиммунных процессов в организме животных. При хронической интоксикации гидроксидом алюминия бляшкообразующие клетки появляются раньше при выдерживании проб в термостате, размеры их крупнее, чем в остром опыте, наибольшее количество бляшек отмечается в крови и селезенке. Энтеросорбция снижает интенсивность аутоиммунных процессов, что подтверждает уменьшение количества бляшкообразующих клеток.

## 2.5 Разработка способа гистохимического определения алюминия в органах и тканях животных

Выявление алюминия в органах и тканях по Ирвину с аурином свидетельствовало об отсутствии избирательности метода. Ионы железа (III), всегда присутствующие в органах и тканях, также окрашивались в красный цвет, что являлось причиной недостоверной информации о наличии алюминия.

С целью повышения селективности метода образцы тканей и органов фиксировали в 5% нейтральном растворе формальдегида, готовили парафиновые срезы и доводили их до воды. Затем обрабатывали срезы 3% раствором аскорбиновой кислоты. Перед окраской в 2%-ном растворе алюминона срезы выдерживали в буфере с pH 5,2. Окрашивали при

температуре 75°C в течение 5-15 мин на водяной бане, затем быстро споласкивали в холодной дистиллированной воде, дифференцировали в растворе, состоящем из 3,6 частей буфера и 10 частей 1,6 М  $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$  (рН 7,2), снова споласкивали в дистиллированной воде и докрасивали 0,1 % раствором метилсенового синего. Обезжовывали в спиртах, просветляли в ксилоле и заключали в балзам. При обработке гистологических срезов 3% раствором аскорбиновой кислоты ионы Fe (III) восстанавливались до Fe (II) и не окрашивались ауриптирикарбоновой кислотой, что повышало избирательность и достоверность метода. Окраска на водяной бане способствовала лучшей сохранности срезов на предметных стеклах. Выделение буфера в самостоятельный раствор и предварительная обработка им тканей перед окрашиванием раствором ауриптирикарбоновой кислоты способствовали созданию оптимальной рН среды для окрашивания срезов.

Разработанный нами метод был использован для определения алюминия в органах и тканях экспериментальных животных.

## **2.6 Патоморфологическая характеристика токсикодинамических эффектов соединений алюминия в организме цыплят**

### **2.6.1. Патоморфологические и гистохимические изменения у цыплят при использовании в рационе алюминийсодержащих минеральных добавок**

Для проведения опытов были выбраны природный цеолит пегасин и минеральная добавка белый шлам (БШ). Указанные минеральные добавки были подвергнуты химическому анализу методом рентгено-флуоресцентной спектроскопии с целью определения в них содержания алюминия. В пегасине оно составило 13,35%, в белом шламе – 17,5% в пересчете на оксид алюминия.

В основной рацион цыплятам вводили белый шлам в количестве 2% и пегасин в количестве 3% от массы корма. После тщательного перемешивания корм задавали два раза в сутки в течение одного месяца. Количества минеральных добавок были определены в соответствии с инструкциями и рекомендациями, утверждёнными в соответствующем порядке. Выборочный убой и вскрытие птиц проводили через две и четыре недели после начала опыта.

У цыплят, получавших пегасин, через две недели после начала опыта изменения в желудке указывали на функциональные расстройства. Слизистая оболочка имела нормальную толщину и обычный тип строения. Отмечалось лишь повышенное количество секрета на поверхности и изменение рельефа слизистой оболочки. Эпителиоциты имели характерную форму, цитоплазма их однородная, границы клеток выражены отчетливо. Подслизистая основа в состоянии отека, в результате чего происходило увеличение пространства между железами и отслоение поверхностного эпителия. Местами в просвете желез отмечали фрагменты десквамированных клеток. Карбоксилированные гликозаминогликаны интенсивно выявлялись на поверхности слизистой

оболочки. Сульфатированные гликозаминогликаны удавалось обнаружить только на апикальной поверхности эпителиоцитов простых трубчатых желез.

Слизистая оболочка мышечного желудка сохраняла поверхностный роговой слой. В эпителиоцитах местами отмечали нарушение целостности апикальной поверхности, изменение тинкториальных свойств цитоплазмы. Карбоксилированные гликозаминогликаны выявлялись в кутикуле, непосредственно у поверхности слизистой оболочки, сульфатированные гликозаминогликаны – в цитоплазме эпителиоцитов.

В двенадцатиперстной кишке выражен полиморфизм ворсинок. Клетки поверхностного эпителия местами плоские, с атипичным расположением ядра. Карбоксилированные гликозаминогликаны выявлялись в секрете бокаловидных клеток, на щеточной каемке эпителия крипт и ворсинок.

При исследовании печени цыплят отмечали, что размеры гепатоцитов варьируют. Цитоплазма их эозинофильная, со светлыми вакуолями различных размеров. Ядра клеток светлые, базофильные, с четким ядрышком. В некоторых клетках ядра отсутствуют или имеют пикнотическую деформацию. Выражена диффузная и мелкоочаговая инфильтрация паренхимы печени лейкоцитами.

Через четыре недели в железистом желудке наблюдали нарушение секреторной функции и дистрофические изменения в клетках. Секреторная активность glanduloцитов варьировала, в собственном слое слизистой оболочки – отек и полиморфноклеточная инфильтрация, расширение кровеносных капилляров.

Слизистая оболочка мышечного желудка не имела непрерывной выстилки затвердевшего секрета желез. В эпителиоцитах апикальной части желез прослеживались дистрофические изменения, а также воспалительно-клеточная инфильтрация соединительнотканых прослоек.

В двенадцатиперстной кишке отмечали повышенную десквамацию кишечного эпителия с обнажением базальной мембраны. Слизистая оболочка утолщена, соотношение длины ворсинок и крипт нарушено за счет укорочения ворсинок. Призматические клетки приобретали уплощенную форму, печеткие контуры. Наблюдалось увеличение количества бокаловидных клеток. Ядра эпителиоцитов были в состоянии пикноза.

В печени под капсулой появились кровоизлияния, а паренхима печени приобрела желто-коричневый цвет. При этом было выражено атипичное строение печеночных балок.

У цыплят опытной группы, в рацион которых добавляли белый шлам, морфологические изменения проявлялись раньше и имели более выраженный характер.

В железистом желудке отмечали дистрофические изменения. На поверхностном эпителии – обилие слизи. В мышечном желудке цыплят были отмечены признаки дистрофии и некроза поверхностного эпителия слизистой оболочки, а также воспалительно-клеточная инфильтрация соединительнотканых прослоек.

При исследовании двенадцатиперстной кишки выявляли патоморфологические изменения эпителия ворсинок и собственного слоя

слизистой оболочки. Отмечалась десквамация дистрофически измененного эпителия. У основания ворсинок и в криптах наблюдали увеличение количества бокаловидных клеток с усиленной секрецией.

В печени ярко выраженная гиперемия. Стенки кровеносных сосудов утолщены, просветы заполнены эритроцитами. Гепатоциты полигональной формы, цитоплазма пенистая и мелкозернистая. Отмечались околососудистые клеточные инфильтраты и некротические очаги в месте расположения триад. При гистохимическом исследовании отмечали резкое снижение содержания гликогена, общего белка и нуклеиновых кислот в гепатоцитах. При окраске суданом III выявляли очаговые скопления крупных капель жира.

Наиболее интенсивное накопление алюминия отмечали в органах цыплят, получавших минеральную подкормку белый шлам. В течение первых двух недель эксперимента у них статистически достоверно увеличилась концентрация алюминия в крови, костях, желудке и стенках зоба. Уровень накопления металла в крови превысил контрольный показатель почти в 2 раза.

Через четыре недели тенденция к увеличению концентрации алюминия в органах сохранялась. В крови алюминия было определено в 3,06 раз больше, чем в контрольной группе. Если через две недели после начала опыта в бедренных костях цыплят, получавших белый шлам, алюминия было больше на 18,5% по сравнению с контролем, то к концу эксперимента этот показатель увеличился до 21,5%.

В группе цыплят, получавших пегасин, к концу эксперимента содержание алюминия статистически достоверно увеличилось в следующих органах: в сердце – на 8,9%, в селезенке – на 12,5%, в стенках зоба – на 26,7%. В бедренных костях цыплят этой группы также отмечено, хотя и статистически недостоверное, увеличение количества алюминия: к концу второй недели – на 6,3%, к концу четвертой недели – на 9,4% по сравнению с контролем.

В мышцах цыплят контрольной группы содержание алюминия не изменялось на протяжении всего эксперимента, у цыплят опытных групп этот показатель к концу опыта увеличился: в группе, получавшей пегасин, – на 12,6%; в группе, получавшей белый шлам, – на 16,2%.

Таким образом, результаты исследований подтверждают кумулятивные свойства соединений алюминия, входящих в состав минеральных добавок.

### **2.6.2 Патоморфологический контроль корректирующих эффектов энтérosорбентов при остром отравлении гидроксидом алюминия**

В данной серии опытов экспериментальной моделью служили цыплята породы ломан браун, которые были объединены в пять групп по 5 голов. Первая группа цыплят получала стандартный рацион и служила контролем. Цыплятам остальных групп вводили гидроксид алюминия в дозе 10 г/кг в объеме 2мл через зонд однократно. Через неделю у цыплят опытных групп отмечали агрессивное поведение. С появлением указанных признаков второй группе цыплят начали давать зоокарб, третьей – полисорб ВП, четвертой –

энтеросгель. Все сорбенты вводили ежедневно однократно в дозах по 200 мг/кг в течение двух недель.

При вскрытии птиц отмечали следующие патологоанатомические изменения: подкожная клетчатка и мышечная ткань в состоянии обезвоживания, в брюшной полости – скопление серозной жидкости, на слизистой оболочке зоба – кровоизлияния. Железистый желудок переполнен кормовыми массами. Прямая кишка (клоака) увеличена, в диаметре достигает 3-4 см. Все сосуды кишечника инъецированы. Печень увеличена, гиперемирована. В селезенке отмечаются точечные кровоизлияния. Почки набухшие, сердце увеличено. Мозг отечен.

После применения энтеросорбентов на слизистой оболочке зоба отмечали незначительное количество белого налета. Слизистая оболочка железистого и мышечного желудков имела нормальную толщину и обычный тип строения. Отмечали лишь повышенное количество секрета на поверхности и изменение рельефа слизистой оболочки. В кишечнике выявляли катаральное воспаление. Эпителий ворсинок был складчатым. Эти морфологические признаки следует рассматривать как проявление функциональных расстройств желудка и кишечника. Печень неравномерно окрашена, с характерным рисунком. У отдельных животных отмечали точечные кровоизлияния. При гистологическом исследовании установлено, что гепатоциты различной формы, граница между ними выражена отчетливо. Цитоплазма имеет пенистый вид. Ядра крупные. При гистохимическом исследовании наблюдали снижение содержания нуклеиновых кислот, белка и гликогена в гепатоцитах.

После проведения энтеросорбции токсический эффект гидроксида алюминия снижался. Максимальную элиминацию алюминия обеспечивал энтеросорбент углеродный зоокарб.

## **ВЫВОДЫ**

1. Соединения алюминия обладают политропным действием на организм животных при отсутствии прямой зависимости патоморфологических изменений от уровня накопления металла в органах и тканях.

2. Однократное подкожное введение солей алюминия вызывает язвенно-некротические изменения кожного покрова и мышечной ткани с отложением алюминия в ороговевающем слое кожи. При пероральном введении развиваются дистрофические и язвенные поражения желудочно-кишечного тракта, жировая дистрофия печени, выраженные сосудистые расстройства.

3. Хроническая интоксикация крыс и цыплят гидроксидом алюминия характеризуется дистрофическими изменениями слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта с образованием дивертикулов и развитием эктазий. В паренхиматозных органах преобладают дистрофические и некробиотические изменения с увеличением количества лимфоцитарных инфильтратов. Введение в рацион алюминийсодержащих подкормок вызывает у животных и птиц аналогичные, но менее выраженные изменения.

4. При острой и хронической интоксикациях крыс гидроксидом алюминия содержание бляшкообразующих клеток увеличивается в крови на  $7,5 \pm 0,1\%$  и

12,6±0,57 %, лимфатических узлах – на 11,1±0,58% и 9,5±0,85 %, печени – на 12,3±0,71 % и 9,8±1,73 %, почках – на 11,8±0,9 % и 8,6±0,4 %, селезенке – на 7,0±0,28 % и 10,9± 2,84 % соответственно, что указывает на провокацию аутоиммунных процессов.

5. Введение соединений алюминия и алюминийсодержащей минеральной подкормки «Белый шлам» в организм беременных и лактирующих крыс вызывает развитие белковой и жировой дистрофий в паренхиматозных органах самок и крысят, увеличение солитарных фолликулов и пейеровых бляшек в кишечнике, застойную гиперемию и отек головного мозга у потомства. Накопление алюминия в органах и тканях крысят сопровождается нарушением их развития и снижением жизнеспособности.

6. Энтеросорбенты полисорб ВП и зоокарб способствуют элиминации алюминия, снижают интенсивность аутоиммунных процессов и нивелируют патоморфологические изменения в органах и тканях животных. В печени при применении зоокарба содержание алюминия снижается на 14,7 %, при применении полисорба – на 12,1 %, в почках – на 45,1% и 35,24 %, сердце – на 20,6 % и 19,7 %, селезенке – на 50,9 % и 34,1 % соответственно.

7. Разработанный способ гистохимического определения алюминия в органах и тканях животных позволяет выявить алюминий в гистосрезах как подтверждение его этиологической роли в интоксикации.

## **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

1. Предложен способ гистохимического определения алюминия в органах и тканях для посмертной диагностики отравлений животных соединениями алюминия и контроля его содержания в продуктах животного происхождения при использовании в рационе животных подкормок и ветеринарных препаратов на основе соединений алюминия (пат. 2353936 РФ, МПК G 01 N 33/84 от 27.04.2009).

2. Изданы методические рекомендации для специалистов ветеринарной службы «Соединения алюминия в сельском хозяйстве: токсикологическая оценка и потенциальная опасность», одобренные Центром научного обеспечения АПК Министерства сельского хозяйства и продовольствия Омской области (протокол № 1 от 21.02.2008).

3. Материалы диссертационной работы могут быть использованы при чтении лекций и проведении практических занятий со студентами по курсу патологической анатомии и токсикологии, а также при составлении учебных и методических пособий.

## **СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

1. Барановская А.Т. Влияние соединений алюминия на морфологию некоторых органов и тканей / А.Т. Барановская // Материалы II науч.-практ. конф. аспирантов и соискателей « Предпосылки и эксперимент в науке». – СПб, 2004. – С. 57 – 58.

2. Барановская А.Т. Морфологические изменения печени крыс при хронической гипоксикации гидроксидом алюминия и на фоне применения сорбентов / А.Т. Барановская // Ветеринария Сибири. – № 12. – Новосибирск, 2006. – С. 53 – 54.

3. Барановская А.Т. Влияние алюмосиликатов в составе заменителя сухого молока на организм крыс в эксперименте / А.Т. Барановская, О.Е. Бдюхина // Перспективные направления научных исследований молодых ученых: материалы IX науч.-практ. конференции. – Троицк, 2005. – С. 52– 54.

4. Герунова Л.К. Накопление алюминия в органах и тканях цыплят при использовании алюминийсодержащих добавок/ Л.К. Герунова, Н.П. Жабин, А.Т. Барановская, О.Е. Бдюхина // Актуальные проблемы инфекционной патологии и иммунологии животных: материалы Международной науч.-практ. конференции – М., 2006. – С. 541– 543.

5. Герунова Л.К. Патоморфологический контроль энтеротропных эффектов соединений алюминия / Л.К. Герунова, Н.П. Жабин, А.Т. Барановская // Актуальные проблемы ветеринарной патологии и морфологии животных: материалы Международной научн.-производ. конференции. – Воронеж, 2006. – С. 88 – 90.

6. Барановская А.Т. Морфологическая характеристика токсических эффектов соединений алюминия и коррекция их зоокарбом / А.Т. Барановская // Актуальные проблемы ветеринарии в современных условиях: материалы Международной науч.-практ. конференции, посвященной 60-летию ГМУ Краснодарского НИВИ. – Краснодар, 2006. – С. 31 – 32.

7. Герунова Л. К. Патоморфологические изменения у цыплят при скармливании минеральных добавок, содержащих алюминий / Л.К. Герунова, Н.П. Жабин, А.Т. Барановская, О.Е. Бдюхина // Сельскохозяйственная биология № 4 июль- август, 2007г. – М., 2007. – С. 104 – 107.

8. Методические рекомендации для специалистов ветеринарной службы «Соединения алюминия в сельском хозяйстве: токсикологическая оценка и потенциальная опасность» / Л.К. Герунова, Н. П. Жабин, А.Т. Барановская, О.Е. Бдюхина // Омск.: Диалог, 2009. – 24 с.

БАРАНОВСКАЯ АНЖЕЛА ТРОФИМОВНА

ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ ТОКСИКОДИНАМИКИ  
СОЕДИНЕНИЙ АЛЮМИНИЯ У ЖИВОТНЫХ

16.00.02 – патология, онкология и морфология животных

16.00.04 – ветеринарная фармакология с токсикологией

Автореферат  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата ветеринарных наук

---

Подписано в печать 05.10.2009.

Формат 60x84 1/16. Гарнитура Times New Roman.

Усл. печ. л. 1,0. Печать оперативная. Тираж 100 экз.

Отпечатано с оригинал-макета в типографии «Вариант-Омск»  
644043, г. Омск, ул. Фрунзе, 1, корп.3. Тел./ факс: 211-600