

На правах рукописи

ГОНОХОВА МАРИНА НИКОЛАЕВНА

**ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА
НЕФРОТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ КАДМИЯ, НИКЕЛЯ И ЦИНКА
НА ОРГАНИЗМ ЖИВОТНЫХ**

16.00.02 – патология, онкология и морфология животных

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата ветеринарных наук



003467693

Омск – 2009

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

Научный руководитель: доктор ветеринарных наук, профессор
Герунов Владимир Иванович

Официальные оппоненты: доктор биологических наук, профессор
Мкртчян Офелия Завсеновна
доктор ветеринарных наук, профессор
Жуков Владимир Михайлович

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

Защита состоится « 9 » апреля 2009 г. в « 11⁰⁰ » 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, тел. 24-15-35, 23-74-71, тел./факс 23-30-31 (для Н.П. Жабина).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке института ветеринарной медицины ФГОУ ВПО «Омский государственный аграрный университет» и на официальном сайте www.omgau.ru

Автореферат разослан « 4 » марта 2009 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета



Н. П. Жабин

1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Широкое применение соединений тяжелых металлов в промышленности и сельском хозяйстве с последующей их циркуляцией в звеньях пищевой цепи способствует созданию техногенных биогеохимических провинций, характеризующихся аномальным содержанием тяжелых металлов в почве, растениях, организме животных и человека (М. В. Забелина, 2005; Т. А. Карпетян, 2007).

В литературе имеются многочисленные сведения о попытках установления критических уровней тяжелых металлов, при которых происходят физиологические, морфологические и другие изменения в организме животных (В. Д. Баранников, 2006; В. Д. Валова, 2007). Однако эти данные довольно противоречивы, поскольку реакция организма на определенное количество какого-либо токсиканта неоднозначна и зависит от возраста, вида, физиологических особенностей животного, условий содержания и других факторов. Кроме того, одна и та же доза токсического вещества способна вызывать выраженные морфологические изменения в одних органах с преобладанием функциональных расстройств в других.

Из-за несовершенства методов диагностики трудно говорить об истинной распространенности патологии почек, связанной с действием тяжелых металлов. По данным литературы, разные токсические вещества играют роль этиологического фактора в 5–20% случаев интерстициального нефрита, в 8% – пиелонефрита (А. Boguszewska, 2004). Довольно часто они являются причиной острой почечной недостаточности (А. Akesson et al, 2005).

Несмотря на большое количество работ, посвященных изучению влияния экологических факторов на организм животных, многие морфологические особенности их действия остаются малоизученными. Только тщательно изучив морфофункциональные проявления воздействия тяжелых металлов на отдельные органы, можно разработать научно обоснованную систему мероприятий, направленную на снижение их негативного действия на организм в целом.

Цель работы – установить особенности морфофункциональных изменений в почках разных видов животных при введении в рацион растениеводческой продукции, выращенной при моделировании загрязнения почвы кадмием, никелем и цинком в конкретных агроэкологических условиях Омской области и на фоне применения антиоксидантов.

Задачи исследований:

1. Определить биохимические показатели плазмы крови, морфологические и гистохимические изменения в почках крыс, в рацион которых вводили кормовые культуры, выращенные с внесением в почву кадмия, никеля и цинка в концентрациях, превышающих ПДК.

2. Оценить морфологические изменения у потомства при длительной интоксикации крыс кадмием, никелем и цинком в составе кормов.

3. Доказать корректирующую эффективность антиоксидантов на фоне нефротоксического действия тяжелых металлов.

4. Определить биохимические показатели плазмы крови, морфологические и гистохимические изменения в почках кроликов и свиней при включении в рацион кормовых культур, выращенных с внесением в почву ПДК кадмия, никеля и цинка.

Научная новизна работы. Установлены видовые и обусловленные токсичностью элементов особенности структурных изменений в почках лабораторных и сельскохозяйственных животных, потреблявших корма, выращенные на лугово-черноземной почве южной лесостепи Омской области при моделировании техногенного загрязнения кадмием, никелем и цинком с учетом ПДК.

Получены данные о дозозависимых морфологических изменениях в почках при воздействии тяжелых металлов в составе кормов на организм разных видов животных. Экспериментально обоснован корректирующий эффект совместного применения натрия селенита и аскорбиновой кислоты при интоксикации соединениями тяжелых металлов.

В сравнительном аспекте изучено действие кадмия, никеля и цинка в системе «мать-плод» с учетом миграции указанных элементов в звеньях пищевой цепи. В условиях эксперимента установлена роль интоксикации тяжелыми металлами родителей в развитии патоморфологических изменений у потомства.

Подтверждена потенциальная опасность длительного использования кормов, содержащих тяжелые металлы в количествах, не превышающих установленные предельно допустимые концентрации.

В экспериментальных условиях доказано нефропротекторное действие антиоксидантов.

Теоретическая и практическая значимость работы. Представленный материал уточняет и расширяет сведения по патоморфологии почек при интоксикации разных видов животных соединениями тяжелых металлов. Результаты исследований могут быть использованы практикующими врачами при дифференциальной диагностике патологии почек токсического генеза и учтены при изучении миграции тяжелых металлов в системе «почва – растение – животный организм» в конкретных агроэкологических условиях, что в дальнейшем позволит разработать систему профилактических мер, направленных на предотвращение негативного влияния тяжелых металлов на организм животных и человека. По результатам исследований оформлен информационный листок «Структурные изменения в почках животных при содержании в кормах солей тяжелых металлов» (№ 55-009-08).

С использованием методов патоморфологии доказана целесообразность использования антиоксидантов с целью коррекции нефротоксического эффекта.

Результаты исследований могут быть использованы при написании соответствующих разделов учебников, учебных пособий и справочных руководств, а также в учебном процессе на ветеринарных, зооинженерных, биологических и экологических факультетах высших учебных заведений.

Апробация результатов научных исследований. Основные материалы диссертационной работы доложены и одобрены на научных конференциях профессорско-преподавательского состава и аспирантов ИВМ ОмГАУ (Омск 2005, 2006, 2007, 2008 гг.), Международной научной конференции студентов и молодых ученых «Экология Южной Сибири и сопредельных территорий» (Абакан, 2004), 5-й межрегиональной научно-практической конференции «Актуальные проблемы ветеринарной медицины продуктивных и непродуктивных животных» (Омск, 2006), Международной научно-практической конференции, посвященной 60-летию ГНУ Краснодарского НИВИ «Актуальные проблемы ветеринарии в современных условиях» (Краснодар, 2006), IV Международной научно-практической конференции «Тяжелые металлы и радионуклиды в окружающей среде» (Семипалатинск, 2006), 16 Всероссийской научно-методической конференции «Современные проблемы патологической анатомии, патогенеза и диагностики болезней животных» (Ставрополь, 2007), 7-й межрегиональной научно-практической конференции, посвященной 180-летию аграрной науки Сибири «Диагностика, лечение и профилактика болезней животных в условиях Сибири и Урала» (Омск, 2008).

Основные положения диссертации, выносимые на защиту:

1. Нефротоксическое действие тяжелых металлов сопровождается патоморфологическими изменениями с преобладанием признаков нарушения тубулярного аппарата, интерстициального нефрита и сосудистых расстройств и определяется токсичностью элемента, интенсивностью экологической нагрузки и видовыми особенностями животных.

2. Корма с повышенным содержанием кадмия, никеля и цинка снижают качество потомства у животных.

3. Натрия селенит и аскорбиновая кислота нивелируют патоморфологические изменения при отравлении животных соединениями тяжелых металлов.

Внедрение. Материалы диссертационной работы используются в учебных процессах на морфологических кафедрах сельскохозяйственных и ветеринарных вузов РФ (Омск, Тюмень, Нижний Новгород, Красноярск, Казань, Ижевск, Троицк, Абакан, Брянск, Барнаул, Саратов, Благовещенск, Уфа).

Публикация результатов исследований. Основные положения диссертационной работы изложены в 11 статьях, в т. ч. две из них опубликованы в ведущих рецензируемых научных журналах, определенных ВАК РФ.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 157 страницах машинописного текста и включает разделы: введение, обзор литературы, собственные исследования, обсуждение полученных результатов, заключение, выводы и практические рекомендации. Работа иллюстрирована 14 таблицами, 46 рисунками. Список литературы включает 270 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 ФГОУ ВПО «Омский государственный аграрный университет» (ОмГАУ) и имеет номер государственной регистрации № 01.2.00103080.

Работа выполнена на кафедре патологической анатомии, вскрытия и судебной экспертизы ФГОУ ВПО ОмГАУ в период с 2002 по 2007 гг.

В опытах использовали корма, выращенные на лугово-черноземной почве южной лесостепи Омской области с искусственным внесением в нее кадмия, никеля и цинка.

Полевые опыты по изучению накопления тяжелых металлов в кормовых культурах были проведены сотрудниками кафедры агрохимии, биологии и экологии ОмГАУ. Кадмий, никель и цинк вносили в почву вручную в виде сухих ацетатных солей. Дозы вносимых в почву металлов рассчитаны с учетом ПДК данных элементов.

В период уборки образцы растениеводческой продукции высушивали. Определение количества тяжелых металлов в корнеплодах столовой моркови и свеклы, а также наземной массе рапса ярового проводили атомно-абсорбционным методом в Федеральном Государственном учреждении Центр агрохимической службы «Омский».

По окончании уборки растительную продукцию вводили в рацион опытных животных. Эксперимент проводили в рамках открытого, проспективного, нерандомизированного, контролируемого исследования (рис. 1).

Экспериментальные исследования проведены на 102 лабораторных беспородных крысах, 12 свиньях породы ландрас в возрасте 2 месяцев с массой тела 25-30 кг, 24 кроликах породы шиншилла в возрасте 3 месяцев с массой тела 2,5-3,0 кг. Животных содержали в специальном помещении кафедры, их кормление осуществляли согласно нормам рациона для лабораторных и сельскохозяйственных животных. В опытах использовали только клинически здоровых животных. Ежедневно животные опытных групп получали корма, выращенные в условиях искусственной техногенной

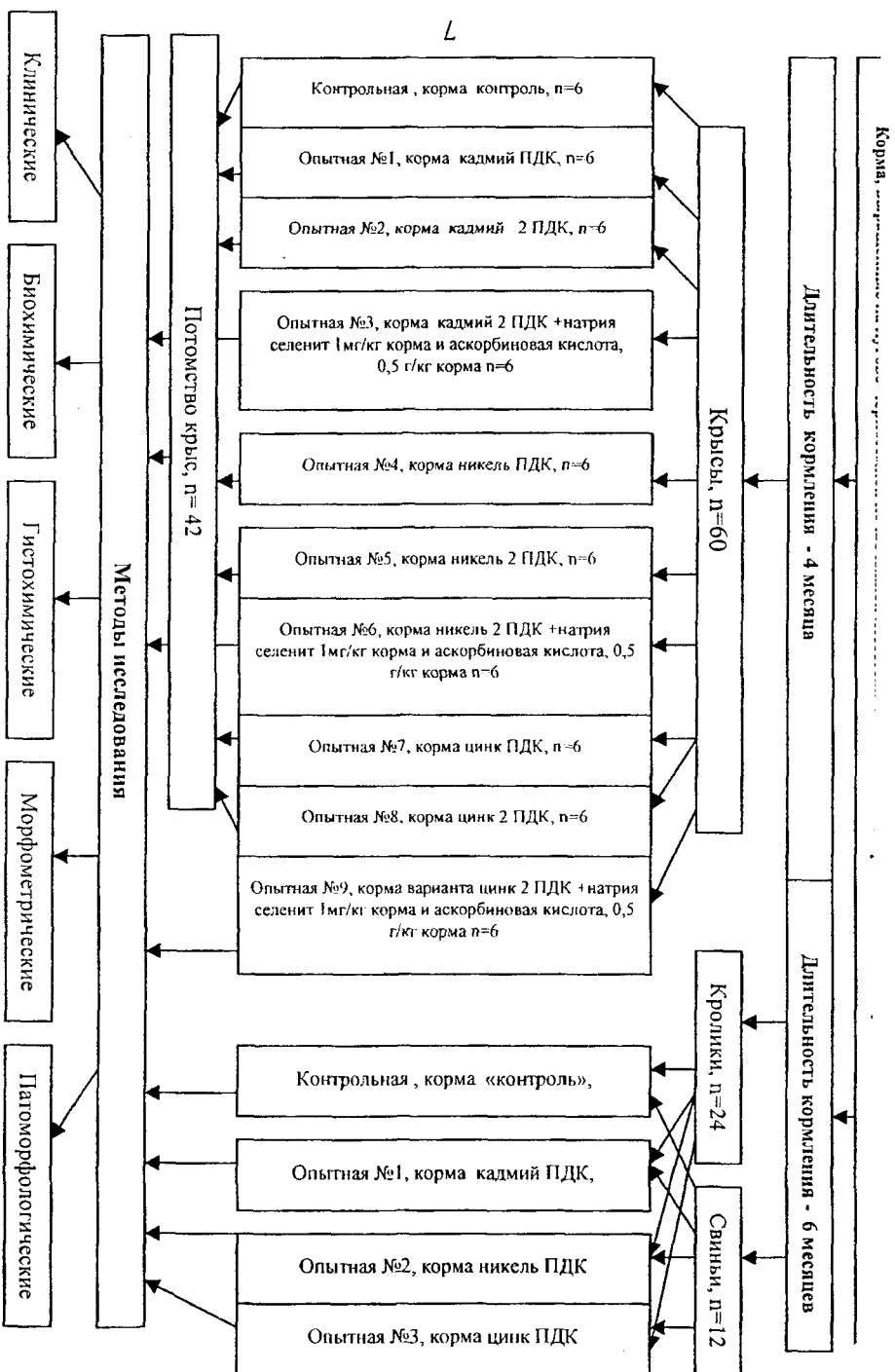


Рисунок 1 – Общая схема открытого, проспективного, нерандомизированного, контролируемого исследования

нагрузки на почву. С целью уменьшения токсического действия тяжелых металлов на организм животных использовали натрия селенит в дозе 1 мг/кг корма в сочетании с аскорбиновой кислотой в дозе 0,5 г/кг корма.

Биохимические исследования плазмы крови проводили в биохимической лаборатории Омского диагностического центра и лаборатории резистентности ОмГАУ. Определяли следующие показатели: общий белок, альбумины, мочевины, билирубин, мочевую кислоту, холестерин, тимоловую пробу, аланинаминотрансферазу (АЛТ), аспартатаминотрансферазу (АСТ), глюкозу, креатинин.

Эвтаназию осуществляли в соответствии с Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (2003). Материал от убитых в ходе опытов животных фиксировали в 4 %-ном нейтральном растворе формальдегида, жидкости Карнуа и холодном ацетоне (+4°C). Срезы получали с парафиновых и замороженных блоков.

Для изучения общей гистоморфологической картины срезы окрашивали гематоксилином и эозином и по методу Ван Гизона. Нуклеиновые кислоты (ДНК и РНК) выявляли галлоцианин-хромовыми квасцами по Эйнарсону. Общий белок определяли по методу Микель-Кальво, общие липиды – суданом черным В – по Лизону, нейтральные жиры – суданом III по Герксгеймеру. Гликоген и нейтральные гликозаминогликаны (нейтральные ГАГ) выявляли ШИК-реакцией по методу Шабадаша, кислые гликозаминогликаны (кислые ГАГ) – альциановым синим по Сиддигу, сульфатированные гликозаминогликаны (сульфатированные ГАГ) – основным коричневым по Шубичу. Активность щелочной фосфатазы (ЩФ) определяли методом Гомори.

Приготовление красителей, буферных растворов, постановку соответствующих контролей выполняли в соответствии с прописями, указанными в руководствах Б. Ромейса (1953), Э. Пирса (1962), Р. Лилли (1969), Г. А. Меркулова (1969).

Морфометрические исследования проводили с помощью окулярного винтового микрометра МОВ-1-15^х.

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

2.2. Биохимические показатели крови крыс при введении в рацион кормов с содержанием кадмия, никеля и цинка и на фоне применения антиоксидантов

У крыс, потреблявших корма, выращенные с внесением в почву цинка, никеля и кадмия на уровне ПДК, не отмечено существенных изменений биохимических показателей плазмы крови, однако в опытной группе, получав-

шей корма варианта «кадмий ПДК», наблюдали повышение уровня активности АЛТ на 25%, а АСТ – на 24% по сравнению с контролем. В плазме крови крыс, в рацион которых входили корма варианта «никель ПДК», отмечено лишь повышение показателя АСТ на 33,1%.

В группах, получавших корма, выращенные с добавлением в почву 2 ПДК цинка, никеля и кадмия, повышался уровень АСТ, АЛТ, глюкозы, мочевой кислоты, мочевины и билирубина по сравнению с контрольными значениями.

Активность АСТ в 8 опытной группе (корма варианта «цинк 2 ПДК») была выше на 46,5%, а АЛТ – на 20% выше по сравнению с контрольной группой, в 5 опытной группе (корма варианта «никель 2 ПДК») – на 36,1% и 26,8% соответственно. В плазме крови крыс 2 опытной группы (корма варианта «кадмий 2 ПДК») увеличивался уровень АСТ на 57,4%, а уровень АЛТ – на 22% по сравнению с показателями контрольной группы крыс.

В то же время у животных 2, 5 и 8 опытных групп отмечены выраженные метаболические нарушения. Так, содержание глюкозы в крови данных крыс было больше уровня контроля в 8 опытной группе на 36,7%, в 5 опытной группе – на 35%, а во 2 опытной группе – на 43,8%. Свидетельством нарушения процессов энергообеспечения у животных данных групп является повышение концентрации мочевины в плазме крови по сравнению с показателем контрольной группы на 18,3% в 8 опытной группе, на 46,5% – в 5 опытной группе и на 53,9% – во 2 опытной группе.

С развитием в тканях животных во 2, 5 и 8 опытных группах гипоксических явлений можно связать более высокую концентрацию мочевой кислоты в плазме крови. Так, показатели мочевой кислоты были больше на 40,7% в 8 опытной группе, на 29,6% – в 5 опытной группе и на 38,3% – во 2 опытной группе по сравнению с контролем.

В плазме крови животных 3, 6 и 9 опытных групп, получавших дополнительно антиоксиданты, отмечены значительные отличия показателей по сравнению с опытными группами, в рацион которых антиоксиданты не входили. Так, зарегистрировано снижение уровня альбуминов в плазме крови крыс 3 опытной группы (корма варианта «кадмий 2 ПДК» + натрия селенит и аскорбиновая кислота) на 31,2% по сравнению с показателями 2 опытной группы, но увеличение на 8,8% относительно контрольных значений. Уровень мочевины в крови 3 опытной группы был ниже на 36,9% по сравнению со 2 группой, значения АЛТ ниже на 5%, глюкозы – на 21,5% соответственно. Показатели АСТ 3 группы были ниже на 22,5% по сравнению со 2 опытной группой, но на 22% превышали контрольные значения.

Уровень билирубина в 6 опытной группе (корма варианта «никель 2 ПДК + натрия селенит и аскорбиновая кислота) был ниже на 18% по сравнению с показателями 5 опытной группы. Значения мочевины в плазме крови животных 6 опытной группы были ниже на 36,5%, глюкозы – на 23,1%, уро-

вень активности АЛТ – на 13,4%, АСТ – на 12,1% по сравнению с показателями крови крыс 5 опытной группы.

Исследование плазмы крови животных 9 опытной группы (корма варианта «цинк 2 ПДК» + натрия селенит и аскорбиновая кислота) показало, что по сравнению с показателями 8 опытной группы уровень мочевины был ниже на 29,8%, глюкозы – на 27%, активность АЛТ – на 13%, АСТ – на 21%.

2.3. Патоморфологические и гистохимические изменения в почках крыс при интоксикации тяжелыми металлами и после применения антиоксидантов

При гистологическом исследовании почек крыс, получавших корма, выращенные с добавлением в почву солей кадмия, выявлены следующие изменения: в клубочках почек – отек мезангия, просветы большинства извитых и прямых канальцев расширены, в них видно гомогенное содержимое. Клетки эпителия извитых канальцев – в состоянии зернистой и гидропической дистрофии, некроза и некробиоза, ядра их пикнотичны, лизированы или полностью отсутствуют. В интерстиции почек видны участки лимфоцитарной инфильтрации. Почечные клубочки и прямые канальцы сохраняют свою структуру. Отмечено снижение содержания нуклеиновых кислот и общего белка в эпителиоцитах извитых канальцев почек, а также снижение интенсивности окраски ШИК-положительного материала. Результаты морфометрических исследований представлены в таблице 1.

У животных, получавших дополнительно, помимо кормов варианта «кадмий 2 ПДК», натрия селенит и аскорбиновую кислоту, в проксимальных извитых канальцах нефрона отмечали зернистую дистрофию. Очень редко регистрировались эпителиоциты в состоянии некробиоза и некроза.

В почках животных, получавших корма варианта «никель ПДК» и «никель 2 ПДК», в эпителиоцитах проксимальных извитых канальцев регистрировали зернистую дистрофию и некробиотические изменения. Иногда находили зерна пигмента липофусцина в цитоплазме эпителиальных клеток. В просвете некоторых канальцев находили скопление десквамированных клеток почечного эпителия. Сосудистые клубочки увеличены в объеме, отмечали отек мезангиального пространства, о чем свидетельствуют и морфометрические исследования. В корковом и мозговом веществе почек обнаружены лимфоцитарные инфильтраты. Капсула отдельных клубочков утолщена за счет разрастания волокнистой соединительной ткани. При окраске по методу Ван Гизона выявлены разрастания волокнистой соединительной ткани. Также наблюдается снижение интенсивности окраски на белок и низкое содержание нуклеиновых кислот в эпителиоцитах проксимальных извитых канальцев по сравнению с почками контрольных животных. В этих же структурах почек зарегистрировано снижение интенсивности ШИК-реакции у крыс

5 опытной группы, в рацион которых вводили корма варианта «никель 2 ПДК».

Таблица 1 – Морфометрические показатели почек крыс при воздействии солей тяжелых металлов, n=100

Группы	Показатели:				
	Площадь ядер клеток эпителия проксимального отдела нефрона, мкм ²	Площадь цитоплазмы клеток эпителия проксимального отдела нефрона, мкм ²	Высота клеток эпителия проксимального отдела нефрона, мкм	Ядерно-цитоплазмическое отношение, %	Отношение объемов сосудистого клубочка и почечного тельца, %
Контроль	22,45 ± 0,74	97,61 ± 2,44	12,43 ± 0,20	0,23 ± 0,01	0,71 ± 0,01
Опытная 1	16,57 ± 0,76*	74,58 ± 2,57*	11,22 ± 0,22*	0,23 ± 0,01	0,89 ± 0,01*
Опытная 2	19,96 ± 0,73	97,73 ± 3,14	12,48 ± 0,23	0,21 ± 0,01	0,95 ± 0,01*
Опытная 3	22,12 ± 0,82	97,80 ± 2,15	12,32 ± 0,21	0,23 ± 0,01	0,86 ± 0,01*
Опытная 4	24,47 ± 0,98	97,99 ± 3,01	12,28 ± 0,21	0,25 ± 0,01	0,76 ± 0,01*
Опытная 5	26,36 ± 0,64*	91,62 ± 2,75	12,23 ± 0,21	0,29 ± 0,01*	0,84 ± 0,01*
Опытная 6	24,32 ± 0,83	98,12 ± 2,86	12,31 ± 0,20	0,25 ± 0,01	0,76 ± 0,01*
Опытная 7	33,23 ± 1,05*	126,00 ± 4,44*	13,22 ± 0,23*	0,28 ± 0,01*	0,88 ± 0,01*
Опытная 8	28,72 ± 1,12*	101,99 ± 3,22	12,44 ± 0,21	0,29 ± 0,01*	0,88 ± 0,02*
Опытная 9	26,92 ± 1,01*	122,17 ± 3,35*	12,33 ± 0,21	0,22 ± 0,01	0,78 ± 0,01*

Примечание: * - P ≤ 0,05.

В почках крыс 6 опытной группы, получавших дополнительно антиоксиданты, установлены следующие изменения: в сосудистых клубочках – отек мезангия, вокруг сосудистых клубочков и канальцев отмечали лимфоцитарные инфильтраты. Эпителиоциты проксимальных извитых канальцев находились в состоянии зернистой дистрофии. Реже наблюдали процессы некробиоза в вышеуказанных структурах.

При гистологическом исследовании почек крыс 7 и 8 опытных групп, получавших корма вариантов «цинк ПДК» и «цинк 2 ПДК» соответственно, отмечали ярко выраженную зернистую дистрофию эпителиоцитов проксимального отдела нефрона. В просвете канальцев была заметна мелкозернистая или гомогенная масса, интенсивно окрашенная эозином в розовый цвет, а при окраске на белок дающая положительную реакцию. Также наблюдали ярко выраженную гиперемию сосудистых клубочков и сосудов коркового и мозгового вещества, в мозговом веществе – очаговые кровоизлияния. В цитоплазме клеток проксимальных извитых канальцев обнаружены зерна пигмента золотистого цвета.

В почках крыс, получавших дополнительно натрия селенит и аскорбиновую кислоту в качестве антиоксидантов, в редких случаях отмечали сосудистые расстройства.

2.4. Влияние хронической интоксикации крыс на развитие потомства

Жизнеспособность и развитие потомства при хронической интоксикации родителей являются показателями отдаленных неблагоприятных последствий действия тяжелых металлов на организм животных. Контролем в опыте служили крысята от интактных самок.

У всех крысят периодически измеряли массу тела, отношение длины тела к длине хвоста, а также учитывали сроки отлипания ушных раковин, появления волосяного покрова, открытия глаз.

Показатели физиологического развития крысят опытных групп были несколько ниже, чем у контрольных крыс. У потомства крыс 2 опытной группы отмечали поздние сроки открытия глаз и появления волосяного покрова. У крысят, полученных от крыс 5 опытной группы, также было отставание в сроках отлипания ушных раковин и открытия глаз на один день по сравнению с показателями контрольной группы. Гибели животных в опытных группах не отмечали.

Убой крысят проводили в возрасте трех месяцев с последующим патологоанатомическим исследованием внутренних органов и определением относительной массы органов.

При патологоанатомическом исследовании внутренних органов крысят второго поколения, полученных от животных, в рацион которых вводили корма с содержанием кадмия и никеля, установлено, что печень красно-коричневого цвета с точечными кровоизлияниями, легкие неравномерно окрашены, участки бледно-розового цвета чередуются с участками темно-красного цвета. При исследовании сердца выявляли некоторое расширение полостей. Отмечено инъецирование коронарных сосудов, сосудов головного мозга и брыжейки. Почки красно-коричневого цвета, граница между корковым и мозговым веществами хорошо различима. Фиброзная капсула с поверхности органа снималась легко. При гистологическом исследовании иногда наблюдали отек мезангия сосудистых клубочков, зернистую дистрофию эпителиальных клеток проксимального отдела нефрона. В ряде случаев эпителиальные клетки были уплощены, при этом просветы канальцев были расширены и заполнены массой, окрашивающейся эозином в нежно-розовый цвет. Также наблюдали участки, в которых клетки почечного эпителия находились в состоянии некроза и некробиоза. В интерстиции регистрировали лимфоидно-гистиоцитарные инфильтраты.

Морфометрические исследования представлены в таблице 2.

Крысята, родители которых получали корма варианта «цинк ПДК» и «цинк 2 ПДК», по своему физиологическому развитию не отставали от контрольных животных, а в некоторых случаях даже превосходили их. Так, например, у крысят 7 опытной группы было отмечено более раннее появление волосяного покрова и открытие глаз.

Таблица 2 – Морфометрические показатели почек крысят при воздействии солей тяжелых металлов на организм их родителей , n=100

Группы	Показатели:				
	Площадь ядер клеток эпителия проксимального отдела нефрона, мкм ²	Площадь цитоплазмы клеток эпителия проксимального отдела нефрона, мкм ²	Высота клеток эпителия проксимального отдела нефрона, мкм	Ядерно-цитоплазматическое отношение, %	Отношение объемов сосудистого клубочка и почечного тельца, %
Контроль	28,67 ± 0,84	84,96 ± 1,86	11,91 ± 0,13	0,34 ± 0,01	0,71 ± 0,01
Опытная 1	27,50 ± 0,98	82,44 ± 1,86	11,63 ± 0,13	0,33 ± 0,01	0,87 ± 0,01*
Опытная 2	30,06 ± 0,68	85,74 ± 1,72	11,51 ± 0,09*	0,35 ± 0,01	0,78 ± 0,01*
Опытная 4	28,98 ± 0,63	81,55 ± 1,48	11,22 ± 0,11*	0,36 ± 0,01	0,72 ± 0,01
Опытная 5	27,39 ± 0,80	81,18 ± 1,44	11,15 ± 0,11*	0,34 ± 0,01	0,77 ± 0,01
Опытная 7	29,95 ± 0,65	84,45 ± 1,48	11,96 ± 0,13	0,36 ± 0,01	0,78 ± 0,01*
Опытная 8	28,69 ± 0,65	82,17 ± 1,91	11,42 ± 0,13*	0,35 ± 0,01	0,73 ± 0,01

Примечание: * - P ≤ 0,05.

При патологоанатомическом исследовании внутренних органов существенных изменений не выявлено. В почках иногда встречали участки с признаками дистрофии эпителиальных клеток. Очень редко отмечались лимфоидно-гистиоцитарные инфильтраты вокруг сосудистых клубочков и канальцев почек.

2.5. Нефротоксические эффекты тяжелых металлов при интоксикации кроликов

При биохимическом исследовании плазмы крови кроликов отмечалась тенденция к снижению содержания общего белка и альбуминов во всех опытных группах.

Так, в плазме крови кроликов, потреблявших корма, выращенные с добавлением в почву кадмия, количество общего белка снизилось на 13,5%, а уровень альбуминов – на 10,1%; во 2 опытной группе – на 15,3% и 7,7% соответственно, в 3 опытной группе – на 14,4 % и 9,1 % по сравнению с контрольными показателями.

На этом фоне зарегистрировано возрастание активности аминотрансфераз в плазме крови животных, содержащихся на рационах, включающих корма с повышенным содержанием тяжелых металлов. У животных всех трех опытных групп отмечена тенденция к повышению активности АЛТ и АСТ в плазме крови. Так, уровни активности АСТ и АЛТ были больше у животных 1 группы, получавших корма, выращенные при добавлении в почву кадмия, соответственно на 30% и 34%; 2 опытной группы, в рацион которых вводили

корма варианта «никель ПДК» – на 40 и 33%; 3 группы, получавших корма варианта «цинк ПДК» – на 17 и 24% по сравнению с показателями контрольных кроликов.

Отмечена тенденция к повышению уровня щелочной фосфатазы. Данный показатель был больше такового в контроле на 16% у животных 1 опытной группы, на 36% – во 2 группе и на 26% – в 3 группе.

Уровень креатинина были больше показателей контроля на 39% у кроликов 1 опытной группы, на 33% – 2 группы и на 21% – в 3 опытной группе.

При гистологическом исследовании почек выявлены изменения в извитых канальцах и сосудистых клубочках. В последних зарегистрирован отек мезангия и гиперемия, в результате чего клубочки увеличены в объеме. Кровеносные сосуды коркового и мозгового вещества переполнены кровью, что наиболее ярко выражено в группе животных, получавших корма, при выращивании которых в почву вносили соли цинка. Вокруг сосудистых клубочков и канальцев отмечено скопление лимфоцитарных клеток и разрастание волокнистой соединительной ткани, интенсивно окрашивающейся по методу Ван Гизона, в результате чего данные структуры сдавлены и уменьшены в объеме. Эти изменения были характерны для животных, получавших корма варианта «никель ПДК» и «кадмий ПДК». У некоторых животных отмечались признаки зернистой дистрофии в эпителии извитых канальцев нефрона.

Результаты микрометрических исследований представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Морфометрические показатели почек кроликов при воздействии солей кадмия, никеля и цинка, n=100

Группы	Показатели:				
	Площадь ядер клеток эпителия проксимального отдела нефрона, мкм ²	Площадь цитоплазмы клеток эпителия проксимального отдела нефрона, мкм ²	Высота клеток эпителия проксимального отдела нефрона, мкм	Ядерно-цитоплазматическое отношение, %	Отношение объемов сосудистого клубочка и почечного тельца, %
Контроль	29,93 ± 0,68	92,74 ± 1,89	12,51 ± 0,16	0,32 ± 0,01	0,74 ± 0,01
Опытная 1	31,13 ± 0,92	95,23 ± 2,49	12,40 ± 0,13	0,33 ± 0,01	0,79 ± 0,02*
Опытная 2	33,58 ± 0,75*	99,79 ± 1,43*	12,84 ± 0,07	0,34 ± 0,01	0,87 ± 0,02*
Опытная 3	30,40 ± 0,88	93,34 ± 2,30	12,32 ± 0,16	0,33 ± 0,01	0,74 ± 0,02

Примечание: * - $P \leq 0,05$.

В эпителиоцитах проксимального отдела нефрона регистрировали уменьшение содержания нуклеиновых кислот и неравномерное распределение общего белка. Отмечено снижение интенсивности ШИК-реакции в эпителиальных клетках почек кроликов 2 опытной группы.

2.6. Нефротоксические эффекты тяжелых металлов при интоксикации свиней

Содержание общего белка, альбуминов, креатинина и холестерина в плазме крови свиней опытных групп не превышало значений контроля и соответствовало физиологической норме.

Уровень мочевины был несколько ниже у животных групп «цинк ПДК» и «кадмий ПДК» по сравнению с контролем.

Показатели АСТ были достоверно выше показателей контроля на 41% в 1 опытной группе животных, в рацион которых входили корма, выращенные с добавлением солей кадмия.

Уровень АЛТ был выше в 1 группе на 41%, во 2 группе – на 27% и в 3 опытной группе – на 30% соответственно. Отмечено также повышение уровня билирубина в крови животных 1 и 2 опытных групп на 19 и 17%. Уровень глюкозы в плазме крови свиней 1 опытной группы, получавшей корма варианта «кадмий ПДК», был достоверно ниже показателя контрольных животных на 42%.

При гистологическом исследовании отмечено, что сосудистые клубочки несколько уменьшены в объеме. Вокруг них наблюдали лимфоцитарные инфильтраты. Отмечалась также зернистая дистрофия эпителиоцитов извитых канальцев проксимального отдела нефрона. В 1 опытной группе наблюдали изменения, характерные для некробиоза. Лимфоцитарные клетки концентрировались также вокруг извитых и прямых канальцев, как в корковом, так и в мозговом веществе. У животных 1 и 2 опытных групп отмечено разрастание волокнистой соединительной ткани вокруг почечных структур. Инъектирование сосудов клубочков и сосудов коркового и мозгового вещества почек наблюдали у животных, в рацион которых входили корма с содержанием солей цинка. Данные микрометрических исследований представлены в таблице 4.

Таблица 4 – Морфометрические показатели почек свиней при воздействии солей кадмия, никеля и цинка, n=100

Группы	Показатели:				
	Площадь ядер клеток эпителия проксимального отдела нефрона, мкм ²	Площадь цитоплазмы клеток эпителия проксимального отдела нефрона, мкм ²	Высота клеток эпителия проксимального отдела нефрона, мкм	Ядерно-цитоплазматическое отношение, %	Отношение объемов сосудистого клубочка и почечного тельца, %
Контроль	30,80±0,53	118,07±1,63	13,17±0,16	0,26 ± 0,01	0,60 ± 0,01
Опытная 1	27,43±0,55*	100,61±1,32*	12,06±0,15*	0,27 ± 0,01	0,55 ±0,02*
Опытная 2	35,19±0,68*	113,39±3,26	12,87±0,13	0,31 ±0,01*	0,62 ± 0,02
Опытная 3	34,05±0,68*	111,64±2,39	12,52±0,13*	0,30 ± 0,01	0,62 ± 0,01

Примечание: * - $P \leq 0,05$.

Отмечено снижение содержания нуклеиновых кислот в эпителиальных клетках проксимальных канальцев, а также повышение активности щелочной фосфатазы в щеточной кайме эпителиоцитов в почках животных 1 и 2 опытных групп.

ВЫВОДЫ

1. Хроническая интоксикация крыс соединениями кадмия, никеля и цинка вызывает повышение в плазме крови уровня аминотрансфераз, глюкозы, мочевины и мочевой кислоты ($P \leq 0,05$). При снижении нагрузки токсикантами у кроликов отмечается повышение показателей аминотрансфераз и креатинина, у свиней корма с содержанием кадмия вызывают повышение уровня билирубина и аспартатаминотрансферазы при снижении содержания в плазме крови глюкозы и мочевины.

2. Нефротоксическое действие тяжелых металлов сопровождается патоморфологическими изменениями с преобладанием признаков нарушения тубулярного аппарата при воздействии кадмия, интерстициального нефрита – при воздействии никеля и сосудистых расстройств – при избыточном содержании в кормах цинка. Интоксикация кадмием и никелем у свиней и кроликов сопровождается появлением в почках лимфоцитарных инфильтратов и разрастанием волокнистой соединительной ткани вокруг почечных структур.

3. Гистохимические изменения в почках при воздействии тяжелых металлов характеризуются снижением содержания нуклеиновых кислот и общего белка, а также интенсивности ШИК – реакции и изменением активности щелочной фосфатазы. Морфометрические показатели отражают дозозависимый характер дистрофических и некробиотических процессов при отсутствии выраженных видовых особенностей.

4. Корма с повышенным содержанием кадмия и никеля вызывают задержку физиологического развития потомства крыс с преобладанием изменений биохимических показателей (аланинаминотрансферазы, мочевины и мочевой кислоты) при воздействии на организм кадмия. Снижение уровня глюкозы в плазме крови крысят вызывают корма с содержанием кадмия, никеля и цинка.

5. Патоморфологические изменения в почках крысят, характеризующиеся дистрофическими процессами в эпителиоцитах проксимальных извитых канальцев и лимфоцитарными инфильтратами, преобладают при использовании в рационе крыс кормов с повышенным содержанием кадмия и никеля.

6. Натрия селенит в дозе 1 мг/кг корма и аскорбиновая кислота в дозе 0,5 г/кг корма корректируют проявление нефротоксического действия тяжелых металлов, в большей степени кадмия.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. В дифференциальной диагностике нефротоксического действия тяжелых металлов следует учитывать некробиотические изменения в тубулярном аппарате, лимфоцитарную инфильтрацию с разрастанием волокнистой соединительной ткани, а также развитие воспалительных процессов в паренхиме почек. Издан информационный листок № 55-009-08 «Структурные изменения в почках животных при содержании в кормах солей тяжелых металлов», ОмЦНТИ.

2. При повышенном содержании в кормах тяжелых металлов рекомендуем с целью нефропротекторного действия применение натрия селенита в дозе 1 мг/кг корма и аскорбиновой кислоты в дозе 0,5 г/кг корма.

3. С целью профилактики отрицательного действия кадмия, никеля и цинка на организм животных и качество потомства необходим мониторинг тяжелых металлов в звеньях пищевой цепи.

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Грушевская, Т. В. Патоморфология внутренних органов кроликов при поражении солями кадмия / Т. В. Грушевская, А. В. Синдирева, М. Н. Гонохова // Экология Южной Сибири и сопредельных территорий: материалы Междунар. науч. школы-конф. студ. и молодых ученых 24 – 27 ноября 2004г. – Абакан, 2004. – Т. 2. – С. 116 – 117.

2. Патоморфология внутренних органов кроликов и свиней под воздействием солей тяжелых металлов / Н. Г. Мельник, В. А. Сервуля, М. Н. Гонохова, Т. В. Грушевская // Естествознание и гуманизм : сб. науч. работ. – Томск, 2005. – Т. 2. – С. 33.

3. Синдирева, А. В. Биохимические показатели крови крыс при воздействии на организм кадмия / А. В. Синдирева, М. Н. Гонохова, В. Д. Конвай // Актуальные проблемы ветеринарной медицины продуктивных и непродуктивных животных : сб. науч. тр. : материалы 5-й межрегиональной науч.-практ. конф. – Омск, 2006. – С. 319 – 322.

4. Гонохова, М. Н. Патоморфология внутренних органов крыс при воздействии на их организм солей тяжелых металлов / М. Н. Гонохова, В. А. Сервуля, А. В. Синдирева // Актуальные проблемы ветеринарной медицины продуктивных и непродуктивных животных : сб. науч. тр. : материалы 5-й межрегиональной науч.-практ. конф. – Омск, 2006. – С. 271 – 274.

5. Влияние кадмия на функциональное состояние печени и почек крыс /А. В. Синдирева, В. Д. Конвай, Ю. И. Ермохин, М. Н. Гонохова / Докл. IV Междунар. науч.-практ. конф. «Тяжелые металлы и радионуклиды в окружающей среде». – Семипалатинск, 2006. – С. 95 – 98.

6. Гонохова, М. Н. Патоморфология почек крыс при воздействии солей тяжелых металлов / М. Н. Гонохова // Актуальные проблемы ветеринарии в современных условиях : материалы Междунар. науч.-практ. конф., посвященной 60-летию ГНУ Краснодарского НИВИ. – Краснодар, 2006. – С. 46 – 48.

7. Гонохова, М. Н. Патологоморфологические изменения в почках крыс при отравлении солями тяжелых металлов / М. Н. Гонохова // Современные проблемы патологической анатомии, патогенеза и диагностики болезней животных : сб. науч. тр. по материалам 16 Всерос. науч.-методич. конф. 20 – 22 сентября 2007 г. – Ставрополь, 2007. – С. 237 – 238.

8. Гонохова, М. Н. Структурные изменения в почках животных при воздействии на организм кадмия / М. Н. Гонохова // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – 2007. – № 12. – С. 38 – 43.

9. Гонохова, М. Н. Структурные изменения в почках животных при воздействии на организм тяжелых металлов и коррекция их детоксикантами / М. Н. Гонохова // Диагностика, лечение и профилактика болезней животных в условиях Сибири и Урала : материалы 7-й межрегиональной науч.-практ. конф., посвященной 180-летию аграрной науки Сибири. – Омск, 2008. – С. 85 – 88.

10. Гонохова, М. Н. Структурные изменения в почках животных при воздействии на организм никеля / М. Н. Гонохова // Аграрный вестник Урала. – 2008. – № 10 (52). – С. 73 – 74.

11. Гонохова М. Н. Влияние на свиней тяжелых металлов в кормах / М. Н. Гонохова // Животноводство России. – 2008. – № 12. – С. 25 – 26.

ГОНОХОВА МАРИНА НИКОЛАЕВНА

**ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА
НЕФРОТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ КАДМИЯ, НИКЕЛЯ И ЦИНКА
НА ОРГАНИЗМ ЖИВОТНЫХ**

16.00.02 – патология, онкология и морфология животных

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата ветеринарных наук

Сдано в набор 03.03. 09.

Подписано в печать 04.03.09.

Формат 60x84/16. Гарнитура «Times New Roman».

Усл. печ.л. 1,00. Бумага офсетная.

Способ печати – оперативный

Тираж 100

Отпечатано с оригинал-макета
В типографии ИП Макшеевой Е.А.