

На правах рукописи



КАДИКОВ ИЛЬНУР РАВИЛЕВИЧ

**СОЧЕТАННОЕ ДЕЙСТВИЕ ДИОКСИНА И Т-2 ТОКСИНА НА
ОРГАНИЗМ ЖИВОТНЫХ И ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ
ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ**

16.00.04—ветеринарная фармакология с токсикологией
16.00.03—ветеринарная микробиология, вирусология,
эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

23 ЯНВ 2009

Казань – 2009

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

Научные руководители: Доктор ветеринарных наук, профессор
Новиков Валерий Александрович
Доктор биологических наук, профессор
Тремасов Михаил Яковлевич

Официальные оппоненты: Доктор биологических наук
Хисматуллина Наиля Анваровна
Доктор ветеринарных наук, профессор
Софронов Владимир Георгиевич

Ведущее учреждение: Всероссийский научно-исследовательский
институт ветеринарной вирусологии и
микробиологии

Защита состоится «13» *сентября* 2009 г. в 14 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» (г. Казань)

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

Автореферат разослан «9» *сентября* 2009г.

Учёный секретарь диссертационного
совета, кандидат ветеринарных наук



В.И. Степанов

1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

1.1. Актуальность темы. В связи с возрастающим антропогенным воздействием на окружающую среду все чаще в кормах обнаруживаются токсиканты как природного, так и техногенного происхождения.

Среди техногенных загрязнителей большую опасность для животных и человека представляют диоксины, которые поступают в биосферу в виде микропримесей с продукцией или отходами многочисленных технологий. Диоксины - это обобщенное название большой группы полихлорированных дибензодиоксинов (ПХДД), полихлорированных дибензофуранов (ПХДФ), которые представляют собой гетероциклические полихлорированные соединения с очень близкими химическими свойствами (Федоров Л.А., Мясоедов Б.Ф., 1990; Новиков В.А., Тремасов М.Я., 2004; Жуленко В.Н., 2004; Иванов А.В. и др. 2006; Аргунов М.Н. и др. 2007; Желтов В.А., 2008; McKiney J. et al., 1982).

Самый известный и наиболее токсичный из них 2,3,7,8-тетрахлордибензо-пара-диоксин (2,3,7,8-ТХДД), по отношению к которому часто применяется термин «диоксин». В прошлом веке в мире произошло более 200 аварийных выбросов диоксина, в том числе и в России (Абульханов А.Г., Сабирова А.И., 1996; Марковский О.Ю., 2005; Ревич Б.А. и др., 2006; Первунина Р.И. и др., 2006; Желтов В.А., 2007).

К природным экотоксикантам относятся микотоксины, среди которых наиболее опасным для животных является Т-2 токсин, вырабатываемый грибами рода *Fusarium* (Саркисов А.Х., 1985; Тутельян В.А., Кравченко Л.В., 1985; Петрович С.В., 1991; Смирнов А.М., Таланов Г.А. и др., 1999; Кузнецов А.Ф., 2001; Иванов А.В., Тремасов М.Я., Папуниди К.Х., 2008). Микотоксины отличаются высокой токсичностью, а многие из них обладают мутагенными, тератогенными, канцерогенными и иммуносупрессивными свойствами.

Не исключена возможность одновременного загрязнения кормов природными и техногенными экотоксикантами. Известны случаи отравления животных полихлорированными бифенилами в сочетании с тяжелыми металлами (Крытов И.А., 1991; Иванова Ю.В., 2004), Т-2 токсина с пиретроидами (Тремасов М.Я. и др., 2005). На территориях, пораженных грибом продуцентом Т-2 токсина, могут возникнуть аварийные ситуации, связанные с выбросом химических веществ, содержащих диоксины. Поэтому существует реальная опасность сочетанного действия Т-2 токсина и диоксина на животных. В то же время, в литературе мы не встретили данных о сочетанном воздействии диоксина и микотоксинов на организм животных, хотя вероятность таких поражений очевидна.

Диоксин и Т-2 токсин, попадая в организм, приводят к нарушению обменных процессов и могут быть причиной низкой продуктивности и повышенной чувствительности животных к инфекционным и незаразным заболеваниям.

В связи с этим изучение сочетанного действия токсикантов, поиск и разработка эффективных и доступных средств для лечения и профилактики отравлений животных, вызванных микотоксинами и диоксинами, является актуальной задачей.

1.2. Цель и задачи исследования. Целью данных исследований было изучение токсического действия диоксина и Т-2 токсина при совместном поступлении их в организм животных, а также оценка эффективности лекарственных средств при отравлении этими токсикантами.

В этой связи перед нами были поставлены следующие задачи:

- Изучить клинические признаки отравлений, морфологические и биохимические показатели крови при сочетанном воздействии диоксина и Т-2 токсина на животных.
- Выяснить влияние совместного действия диоксина и Т-2 токсина на естественную резистентность животных.

- Изучить патоморфологические изменения в органах и тканях животных при сочетанном пероральном поступлении в организм диоксина и Т-2 токсина.
- Провести оценку эффективности лекарственных средств при сочетанном отравлении животных диоксином и Т-2 токсином.

1.3. Научная новизна работы. Установлено взаимоусиливающее токсическое действие диоксина и Т-2 токсина при сочетанном поступлении их в организм животных. Впервые изучено влияние сочетанного воздействия диоксина и Т-2 токсина на гематологические и биохимические показатели, естественную резистентность и гистоструктуру тканей внутренних органов крыс и кроликов.

Изысканы лекарственные средства и показана лечебная эффективность бентонита с димефосфоном при сочетанном отравлении животных диоксином и Т-2 токсином.

1.4. Практическая ценность работы. Проведена токсикологическая оценка сочетанного воздействия диоксина и Т-2 токсина на животных, которую следует учитывать при санитарной оценке кормов и диагностике отравлений.

Разработан способ снижения токсической нагрузки и коррекции естественной резистентности организма путем перорального введения бентонита и димефосфона при комбинированном воздействии диоксина и Т-2 токсина на животных. Результаты исследований вошли в "Рекомендации по диагностике, профилактике и лечению токсикозов животных, вызванных диоксинами".- М.: ФГНУ " Росинформагротех", 2006 и " Временную инструкцию по применению димефосфона и левамизола при отравлении животных диоксином " (Утв. ГУВ КМ РТ 26.08.2006 г.).

1.5. Основные положения, выносимые на защиту:

- Клинические признаки, морфологические и биохимические показатели крови, показатели естественной резистентности, патоморфологические изменения во внутренних органах и тканях при

сочетанном воздействии диоксина и Т-2 токсина на животных.

- Лечебная эффективность бентонита с димефосфоном при сочетанном отравлении животных диоксином и Т-2 токсином.

1.6. Апробация материалов диссертации. Основные положения диссертационной работы доложены на ежегодных научных сессиях ФГУ «ФЦТРБ» по рассмотрению и обсуждению отчетов о НИР за 2005-2008гг., всероссийских и международных научно-практических конференциях (Казань 2005; 2006; 2007; Воронеж 2007; 2008; Екатеринбург 2008).

1.7. Публикации. По материалам диссертации опубликовано 9 научных работ, в том числе две – в реферируемых ВАК изданиях.

1.8. Объем и структура работы. Диссертация изложена на 108 страницах компьютерного текста и состоит из общей характеристики работы, обзора литературы, методов и результатов собственных исследований, обсуждения, выводов, практических предложений и списка литературы. Работа иллюстрирована 17 рисунками и содержит 14 таблиц. Список литературы включает 204 литературных источника, в том числе 93 зарубежных авторов.

2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Работа выполнена в отделе токсикологии ФГУ «Федеральный центр токсикологической и радиационной безопасности животных» (г. Казань) в период с 2004 по 2007 год.

Исследования проведены на двух видах животных (белые крысы, кролики). Группы животных подбирали по принципу аналогов с учетом породы, возраста, пола и массы тела. Условия проведения опытов, схемы, вид и количество используемых при этом животных, дозировки, кратность применения препаратов приведены в соответствующих разделах работы.

Для работы использовали 2,3,7,8-ТХДД (2,3,7,8-тетрахлордибензо-п-диоксин), изготовленный ПО «Химпром» (г.Уфа), и Т-2 токсин, полученный в лаборатории микотоксинов ФГУ «ФЦТРБ» с.н.с. Сергейчевым А.И. В

качестве продуцентов микотоксина использовали гриб *Fusarium sporotrichiella*, штамм 2м*15, предоставленный д.в.н. А.Н. Котиком.

Токсиканты давали в хлебных боллосах: крысам диоксин в дозе $1/200$ ЛД₅₀ (0,3 мкг/кг живой массы) в виде масляного раствора; Т-2 токсин в виде 5%-ного водноспиртового раствора в дозе $1/10$ ЛД₅₀ (0,3 мг/кг живой массы). Кроликам диоксин применяли в дозе $1/200$ ЛД₅₀ (0,15 мкг/кг живой массы), Т-2 токсин в дозе $1/20$ ЛД₅₀ (0,027 мг/кг живой массы).

Для лечения животных применяли мембраностабилизатор и иммуностимулятор димефосфон и сорбент бентонит.

Димефосфон — диметилвый эфир (1,1-диметил-3-оксобутил фосфоновой кислоты), для применения внутрь выпускается во флаконах в виде 15%-ного водного раствора и представляет собой прозрачную или слегка опалесцирующую жидкость со своеобразным запахом и горьким вкусом, рН раствора от 2,0 до 4,0. Он оказывает нормализующее действие на метаболические процессы, проявляет мембраностабилизирующий, противовоспалительный, антиоксидантный и иммуномодулирующий эффекты. Димефосфон выпаивали ежедневно с водой в дозе 90 мг/кг массы животного.

В качестве сорбента использовали бентонит Биклянского месторождения Республики Татарстан, его подмешивали в корм из расчета 2% от общего рациона.

В ходе экспериментов проводили определение живой массы и температуры, учитывали продолжительность жизни или время выхода из состояния интоксикации. Общий анализ крови включал изучение содержания эритроцитов, гемоглобина, лейкоцитов (Кудрявцев А.А., Кудрявцева Л.В., Привольнов Т.М., 1969).

Общий белок сыворотки крови исследовали на рефрактометре ИРФ — 22, белковые фракции методом Олла и Маккарда в модификации Карпюка С.А. (1962).

Фагоцитарную способность нейтрофилов в периферической 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 Фримелю Г. (1987). Принцип метода заключается во взаимодействии мембраны В-клеток, которая содержит рецепторы для третьего компонента комплемента (С3), с эритроцитами, «нагруженными» комплементом, с образованием розеток.

Для гистологических исследований от павших и 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., 1996). Патоморфологические исследования проводили совместно с младшим научным сотрудником Губеевой Е.Г., которой автор выражает искреннюю благодарность за оказанную помощь.

Полученные экспериментальные данные подвергали математической обработке общепринятым методом вариационной статистики с применением критерия достоверности по Стьюденту на персональном компьютере с использованием программ Excel.

3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1. Изучение сочетанного действия диоксина и Т-2 токсина на организм белых крыс на фоне применения бентонита с димефосфоном

Первым этапом наших исследований было изучение сочетанного действия диоксина и Т-2 токсина на белых крыс и выяснение лечебной эффективности бентонита с димефосфоном.

Исследования проводили на 144 белых крысах, живой массой 190-210г. Животные были разделены на 4 группы. Первой группе давали диоксин с кормом в виде масляного раствора в дозе $1/200$ ЛД₅₀. Второй группе вводили Т-2 токсин в виде водноспиртового раствора в дозе $1/10$ ЛД₅₀. Третьей группе давали одновременно перорально диоксин и Т-2 токсин в выше указанных дозах. Четвертой группе наряду с токсикантами выпаивали 15%-ный раствор димефосфона в дозе 90 мг/кг живой массы и давали бентонит Биклянского месторождения РТ в дозе 2% от рациона. Во всех четырех группах затравку животных токсикантами проводили в течение 30 суток.

В первой группе, где давали один диоксин, клинические признаки отравления отсутствовали. Во второй группе животных, которым давали микотоксин Т-2, клинические признаки проявлялись в виде общего угнетения, вялости, диарей. Масса крыс к концу опыта снизилась на 7%. Падежа животных не было. Через 10 дней после окончания затравки признаки интоксикации исчезли, поведение опытных крыс не отличалось от интактных.

У животных третьей группы, которым давали одновременно диоксин и Т-2 токсин, клинические признаки появились на 7 сут в виде общего угнетения, вялости, понижения аппетита, либо его отсутствия, диарей, взъерошенности шерстного покрова, дрожи, нарушения координации движения, в уголках рта – признаки некроза. У некоторых крыс наблюдались слизистые истечения из ноздрей, что является характерным признаком ринита. Масса тела на 10 и 20 сут снизилась на 13 и 23% соответственно.

На 8-9 й день затравки пали 4 крысы, с 10 по 17 сут – 16 крыс. На 23-25 день погибло 6, на 26 и 30 сут пало по 2 крысы. В течение месяца все 30 животных этой группы пали (6 крыс были убиты для проведения гематологических, биохимических и патоморфологических исследований).

Таким образом, при сочетанном воздействии диоксина и Т-2 токсина происходит потенцирование токсического эффекта, характеризующееся развитием выраженной клиники отравления и гибелью всех животных в течение 30 сут с начала затравки.

У животных четвертой группы, получавших наряду с токсикантами лечебные препараты, клинические признаки появились на 8 сут затравки в виде общего угнетения, вялости, взъерошенности шерстного покрова, с последующим развитием диареи у некоторых животных. С 10 по 22 день пало 10 крыс, на 31 и 39 сут пало по одной крысе. Всего из 30 крыс пало 12, выжило 18, или 60%.

При одновременной затравке крыс диоксином и Т-2 токсином количество эритроцитов на 20 сут снизилось на 16%, лейкоцитов на 10 и 20 сутки – на 18 и 31%. У леченных животных содержание эритроцитов и гемоглобина на протяжении опыта существенно не изменялось. Количество лейкоцитов понижалось на 20 и 30 сут на 23 и 21 % соответственно.

При совместном введении диоксина и Т-2 токсина количество общего белка на 20 сут понизилось на 17%. Концентрация альбуминов на 10 и 20 сутки уменьшилась на 26 и 23%, α -глобулинов на – 45 и 34% соответственно. Наибольшее увеличение содержания β -глобулинов приходилось на 10 сут на 62%, на 20 сут повышение составило 53%. У леченных животных максимальное увеличение содержания β -глобулинов на 49% приходилось на 20 сут, снижение γ -глобулинов на 23 и 42% - на 10 и 20 сут соответственно.

При сочетанном отравлении крыс диоксином и Т-2 токсином отмечалось снижение всех показателей фагоцитоза. Фагоцитарная активность на 10 и 20 сут понизилась на 18 и 31%, фагоцитарное число – на 44 и 58%, фагоцитарный индекс – на 21 и 37%, фагоцитарная емкость – на 54

и 71% соответственно. Наблюдалось уменьшение активности лизоцима к 10 и 20 сут на 33 и 44%.

У белых крыс, которым наряду с токсикантами давали бентонит с димефосфоном, наблюдалось менее выраженное угнетение показателей фагоцитоза, чем у нелеченных животных. При этом фагоцитарная активность на 10, 20 и 30 сут снижалась на 19, 18 и 15%; фагоцитарное число – на 35, 24 и 18%; фагоцитарная емкость – на 38, 41 и 18% соответственно. Активность лизоцима сыворотки крови у леченных животных снижалась в два раза меньше, чем у отравленных белых крыс без лечения.

При сочетанном отравлении животных наблюдалось снижение содержания Т-лимфоцитов на 20 сут на 13%; В- лимфоцитов – на 15%. У леченных животных отмечалось незначительное снижение содержания Т-лимфоцитов на 9%, В-лимфоцитов – на 10% на 30 сут опыта.

Итак, в результате исследований установлено, что при сочетанном субхроническом отравлении белых крыс диоксином в дозе 1/200 ЛД₅₀ и Т-2 токсином в дозе 1/10 ЛД₅₀ ежедневное пероральное введение бентонита с димефосфоном способствует нормализации клинических, гематологических и биохимических показателей, естественной резистентности и иммунобиологической реактивности организма.

3.2. Изучение совместного действия диоксина и Т-2 токсина на организм кроликов на фоне применения бентонита с димефосфоном

Исследования были проведены на 24 кроликах, которые были разделены на 4 группы по шесть животных в каждой. Животным первой группы вводили диоксин в дозе 1/200 ЛД₅₀, второй – Т-2 токсин – в дозе 1/20 ЛД₅₀. Третьей группе одновременно вводили диоксин и Т-2 токсин в выше указанных дозах. Четвертая группа наряду с токсикантами получала димефосфон в дозе 90 мг/кг массы животного и бентонит в количестве 2% от общего рациона.

Затравку животных и лечение проводили в течение 30 дней. После окончания затравки за животными вели наблюдение на протяжении 30 сут. При отравлении кроликов диоксином в течение 30 дней в дозе $1/200$ ЛД₅₀ внешние признаки интоксикации не проявлялись. У животных второй группы, которым давали Т-2 токсин, клинические признаки появились на 16 день, которые характеризовались угнетением, вялостью, уменьшением потребления корма. Через 6 дней после прекращения затравки внешние признаки токсикоза исчезли.

При сочетанном отравлении диоксином и Т-2 токсином клинические признаки появились на 10 сут в виде общего угнетения, вялости, взъерошенности шерстного покрова, нарушения аппетита. В последующие дни наблюдалась диарея. В течение месяца пали все 6 кроликов; два на 14 и 15 сут, по одному на 20 и 21 сут, два – на 30 сутки.

Из леченных 6 животных с 19 по 24 сут пало 3 кролика, т.е. 50%.

При раздельном введении диоксина и Т-2 токсина существенных изменений в гематологических показателях не наблюдалось, отмечались колебания эритроцитов и гемоглобина в пределах 10 – 18 %. У животных, получавших диоксин и Т-2 токсин, количество лейкоцитов на 10 сут увеличилось на 12%, а к 20 сут происходило снижение этого показателя. В группе, получавшей лечебные препараты, количество лейкоцитов увеличилось на 20 сутки исследований на 44,6%, в дальнейшем происходило снижение данного показателя до фонового уровня (рис.1.).

В группе, где животные получали одновременно диоксин и Т-2 токсин, количество общего белка снижалось на 10 и 20 сут на 11 и 14%, альбуминов – на 18 и 35%, β -глобулинов на 20 сутки повышалось на 95%, содержание γ -глобулинов увеличивалось на 10 и 20 сут на 70 и 31%.

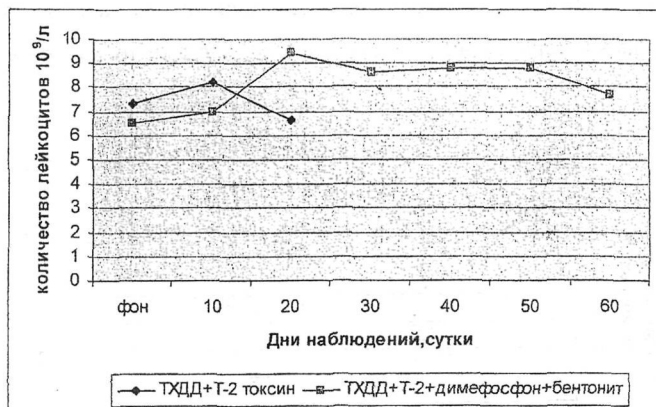


Рис. 1. Содержание лейкоцитов в крови кроликов при сочетанном отравлении диоксином и Т-2 токсином на фоне применения бентонита с димефосфоном

У животных, получавших лечебные препараты, снижение количества альбуминов было менее выраженным и на 10 и 20 сут составляло 11 и 14%, в дальнейшем концентрация данной фракции восстанавливалась и к 30 дню достигала фоновой величины. Содержание α -глобулинов повышалось на 30, 40, 60 сут исследований на 24, 26, 64 %, β -глобулинов – увеличивалось на 20 и 30 сутки на 53 и 67 %. Максимальное увеличение концентрации γ -глобулинов на 87% наблюдалось на 10 сут, с 30 по 50 день она колебалась в пределах фоновых величин, а к 60 сут снова повысилась на 30%.

В группе, подвергнутой заправке диоксином и Т-2 токсином, фагоцитарная активность снижалась на 20 – 22%; фагоцитарное число на 33 – 36%; фагоцитарный индекс на 20 – 24%; фагоцитарная емкость на 26 – 35%. В группе, получавшей лечебные препараты, угнетение показателей фагоцитоза было менее выраженным (рис. 2).

Активность лизоцима при сочетанном отравлении животных на 10 и 20 сут снижалась на 17 и 32%. В группе, где наряду с токсикантами давали бентонит с димефосфоном, изменения активности лизоцима носили перемежающийся характер.

Так, на 10 сут активность фермента понизилась на 18%, на 20 сут – возвращалась к норме, к 40 и 60 сут происходило его снижение на 18 и 22% (рис. 3).

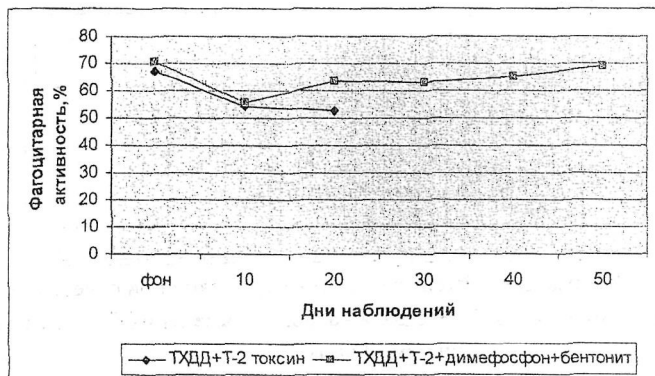


Рис.2. Фагоцитарная активность нейтрофилов крови кроликов при сочетанном отравлении диоксином в дозе $1/200$ ЛД₅₀ и Т-2 токсином в дозе $1/20$ ЛД₅₀ на фоне применения бентонита с димефосфоном

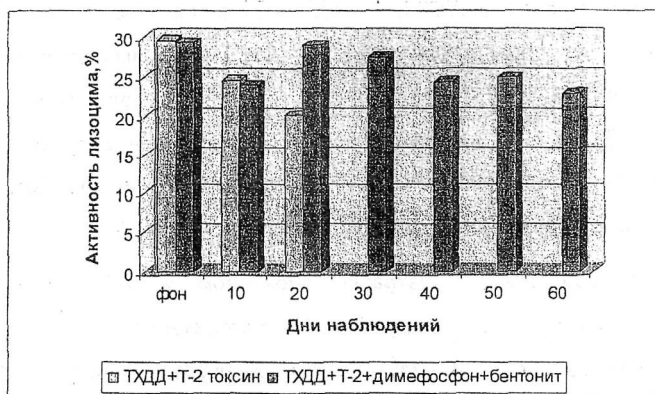


Рис. 3. Активность лизоцима сыворотки крови кроликов при сочетанном отравлении диоксином в дозе $1/200$ ЛД₅₀ и Т-2 токсином в дозе $1/20$ ЛД₅₀ на фоне применения бентонита с димефосфоном

При сочетанном введении диоксина и Т-2 токсина изменения в содержании Т- и В-лимфоцитов колебались в пределах 13-20% и были несущественными как в контрольной, так и в опытных группах.

3.3. Патоморфологические исследования органов и тканей белых крыс при сочетанном отравлении диоксином в дозе 1/200 ЛД₅₀ и Т-2 токсином в дозе 1/10 ЛД₅₀ и применении бентонита с димефосфоном

У крыс, получавших одновременно диоксин и Т-2 токсин, наблюдали следующие патологоанатомические изменения. В подкожной клетчатке жировые отложения отсутствовали, отмечены кровоизлияния. Слизистая оболочка носовой полости гиперимирована. Наблюдались язвенно-некротические поражения слизистой оболочки ротовой полости. Легкие розовые, с участками тёмно-вишнёвого цвета, плотной консистенции. Селезенка не увеличена, вишнево-красного цвета, края острые.

Печень дряблой консистенции темно-красного цвета, увеличена в размерах. Желудок наполнен кормом, слизистая розового цвета. Тонкий отдел кишечника содержит газы, слизистая светло-красного цвета. Толстый отдел кишечника умеренно наполнен каловыми массами кашицеобразной консистенции, слизистая оболочка гиперимирована.

Почки неравномерно окрашены, граница коркового и мозгового слоев выражена нечётко. Мочевой пузырь наполнен прозрачной, соломенного цвета мочой, слизистая бледно-розового цвета. Головной мозг отёчный, плотной консистенции, сосуды кровенаполнены.

При гистологическом исследовании у животных во все сроки сочетанной интоксикации наблюдались выраженные изменения во внутренних органах. У животных, погибших на 9-10 день, отмечался умеренный внутриклеточный и внеклеточный отек головного мозга. В почках на фоне зернистой дистрофии определялись участки некробиоза,

десквамация эпителия извитых и прямых канальцев, слущивание эпителия прямых канальцев было выражено более значительно.

В печени на фоне резкого застойного полнокровия наблюдались кровоизлияния в перисинусоидальные пространства, в синусоидах находились единичные микрофаги, гепатоциты были в состоянии зернистой дистрофии, некоторые – некротизированные. Регенераторные признаки гепатоцитов были выражены слабо, в портальных трактах появлялись единичные лимфоциты и гистиоциты. В селезенке отмечалось полнокровие красной пульпы с кровоизлияниями, фолликулы с просветленными центрами и повышение численности Т-лимфоцитов.

При падеже животных на сроках 11-20 дней определялся умеренно выраженный внеклеточный и внутриклеточный отек в головном мозге, сателлитоз и нейронофагия были более распространенные, чем на раннем сроке, в почках развивалась белковая дистрофия с участками некробиоза эпителия канальцев и неравномерной десквамацией. В печени на фоне зернистой дистрофии определялись очаговые некрозы гепатоцитов, регенерация отдельных клеток, очаговая вакуольная дистрофия, в синусоидах повышалось количество микрофагов, во всех органах резкое венозное полнокровие. В селезенке фолликулы имели просветленные центры, наблюдались признаки массового разрушения лимфоцитов в виде скоплений их обломков.

При затравке животных в течение 21-30 дней на фоне зернистой и вакуольной дистрофии определялись очаговые некрозы гепатоцитов, причем на большем сроке эти изменения были более выражены. В почках наблюдался отек стромы с инфильтрацией единичными лимфоцитами, гистиоцитами и периваскулярными кровоизлияниями, белковая дистрофия с участками некробиоза и некроза эпителия.

В печени в портальных трактах определялась инфильтрация лимфоцитами, гистиоцитами. Нарушение проницаемости сосудов с периваскулярными кровоизлияниями имелось в головном мозге и печени.

Применение бентонита с димефосфоном оказывало благоприятное влияние на гистологическую структуру внутренних органов, что проявлялось в сохранении целостности и внутренней стабильности клеток, предотвращении возникновения дистрофических процессов в органах. У леченных и выживших животных, убитых на сроке 40-50 дней, структура паренхиматозных органов не отличалась от контрольных (не отравленных) животных.

ВЫВОДЫ

1. Сочетанное пероральное введение белым крысам и кроликам диоксина в дозе $1/200$ ЛД₅₀ и Т-2 токсина в дозах $1/10$ и $1/20$ ЛД₅₀ вызывает потенцирование токсического эффекта, характеризующееся общим угнетением, снижением или отсутствием аппетита, понижением массы тела, тремором, нарушением координации движения, некрозом в уголках рта, диареей и ринитом. Поступление диоксина совместно с Т-2 токсином в течение 30 сут в вышеуказанных дозах вызывает гибель всех животных к концу затравки, при 100 %- ной выживаемости белых крыс и кроликов при раздельном воздействии токсикантов.

2. Сочетанное воздействие диоксина в дозе $1/200$ ЛД₅₀ и Т-2 токсина в дозах $1/10$ и $1/20$ ЛД₅₀ характеризуется более выраженными гематологическими и биохимическими изменениями, чем при раздельном введении токсикантов, и сопровождается снижением количества эритроцитов, гемоглобина, лейкоцитов на 15-16, 11-17, 15-31% соответственно, уменьшением содержания общего белка на 17-19% и изменением соотношения его фракций (снижается концентрация альбуминов на 26-35% и повышается содержание β -глобулинов на 63-95%).

3. Диоксин и Т-2 токсин при совместном поступлении в организм животных в течение 30 сут оказывают угнетающее действие на естественную резистентность и иммунобиологическую реактивность крыс и кроликов, характеризующееся снижением фагоцитарной активности нейтрофилов на

22-37%, активности лизоцима на 32-44%, уменьшением содержания Т – лимфоцитов на 13-19% и В- лимфоцитов- на 15-19%.

4. При сочетанном действии диоксина в дозе $1/200 \text{ ЛД}_{50}$ и Т-2 токсина в дозе $1/10 \text{ ЛД}_{50}$ в течение 30 дней у погибших животных наблюдаются выраженные патоморфологические изменения в виде паренхиматозных дистрофий с участками некробиоза и некроза, паретического венозного полнокровия с нарушением проницаемости сосудов и периваскулярными кровоизлияниями, отека стромы внутренних органов и головного мозга, нейронодистрофии, которые с увеличением длительности интоксикации становятся более значительными.

5. Ежедневное пероральное введение бентонита в дозе 2% от рациона и димефосфона в дозе 90 мг/кг живой массы при комбинированном отравлении белых крыс и кроликов диоксином ($1/200 \text{ ЛД}_{50}$) и Т-2 токсином ($1/10$ и $1/20 \text{ ЛД}_{50}$), способствует нормализации клинических, гематологических и биохимических показателей, естественной резистентности и иммунобиологической реактивности организма, предотвращает развитие дегенеративнодистрофических изменений в печени, почках, селезенке и головном мозге, предупреждает гибель 50–60% животных (при 100%-ной гибели в контроле, без лечения).

ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

1. Усиление токсического действия диоксина и Т-2 токсина при совместном поступлении их в организм необходимо учитывать при диагностике и лечении отравлений животных.

2. В качестве средств лечения при сочетанном воздействии диоксина и Т-2 токсина на животных рекомендуется добавлять в рацион сорбент бентонит в сочетании с димефосфоном.

3. Результаты исследований использованы при разработке "Рекомендаций по диагностике, профилактике и лечению токсикозов животных, вызванных диоксинами".- М.: ФГНУ " Росинформагротех", 2006 и

" Временной инструкции по применению димефосфона и левамизола при отравлении животных диоксином " (Утв. ГУВ КМ РТ 26.08.2006 г.).

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Нигматов, Д.Х. Антиоксидантное действие димефосфона и витамина Е при отравлении животных диоксином / Д.Х. Нигматов, В.А. Новиков, И.Р. Кадиков // Ветеринарный врач, 2005.-№4 – С.9-11.

2. Кадиков, И.Р. Гематологические и биохимические показатели белых крыс при отравлении диоксином и применении бентонита / И.Р. Кадиков// Токсикозы животных и актуальные проблемы болезней молодняка: Материалы международной научной конференции. - Казань-2006. – С.122-124.

3. Кадиков, И.Р. Показатели естественной резистентности животных при отравлении диоксином и применении бентонита с димефосфоном / И.Р. Кадиков, Р.З. Гибадуллин, В.А. Новиков, М.Я. Тремасов, А.А. Иванов // Токсикозы животных и актуальные проблемы болезней молодняка: Материалы международной научной конференции, - Казань – 2006. – С.124-126.

4. Кадиков, И.Р. Иммунобиологические показатели белых крыс при отравлении диоксином и применении бентонита / И.Р. Кадиков // Ученые записки КГАВМ. - Казань, 2006 – Т 188 – С. 127-131.

5. Кадиков, И.Р. Сочетанное действие диоксина и Т-2 токсина на организм животных / И.Р. Кадиков, А.И. Сергейчев, В.А. Новиков, М.Я. Тремасов // Ветеринарный врач, 2007. - №1 – С.18-20.

6. Кадиков, И.Р. Применение бентонита и димефосфона при отравлении животных диоксином / И.Р. Кадиков, Р.З. Гибадуллин, В.А. Новиков, М.Я. Тремасов // Материалы первого съезда ветеринарных фармакологов России. – Воронеж, 2007 – С.340-343.

7. Кадиков, И.Р. Лечебная эффективность димефосфона и бентонита при сочетанном отравлении животных диоксином и Т-2 токсином / И.Р.

Кадиков // Материалы научно-практической конференции молодых ученых и специалистов «Актуальные проблемы ветеринарии». – Казань, 2007 – С. 46-48.

8. **Кадиков, И.Р.** Показатели естественной резистентности кроликов при отравлении Т-2 токсином и применении лекарственных средств / **И.Р. Кадиков, В.А. Новиков, М.Я. Тремасов** // Актуальные проблемы болезней молодняка в современных условиях: Материалы международной научно-практической конференции, – Воронеж: изд-во «Истоки», 2008.-С.162-165.

9. **Кадиков, И.Р.** Коррекция естественной резистентности и иммунобиологической реактивности организма при сочетанном отравлении белых крыс диоксином и Т-2 токсином / **И.Р. Кадиков, В.А.Новиков, М.Я. Тремасов, К.Х. Папуниди** // Современные проблемы диагностики, лечения и профилактики инфекционных болезней животных и птиц: Сборник научных трудов ведущих ученых России, СНГ и др. стран, - Екатеринбург, 2008.- С206-210.

Подписано в печать 30.12.2008

Сдано в набор 6.01.2009

Заказ № 5

Формат 60×84 1/16. Тираж 100 экз.

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

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