

На правах рукописи

КАДИКОВ ИЛЬНУР РАВИЛЕВИЧ

**СОЧЕТАННОЕ ДЕЙСТВИЕ НА ЖИВОТНЫХ ЭКОТОКСИКАНТОВ
ПРИРОДНОГО И ТЕХНОГЕННОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ И ОЦЕНКА
ЭФФЕКТИВНОСТИ СРЕДСТВ ПРОФИЛАКТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ**

06.02.05-ветеринарная санитария, экология, зоогигиена и ветеринарно-
санитарная экспертиза

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
доктора биологических наук

Казань 2017

Работа выполнена в ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности» (г. Казань)

Научный консультант: **Константин Христофорович Папунди**
заслуженный деятель науки РФ и РТ, доктор ветеринарных наук, профессор

Официальные оппоненты: **Семенов Владимир Григорьевич**
заслуженный деятель науки Чувашской Республики, доктор биологических наук, профессор кафедры морфологии, акушерства и терапии ФГБОУ ВО «Чувашская государственная сельскохозяйственная академия»

Уразаев Дмитрий Николаевич
доктор ветеринарных наук, профессор кафедры физиологии, фармакологии и токсикологии ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологий – МВА имени К.И. Скрябина

Яппаров Ильдар Ахтамович
доктор биологических наук, врио директора ФГБНУ «Татарский научно-исследовательский институт агрохимии и почвоведения»

Ведущее учреждение: ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт ветеринарной санитарии, гигиены и экологии».

Защита состоится «__» _____ 2017 г. в 14 часов на заседании диссертационного совета Д 220.034.01 ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана»

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана».

Автореферат разослан «__» _____ 2017 года и размещен на сайтах <http://www.vak.ed.gov.ru> и www.ksavm.senet.ru

Учёный секретарь диссертационного совета, доктор биологических наук

Юсупова Г.Р.

1 ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы. Резкое ухудшение экологической ситуации во многих регионах мира, связанное с антропогенной деятельностью, повлияло на качественный состав потребляемой продукции. С продуктами питания в организм поступает значительная часть химических и биологических веществ. Они попадают, и накапливаются в пищевых продуктах по ходу как биологической цепи, обеспечивающей обмен веществ между живыми организмами, с одной стороны, и воздухом, водой и почвой - с другой, так и пищевой цепи, включающей все этапы сельскохозяйственного и промышленного производства, продовольственного сырья и пищевых продуктов [4,16].

К экотоксикантам, имеющим приоритетное значение по степени опасности для здоровья животных и человека, из органических относятся особо стойкие диоксины и диоксиноподобные соединения, а из неорганических – токсичные элементы [2,15]. Кроме техногенных токсикантов продукция животноводства и растениеводства контаминируется микотоксинами, представляющим собой как экономическую, так и биоэкологическую опасность [6].

Диоксины и диоксиноподобные соединения представляют собой наиболее опасную химическую угрозу для здоровья и биологической целостности человечества и окружающей среды. Под общим условным названием "диоксины" рассматривается большая группа полигалогенированных ароматических соединений, имеющих сходные физико-химические свойства и механизмы биологического действия. Эта группа объединяет 2,3,7,8-тетрахлордибензо-п-диоксин (2,3,7,8-ТХДД, диоксин), обладающий наибольшей биологической активностью, и целый ряд родственных диоксину, так называемых «диоксиноподобных» или «диоксинсодержащих» соединений с относительно меньшей биологической активностью [5,19].

Тяжелые металлы являются одними из весьма распространенных в окружающей среде токсичными элементами, соединения свинца и кадмия известны своей высокой токсичностью. Поступающие с кормами тяжелые металлы, как правило, не вызывают острого отравления животных, однако, обладая кумулятивными свойствами, они негативно действуют на многие органы и системы живого организма [12,18].

Многообразие микотоксинов, высокий уровень их токсичности, опасные формы ее проявления, а так же способность проникать в органы, ткани и биологические жидкости продуктивных животных и человека делают ситуацию крайне серьезной. Опасность микотоксинов настолько высока, что эта проблема выходит за пределы отдельных стран [7].

При изучении экотоксикантов большое внимание уделяется особенностям их кинетики, метаболизма, биотрансформации, кумуляции и концентрации; движению по пищевым цепочкам; переносу и переходам из

одной среды в другую; возможностям превращений во вторичные загрязнители; их влиянию на различные организмы, входящие в экосистемы.

Вместе с тем, важной научной проблемой является изучение сочетанного воздействия экотоксикантов на биологические объекты [14]. Прежде всего, это объясняется постоянной потенциальной угрозой такого проявления в естественных природных условиях. Токсиканты накапливаются в почве и растениях, и как следствие в кормах, в результате чего происходят сочетанные отравления животных.

Отсутствие специфических и эффективных средств защиты от таких сочетанных отравлений привело нас к разработке моделей лечения, включающих комплексное применение сорбентов, адаптогенов, мембраностабилизаторов и биогенных стимуляторов.

Степень разработанности темы. На сегодняшний день установлены многочисленные факты загрязнения продуктов питания диоксинами, тяжелыми металлами и микотоксинами в концентрациях, превышающих установленные нормативы, как в США и Европе, так и в России [1, 11, 13].

Наиболее опасным является одновременное воздействие техногенных и биологических ядов, обладающих разносторонними (тератогенным, канцерогенным, мутагенным, иммунотоксическим, гепатотоксическим, цитотоксическим и др.) эффектами вредного воздействия на организм. Они представляют опасность для животных и человека не только при непосредственном воздействии на организм, но и через влияние на санитарно-гигиенические показатели окружающей среды [22, 23, 24]. Как показывают исследования, в продукции одновременно могут присутствовать яды природного и техногенного происхождения, известны случаи сочетанного отравления различными токсикантами [8, 10, 16].

Зарубежными и отечественными исследователями изучены механизмы действия ксенобиотиков на животных и человека, но в случаи с сочетанными интоксикациями вопрос остается открытым. Вследствие этого изучение сочетанного действия экотоксикантов на живые организмы, влияния их, на функциональные системы в динамике, на органы и клетки организма позволило бы разработать эффективные средства и методы профилактики и лечения таких отравлений.

Цель и задачи. Целью работы явилось изучение сочетанного воздействия диоксина, Т-2 токсина и токсичных элементов на животных и оценка эффективности лечебно-профилактических средств. В соответствии с поставленной целью решались следующие задачи:

- изучить сочетанное воздействие диоксина, токсичных элементов и Т-2 токсина на организм лабораторных и сельскохозяйственных животных при хронической интоксикации малыми дозами;
- оценить эффективность средств профилактики и лечения при сочетанном отравлении животных диоксином и Т-2 токсином, диоксином и токсичными элементами;

-определение остаточных количеств экотоксикантов в органах и тканях животных;

- разработать нормативные документы по диагностике, профилактике и лечению животных при отравлении диоксином в отдельности и в сочетании с тяжелыми металлами и Т-2 токсином.

Научная новизна. Впервые смоделирована в лабораторных условиях сочетанная интоксикация разных видов животных диоксином, Т-2 токсином и токсичными элементами; проведен анализ клинических, гематологических, биохимических показателей и естественной резистентности, макро и микрокартины органов на основе комплексных исследований; изучена токсикокинетика ксенобиотиков при таких отравлениях.

Проведен скрининг лечебно-профилактических средств и предложено несколько моделей лечения сочетанных отравлений животных, вызванных ксенобиотиками, которые включают в себя совместное применение бентонита с димефосфоном, цеолита с димефосфоном, янтарной кислоты с бентонитом и АСД-2 с бентонитом. Выявлено положительное влияние исследуемых препаратов на функциональные системы организма белых крыс, кроликов, овец и поросят при сочетанном отравлении диоксином, Т-2 токсином и токсичными элементами.

Новизна полученных данных подтверждена патентом на изобретение № 2565406 «Способ защиты животных при отравлении диоксином».

Теоретическая и практическая значимость работы. На основе собственных исследований рассмотрены отравления различных видов сельскохозяйственных и лабораторных животных, вызванных диоксинами в отдельности, а также в сочетании с микотоксинами и токсичными элементами. Описаны клиника, механизм действия, профилактика и лечение животных при совместном отравлении их суперядами.

Материалы диссертационной работы вошли в следующие нормативные документы:

- Подготовка образцов для трансмиссионной электронной микроскопии, применяемой при токсикологических исследованиях: компьютеризация расчетов (утв. Отделением ветеринарной медицины Россельхозакадемии 01.11.2012);

-Токсикозы животных, вызванные диоксинами: этиология, профилактика и лечение (утв. Отделением ветеринарной медицины Россельхозакадемии 19.12.2013);

-Инструкция по применению лекарственных средств для лечения и профилактики сочетанных токсикозов, вызванных диоксином и Т-2 токсином (утв. ГУВ КМ Республики Татарстан 25.10.2012).

Методология и методы исследований.

Для достижения основной цели диссертационной работы и обоснования применения полученных результатов использованы адекватные методологические приемы и доступные методы исследования.

Методологические подходы основаны на обосновании актуальности, целях и задачах исследований, анализа данных отечественных и зарубежных публикаций по тематике исследования и результатов собственных исследований.

Исследования проводились с использованием клинических, гематологических, биохимических, иммунобиологических, количественных, патоморфологических, цитологических и математических методов.

В проведении экспериментальных работ использовали белых крыс, кроликов породы шиншилла, поросят породы крупная белая, овец куйбышевской породы и самцов морских свинок.

Основные положения, выносимые на защиту:

- сочетанное воздействие диоксина и Т-2 токсина, диоксина и токсичных элементов на организм лабораторных и сельскохозяйственных животных при хронической интоксикации малыми дозами;

-клинические признаки, гематологические, биохимические, иммунобиологические показатели крови, изменения содержания микроэлементов в органах, патоморфологические и цитологические изменения у животных, а также определение остаточных количеств токсикантов;

- эффективность методов профилактики и лечения животных при сочетанном отравлении диоксином, Т-2 токсином и токсичными элементами.

Степень достоверности и апробация диссертации. Статистическая обработка полученных данных проведена математическими методами, с использованием прикладной программы «Microsoft Excel». Результаты исследований не вызывают сомнений как по достоверности полученных данных, так и по выводам, сделанным на их основе.

Основные положения и результаты исследования представлены, доложены и одобрены на годовых отчетах по НИР ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» (2009-2016 гг.), на международных и всероссийских научно-практических конференциях, и конгрессах (Казань, 2009-2014; Екатеринбург, 2010; Харьков, 2010; Санкт-Петербург, 2011-2015; Краснодар, 2011; Москва, 2011-2014; Щелково, 2012; Нальчик, 2013; Витебск, 2015).

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 49 научных работ, в том числе 20 статей в изданиях, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки РФ, два методических пособия и одна монография.

Объем и структура работы. Диссертация изложена на 337 страницах компьютерного текста и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, результатов собственных исследований, заключения, списка сокращённых терминов, списка литературы и приложений. Работа иллюстрирована 54 таблицами и 102 рисунками. Список литературы включает 447 литературных источника, в том числе 146 - зарубежных авторов.

2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Работа выполнена в лаборатории тяжелых металлов и синтетических ядов отдела токсикологии.

В опытах было использовано 5 видов животных: 198 белых крыс, 88 кроликов, 50 морских свинок, 42 овцы, 21 поросенок. Условия проведения опытов, схемы, вид и количество используемых при этом животных, дозировки, кратность применения токсикантов и препаратов приведены в соответствующих разделах работы.

Для работы использовали 2,3,7,8-ТХДД (2,3,7,8-тетрахлордибензо-п-диоксин), изготовленный ПО «Химпром», Т-2 токсин, полученный в лаборатории микотоксинов ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», свинца ацетат ($C_4H_6O_4Pb \times 3H_2O$) – ГОСТ 4426 – 75 и кадмия хлорид ($CdCl_2 \times 2,5H_2O$) – ГОСТ 4330 – 76.

Диоксин применяли в виде масляного раствора: крысам и кроликам давали в хлебных болюсах, пороссятам и овцам нанесением, на корень языка специально изготовленным атравматическим зондом, курам и морским свинкам при помощи дозатора. Т-2 токсин задавали крысам в виде 5%-ного водноспиртового раствора, овцам и пороссятам - с кормом. тяжелые металлы - в хлебных болюсах и с кормом.

В качестве лечебно-профилактических препаратов использовали мембраностабилизатор и иммуностимулятор – димефосфон, тканевой стимулятор – АСД-2, адаптоген – янтарная кислота, сорбенты – бентонит и цеолит.

В ходе экспериментов проводили определение живой массы и температуры, учитывали продолжительность жизни или время выхода из состояния интоксикации. Содержания эритроцитов, лейкоцитов, гемоглобина, дифференциальный подсчет лейкоцитов проводили по общепринятым методам.

Общий белок сыворотки крови исследовали на рефрактометре ИРФ – 22, определение белковых фракций - турбидиметрическим методом на КФК-2. Активность ферментов, содержание углеводов, продуктов белкового и липидного обменов определяли на биохимическом анализаторе Microlab 300.

Продукты перекисного окисления липидов определяли по Гончаренко М. С., Латиновой А. М. [2] в модификации Гурьяновой В. А. и Трошина Е. И.

Фагоцитарную способность нейтрофилов в периферической крови исследовали по методике Кост С.А. и Стенко М.И. [9], а активность лизоцима в сыворотке крови устанавливали нефелометрическим методом по Дорофейчуку В.Г. [3].

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. [21].

Определение Т-2 токсина проводили с помощью биоавтографического метода (утв. Главным управлением ветеринарии МСХ СССР-25.05.87 г).

Содержание тяжелых металлов и микроэлементов в органах и тканях определяли атомно-абсорбционным методом на ААС Perken Elmer AAnalyst 200 (ГОСТ 39178 – 96).

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

С помощью методов электронной микроскопии исследовали ультраструктуру клеток паренхимы печени, коркового слоя почек, белого вещества коры головного мозга и селезенки. Подготовка отобранного материала проводилась по принятой классической схеме. Образцы фиксировали в 1%-ном растворе глутарового альдегида на 0.1М фосфатном буфере (РН 7,4). Постфиксацию проводили в 2%-ном растворе четырехокси осмия на том же буфере в течении 2 часов. После дегидратации в спиртах и ацетоне кусочки ткани заключали в смесь эпоновых смол. Ультратонкие срезы просматривали в электронном микроскопе JEM – 100СХ.

Гистологические и электронномикроскопические исследования проводили совместно с доктором биологических наук Саитовым В.Р. и ведущим научным сотрудником Губеевой Е.Г. за что автор выражает искреннюю благодарность.

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 СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1 Изучение раздельного и сочетанного действия диоксина и Т-2 токсина на организм белых крыс на фоне применения димефосфона с бентонитом

Исследования проводили на белых крысах, живой массой 190-210г, которые были разделены на 4 группы по 36 животных в каждой. Первой группе задавали перорально диоксин в виде масляного раствора в дозе 0,3 мкг/кг, что составляет 1/200 ЛД₅₀, второй группе - Т-2 токсин в виде водноспиртового раствора в дозе 0,3 мг/кг(1/10ЛД₅₀). Третьей группе вводили одновременно перорально диоксин и Т-2 токсин в вышеуказанных 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 группах затравку животных токсикантами проводили в течение 30 суток.

В первой группе, которая получала только диоксин, клинические признаки отравления отсутствовали. Масса животных оставалась на уровне фоновых величин.

У животных второй группы, получавших микотоксин Т-2, клинические признаки проявлялись в виде общего угнетения, вялости, диареи. Живая масса 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 задавали одновременно диоксин и Т-2 токсин, клинические признаки появились на 7 день затравки в виде общего угнетения, вялости, понижения аппетита либо его отсутствия, диареи, взъерошенности шерстного покрова, тремора, нарушения координации движения, слизистых истечений из ноздрей, в уголках рта – признаки некроза. Масса тела на 10 и 20 сутки снизилась на 13 и 23% соответственно.

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

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 у некоторых диареи. С 10 по 22 день пало десять крыс, на 31 и 39 сутки пало по две крысы. Всего из 36 крыс пало 14, выжило 22, или 61%.

Наиболее яркие изменения гематологических, биохимических и иммунобиологических показателей происходили в третьей и четвертой группах.

При одновременной затравке крыс диоксином и Т-2 токсином количество эритроцитов на 20 сут снизилось на 16%. Наблюдалось снижение количества лейкоцитов на 10 и 20 сутки на 18 и 31% соответственно. У леченных животных количество эритроцитов и уровень гемоглобина оставались в пределах фоновых величин.

При совместном введении диоксина и Т-2 токсина общий белок на 20 сут понизился на 17%. Концентрация альбуминов на 10 и 20 сут 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 составило 53%. У леченных животных концентрация альбуминов на 10 и 20 сутки уменьшилась на 24 и 45%, в последующие дни происходило ее восстановление. Наибольшее увеличение содержания β -глобулинов на 49% приходилось на 20 сутки. Повышение γ -глобулинов на 23 и 42% наблюдалось на 10 и 20 сут соответственно.

Снижение уровня альбуминов и превышение средних значений γ -глобулинов может свидетельствовать о нарушении белковообразовательной функции печени вследствие хронической интоксикации.

При сочетанном отравлении крыс диоксином и Т-2 токсином фагоцитарная активность на 10 и 20 сут понизилась на 28 и 37%, фагоцитарное число – на 44 и 58%, фагоцитарный индекс – на 21 и 34%,

фагоцитарная емкость – на 54 и 71%, активность лизоцима - на 33 и 44% соответственно.

У животных, которым наряду с токсикантами давали бентонит с димефосфоном, наблюдалось менее выраженное угнетение показателей фагоцитоза, чем у нелеченых животных. Активность лизоцима сыворотки крови у леченных животных снижалась в два раза меньше, чем у отравленных не леченных белых крыс.

При сочетанном отравлении животных на 20 сут наблюдалось снижение количества Т-лимфоцитов на 13%; В- лимфоцитов – на 15%. У леченных животных содержание Т- и В-лимфоцитов существенно не изменялось.

Патоморфологическими исследованиями внутренних органов павших животных установлено, что при одновременной затравке диоксином и Т-2 токсином происходит умеренно выраженный внеклеточный и внутриклеточный отек в отделах головного мозга, нейронодистрофия, сателлитоз и нейронофагия. В почках развивалась белковая дистрофия с участками некробиоза эпителия канальцев и неравномерной десквамаций, у некоторых животных десквамация эпителия была резко выражена.

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

Таким образом, результаты проведенных исследований свидетельствуют о том, что при сочетанном воздействии на животных диоксина и Т-2 токсина наблюдается потенцирование токсического эффекта, которое характеризуется нарушениями функции и гистоструктуры органов.

3.2 Изучение отдельного и сочетанного воздействия диоксина и кадмия хлорида на организм белых крыс в малых дозах

Опыты проводили на 54 белых крысах массой 180-200 г., разделенных на 6 групп по 9 животных в каждой. Первая группа служила биологическим контролем, вторая получала диоксин в дозе 1/400 ЛД₅₀ (0,15 мкг/кг массы тела), третья – диоксин в дозе 1/800 ЛД₅₀ (0,07 мкг/кг массы тела), четвертая – кадмия хлорид в количестве 2ПДК (0,6 мг/кг корма). Пятая группа подопытных крыс затравливалась совместно с диоксином в количестве 0,15 мкг/кг массы тела и кадмия хлоридом в дозе 0,6 мг/кг корма, шестая получала диоксин (1/800 ЛД₅₀) и токсичный элемент в вышеуказанной дозе. Исследования проводились в течение 60 сут.

В группах животных, получавших токсиканты отдельно, значительных изменений не наблюдалось, за исключением группы, получавших кадмий, где концентрация α-, β- и γ-глобулинов увеличивалась

на 9, 23 и 23%, показатели естественной резистентности снижались в среднем на 10-26%.

В пятой группе белых крыс отмечалось снижение на 40 и 60 сут количества общего белка на 7 и 15%, α -глобулинов к концу исследования - на 21%, а концентрация β -глобулинов к 40 сут на 33%. В исследуемые сроки отмечалось понижение фагоцитарной активности на 30 и 31%, фагоцитарного числа – на 31 и 31%, фагоцитарной емкости - на 37 и 50% соответственно. Активность лизоцима к 60 сут уменьшалась на 14%.

В шестой группе животных количество лейкоцитов уменьшалось на 17%, а фагоцитарная активность - на 20%.

При количественном анализе тимусзависимых и бурсазависимых клеток так же отмечались некоторые изменения. В группе белых крыс получавших сочетано 2,3,7,8-ТХДД в дозе 1/400 ЛД₅₀ и тяжелый металл количество Т- и В- клеток уменьшалось на 40 и 60 дни исследования на 5, 15 и 25, 25%, а в шестой опытной группе снижалось количество бурсазависимых агранулоцитов на протяжении всего срока исследования на 12, 32 и 30% соответственно.

3.3 Изучение раздельного и сочетанного действия диоксина и Т-2 токсина на организм поросят на фоне применения димефосфона с цеолитом

Исследования проводили на 21 поросенке крупно-белой породы в возрасте 8 недель и живой массы 14-17 кг. Поросята были разделены на 7 групп по 3 животных в каждой. Первая группа являлась биологическим контролем и получала обычный рацион. Животных второй группы подвергали ежедневной пероральной заправке диоксином в дозе 1/400 от ЛД₅₀ (15 мкг/кг массы тела), поросята третьей группы получали токсикант в дозе 1/800 от ЛД₅₀ (7,5 мкг/кг массы тела), четвертая - получала Т-2 токсин в дозе 2ПДК (200 мкг/кг массы корма). Пятая группа поросят затравливалась сочетано диоксином в количестве 15 мкг/кг массы тела и Т-2 токсином (2ПДК), шестая – получала диоксин (7,5 мкг/кг массы тела) и микотоксин в вышеуказанной дозе. Седьмая группа поросят получала токсиканты аналогично пятой и подвергалась лечению димефосфоном с цеолитом.

3.3.1 Клинико-гематологические, биохимические и иммунобиологические показатели. Во второй группе животных на 11-14 сут опыта отмечены клинические признаки интоксикации в виде уменьшения потребления корма и воды, общего угнетения, снижения двигательной активности, взъерошенности щетины, На 26 сут развилась диарея, цианоз видимых слизистых оболочек, снижение условных рефлексов на внешние раздражители. Одно животное пало.

Введение поросятам в течение 45 сут диоксина в дозе 1/800 ЛД₅₀ массы тела внешних признаков отравления не вызвало.

В четвертой группе животных, получавших микотоксин Т-2, на 15-17 сут исследования наблюдали понижение аппетита и активности, поросята

имели вялый вид, появилось расстройство со стороны желудочно-кишечного тракта. Наблюдала отставание в росте и развитии.

При экспериментальной затравки диоксином в дозе 15 мкг/кг массы тела и Т-2 токсином в дозе 200 мкг/кг массы корма, клинические признаки интоксикации у поросят проявились на 8-10 сутки. Отмечалось уменьшение потребления корма и воды, общее угнетение, снижение двигательной активности, взъерошенность щетины, одышка, диарея. В последующем, с более выраженным проявлением вышеуказанных симптомов, цианозом видимых слизистых оболочек, снижением условных рефлексов на внешние раздражители. Общий прирост массы за время проведения исследования был ниже на 54% по сравнению с группой контроля. Два поросенка пало к 30 сут.

Симптомы отравления животных, получавших сочетано диоксин в дозе 1/800 ЛД₅₀ и Т-2 токсин в количестве 2 ПДК, были менее выражены, чем в пятой группе поросят и наблюдались через 16 дней после введения ядов.

В седьмой группе, получавшей с токсикантами димефосфон с цеолитом, признаков отравления не наблюдали. Живая масса подопытных животных увеличилась в исследуемые сроки соответственно на 2,66, 3,84 и 3,33 кг против прироста в контроле на 3,00, 4,23 и 4,67 кг. Разница прироста массы поросят этой группы за период проведения опыта составила 18,1%

При длительном поступлении диоксина в дозе 15 мкг/кг массы тела отмечалось снижение концентрации эритроцитов, гемоглобина и лейкоцитов в среднем на 12-25%. У поросят, получавших диоксин в дозе 7,5 мкг/кг массы тела, данные показатели были схожи с биологическим контролем.

В группе животных, получавших Т-2 токсин, отмечали понижение количества эритроцитов на 14%.

У животных пятой группы к 30 и 45 сут опыта отмечали понижение количества эритроцитов на 12 и 23%, гемоглобина - на 16 и 22 %, лейкоцитов - на 22 и 30%.

В шестой группе поросят, получавшей диоксин в дозе 1/800 ЛД₅₀ и Т-2 токсина в количестве 2 ПДК, понижение указанных показателей крови было менее значительным, по сравнению с пятой группой. В седьмой группе содержание эритроцитов, лейкоцитов и гемоглобина повысилось относительно фона на 15, 10 и 11%.

Лейкоформула и биохимические показатели поросят изменялись практически во всех подопытных группах, но более значимые изменения прослеживались у животных, получавших токсиканты совместно. Так, у животных, затравленных диоксином в дозе 1/400 ЛД₅₀ и Т-2 токсином, эозинофилы в исследуемые сроки снижались соответственно на 33, 63 и 100%, моноциты – на 38; 52 и 71% от исходных значений. На 15, 30 и 45 сут отмечалось снижение количества палочкоядерных нейтрофилов на 43, 52 и 78% и сегментоядерных – на 26, 37 и 52%, в то время как содержание лимфоцитов увеличивалось в данные сроки – на 14, 17 и 25% соответственно.

В группе животных, затравленных диоксином в дозе 7,5 мкг/кг массы тела и Т-2 токсином, уровень эозинофилов в исследуемые сроки снижалось

соответственно на 29, 57 и 72%, моноцитов – на 30, 43 и 65%, палочкоядерных нейтрофилов – на 38, 44 и 58%, сегментоядерных – на 18, 24 и 38%, количество лимфоцитов превысило исходное значение на 11, 14 и 21%.

У поросят, получавших с токсикантами лекарственные препараты, уровень эозинофилов на 30 сут опыта оказался выше фонового значения на 14%, на 45 сут – на 28%, концентрация палочкоядерных нейтрофилов и моноцитов превысила фон в этот же срок на 11 и 22%. Сегментоядерные нейтрофилы в исследуемые сроки повышались на 15, 60 и 122% соответственно.

Активность аланинаминотрансферазы характеризовалась превышением исходных величин в пятой группе поросят в данные сроки исследования в 6,5, 4,6 и 3,0 раза, в шестой в 2,4, 1,7 и 1,3 раза. Уровень аспаратаминотрансферазы к 45 сут изменялся в обеих группах, получавших токсиканты сочетано, и повышался в 3,7 и 2,1 раза по сравнению с фоном.

Содержание щелочной фосфатазы в сыворотке крови поросят, получавших совместно диоксин в дозе 15 мкг/кг массы тела и Т-2 токсин в дозе 200 мкг/кг корма, на 15,30 и 45 сут исследования превысило фоновые значения на 87, 120 и 140%, в группе, затравленной диоксином в дозе 7,5 мкг/кг массы тела и Т-2 токсином, – на 48, 79 и 84% соответственно.

Концентрация общего билирубина в сыворотке крови поросят пятой группы в исследуемые сроки превысила фон в 2,0; 2,9 и 3,1 раза, шестой – в 1,7, 2,0 и 2,3 раза соответственно.

Увеличение содержания мочевины в пятой группе животных к 45 сут составило 3,6, шестой – 2,1 раза. Отмечено повышение уровня креатинина, в группах, получавших токсиканты сочетано, на 32 и 17% соответственно.

Наблюдалось снижение уровня глюкозы на 46% в пятой, 22% - в шестой группах. Содержание амилазы у животных, отравленных диоксином в дозе 15 мкг/кг массы тела и Т-2 токсином, повысилось на 15, 30 и 45 сут эксперимента в 2,6, 3,4 и 3,8 раза, а у поросят, затравленных диоксином в дозе 7,5 мкг/кг и микотоксином – в 1,3; 1,4 и 1,7 раза соответственно. Концентрация холестерина в сыворотке крови поросят пятой группы повышалась на 45 сут на 69%, шестой - 37%.

Концентрация малонового диальдегида гемолизата эритроцитов крови поросят превысила фоновые значения во всех группах, получавших токсиканты сочетано, к 15 сут опыта соответственно в 2,6 и 1,9 раза, к 30 – в 2,9 и 2,2, к 45 сут – 3,2 и 2,3 раза. В плазме крови данный альдегид повысился в исследуемые сроки в пятой группе в 2,5, 2,7 и 3 раза, в шестой – в 1,9, 2,3 и 2,5 соответственно.

В леченой группе, активность аланинаминотрансферазы в исследуемые сроки увеличивалась в 1,5, 1,2 и 1,1 раза соответственно, а уровень аспаратаминотрансферазы к концу опыта в 1,1 раза по сравнению с фоном. Содержание щелочной фосфатазы в сыворотке крови поросят превысило фоновые значения в данные сроки на 32, 17 и 8%, билирубина в 1,7; 1,5 и 1,4

раза относительно контроля. Отмечалось увеличение содержания мочевины 1,3 раза, амилазы на 15, 30 и 45 сут в 1,2, 1,3 и 1,2 раза соответственно. Изменения содержания МДА в крови поросят данной группы были незначительны.

Поступление токсикантов в организм поросят как отдельно так и сочетано, вызывало снижение количества Т- и В- лимфоцитов. Но более выраженные изменения происходили в группах животных получавших диоксин и Т-2 токсин совместно. Так, уровень Т-лимфоцитов в крови животных пятой группы на 15, 30 и 45 сут опыта понизился на 19, 24 и 31%, В-лимфоцитов - на 20, 35 и 44%. В шестой группе поросят отмечалось понижение уровня Т- и В-лимфоцитов на 30 сут – на 14 и 17%, на 45 сут – на 17 и 21% соответственно.

У животных, получавших средства терапии, снижение количества Т- и В- лимфоцитов не отмечалось.

3.3.2 Патоморфологические исследования. При гистологическом исследовании органов поросят, подвергнутых воздействию диоксина в дозе 1/400 ЛД₅₀, в отличие от контроля, в печени развивалась дистрофия гепатоцитов с некрозами некоторых из них, расположенных центрлобулярно. На периферии долек наблюдалась полиморфноклеточная пролиферация в портальных трактах и скоплений микрофагальных клеток в синусоидах. Данные процессы отмечались и в органах третьей группы поросят, но с менее выраженными изменениями. В четвертой группе, получавшей Т-2 токсин, так же отмечались дистрофические процессы в тканях печени.

В почках подопытных животных, затравленных диоксином и Т-2 токсином, в отдельности гистоструктура отличалась от контроля. Обнаруживалось мутное набухание клеток эпителия извитых канальцев (белковая дистрофия) с очаговой десквамацией и слабо выраженными некробиозами, при этом в почках поросят, затравленных в дозе 1/800 ЛД₅₀, некрозы обнаруживались на меньшей площади.

В головном мозге животных, которым давали диоксин в отдельности также наблюдались сателлитоз и нейронофагия (скопление клеток микроглии вокруг некоторых нейронов, фагоцитоз единичных нейронов). Все описанные изменения имели большую выраженность при более высокой концентрации ксенобиотика и меньшую при дозе 7,5 мкг/кг живой массы 2,3,7,8-ТХДД.

У поросят, получавших Т-2 токсин на уровне 2 ПДК, в тканях мозга проявлялось набухание стенок сосудов. Отличительным признаком действия данного токсина можно назвать преобладание дистрофических изменений с проявлением отёка стенок сосудов, нарушением проницаемости сосудов, развитием периваскулярных отёков, дистрофии нервных клеток с внутриклеточным отёком. Влияние диоксина приводило, прежде всего, к пролиферативной реакции в головном мозге.

У поросят, которые получали токсиканты совместно, гистологические изменения были более выражены, особенно в группе животных, получавших сочетано диоксин в дозе 1/400 ЛД₅₀ и Т-2 токсин в количестве 2 ПДК.

В печени поросят пятой и шестой групп наблюдали дистрофию клеток с некрозами некоторых из них, периваскулярные кровоизлияния, межуточный отек и полиэкссудативную инфильтрацию. Отмечали дистрофические изменения эпителия извитых канальцев почек (в виде белковой дистрофии) с очаговыми некробиозами и десквамацией эпителия. В головном мозге прослеживалась дистрофия нейронов и периваскулярный отёк.

В органах поросят, получавших токсиканты и лекарственные средства, явления пролиферации не отмечали, дистрофические и некробиотические проявления нивелировались.

3.3.3 Содержание микроэлементов в органах поросят. Известно, что ксенобиотики, поступая в организм животных, вызывают нарушение всех видов обмена веществ в том числе и минерального. Кроме того, токсиканты, влияя на кишечник, нарушают всасываемость питательных веществ. Поэтому было проведено ряд исследований по изучению содержания и распределения микроэлементов в организме животных.

У поросят получавших диоксин в дозе 1/400 ЛД₅₀, содержание меди в печени и костной ткани не изменялось, а в почках, сердце и мышцах снижалось на 36, 23 и 41% соответственно. Отмечалось снижение количества цинка в почках, сердечной мышце и костной ткани на 12, 19 и 23%. Прослеживалось снижение концентрации железа в почках и костной ткани на 26 и 50%. Содержание марганца снижалось в скелетных мышцах на 24%.

В третьей группе подопытных животных получавших меньшую дозу диоксина, снижение концентрации элементов в органах была менее выраженной, чем во второй группе поросят.

В группе животных, получавших Т-2 токсин в дозе 2 ПДК, содержание меди в печени, почках сердечной ткани, мышцах и костной ткани снижалось на 20, 36, 25 и 21% соответственно. Концентрации цинка в почках уменьшалась 1,5 раза, в сердечной ткани – 1,3 раза, в мышцах – 1,8 раза, в костной ткани – 1,3 раза по сравнению с контролем, железа в выше перечисленных органах на 27, 35, 11 и 51% соответственно. Количество марганца уменьшалось в сердечной и скелетной мускулатуре на 46 и 25%.

В пятой опытной группе, получавших диоксин в дозе 15 мкг/кг массы тела и Т-2 токсин в количестве 200 мкг/кг корма, отмечалось снижение концентрации меди на 43% в печени, на 46 – в почках, на 42 – в сердце, на 30 – в скелетной мускулатуре, на 43 – в костях. Количество цинка в печени и почках оставалось в пределах нормы, а в костной ткани, сердечной и скелетной мускулатуре уменьшалось 1,3, 2, 2,5 раза соответственно. Концентрация железа во внутренних органах уменьшалась в среднем в 1,4-2,6 раза, марганца - в 1,3- 2 раза.

В шестой группе животных содержание меди в органах снижалось в среднем на 20-40%, цинка – на 24-46%, железа в 1,5-1,8, марганца в 1,5-1,9 раза.

В группе животных, получавших с токсикантами цеолит с димефосфоном содержание меди относительно контроля в почках снижалось на 21%, а количество цинка в сердечной и скелетной мышце увеличивалось на 17 и 16% соответственно. В костях содержание данного элемента уменьшалось на 26%.

3.3.4 Содержание Т-2 токсина при сочетанном отравлении поросят диоксином и Т-2 токсином. После проведения убоя брали кусочки печени и легких на обнаружение остаточных количеств Т-2 токсина. В первой, второй и третьей группах Т-2 токсина обнаружено не было. В четвертой группе, получавшей только микотоксин, в печени было обнаружено 2,51 мкг/кг, в легких 1,46 мкг/кг, в пятой, получавшей диоксин в дозе 1/400 ЛД₅₀ и Т-2 токсин (2 ПДК), в печени 3,13 мкг/кг, а в легких - 1,77 мкг/кг, в шестой 2,85 мкг/кг и 1,38 мкг/кг соответственно.

В седьмой подопытной группе поросят, которые с токсикантами получали цеолит с димефосфоном, в печени исследуемый ксенобиотик обнаруживался в количестве 1,42 мкг/кг, в легких 0,64 мкг/кг.

Таким образом, совместное поступление диоксида и Т-2 токсина в организм поросят приводило к появлению признаков отравления, дозозависимому отставанию в росте и развитии животных. Сочетанное поступление данных токсикантов в организм животных вызывало изменение гематологических, биохимических и иммунобиологических показателей, снижение содержания макро и микроэлементов в органах. Исходя из полученных результатов микотоксин Т-2 обнаруживался в следовых количествах, однако в группе поросят, получавших диоксин в дозе 1/400 ЛД₅₀ и Т-2 токсин в количестве 200 мкг/кг корма, содержание исследуемого токсина было больше, чем в других подопытных группах.

Введение в рацион затравленных животных цеолита в дозе 2% от рациона животного и димефосфона в дозе 90 мг/кг массы тела оказывало положительное влияние на клиническое состояние и нормализовало гематологические, биохимические и иммунобиологические показатели, предотвращало снижение содержания макро и микроэлементов.

Применение исследуемых препаратов приводило к снижению содержания Т-2 токсина в органах.

3.4 Изучение воздействия диоксида на организм овец в малых дозах

Опыты проводили на 15 овцах, разделенных на 5 групп по 3 в каждой. Первые 3 овцы служили биологическим контролем и получали обычный рацион. Вторая группа подвергалась ежедневной пероральной затравке диоксином в дозе 1/200 ЛД₅₀ (1 мкг/кг живой массы), третья (3 овцы) – в дозе 1/400 ЛД₅₀ (0,5 мкг/кг живой массы). Четвертая группа овец получала данный

токсикант в количестве 0,25 мкг/кг массы тела, т.е. 1/800 ЛД₅₀, пятая – 0,2 мкг/кг массы тела или 1/1000 ЛД₅₀. Опыт проводили в течение 60 суток.

Как показали наблюдения, в группе животных, затравливаемых диоксином в дозе 1/200 ЛД₅₀, к 40 дню опыта отмечалось уменьшение потребления корма, снижение живой массы. Анализ крови показал понижение содержания эритроцитов на 60 сут на 15%, лейкоцитов – на 17%.

Симптомы отравления в других опытных группах отсутствовали.

Во второй группе животных активность АЛТ к 60 сут снижалась на 60%. Активность амилазы увеличивалась на 126%, АСТ – на 112%, ЛДГ – на 87%, ГГТ - на 394%, содержание общего билирубина – на 36%, азот мочевины – на 126%, холестерина - на 34%. Максимальное увеличение концентрации креатинина отмечалось на 40 сут на 24%, триглицеридов – на 34%. На 40 и 60 сут наблюдалось снижение уровня глюкозы на 16 и 18%.

В группе животных, получавших диоксин в дозе 1/400 ЛД₅₀, активность АЛТ снижалась к 60 сут на 22%; АСТ повышалась - на 15%, ГГТ – на 171%, ЛДГ – на 11%, общий билирубин - на 16%, азот мочевины - на 84%. Отмечалось повышение концентрации холестерина на 40 сут на 42% и триглицеридов на 17%.

У животных четвертой и пятой группы существенных отклонений, в показателях печеночной пробы, углеводного и жирового обменов не отмечалось.

Во второй группе животных уровень мономерного диальдегида на 20, 40 и 60 сут в гемолизате эритроцитов повысился на 69, 158 и 143%, в плазме крови – на 28, 73 и 69% соответственно. В третьей группе, получавшей диоксин в дозе 1/400 ЛД₅₀, количество продуктов ПОЛ в гемолизате увеличивалось на 40 и 60 сут на 44 и 44%, а в плазме – на 65 и 68% соответственно. У овец, получавших диоксин в дозе 1/800 ЛД₅₀, отмечалось на 40 сут увеличение МДА в плазме крови на 13%. Накопление МДА в клетках приводит к изменению структурно-функциональных свойств мембран вплоть до деградации их структур и как следствие этого – к резкому нарушению проницаемости мембран. У животных, получавших наименьшую дозу яда, изменений концентрации МДА не наблюдалось.

При изучении гистологических препаратов тканей животных, затравленных диоксином в дозах 1/200 ЛД₅₀ и 1/400 ЛД₅₀, отмечали отек внеклеточных структур и внутриклеточный отек нейронов в коре больших полушарий, определялся хорошо выраженный периваскулярный отек. Стенки сосудов головного мозга были утолщены, гомогенно эозинофильно окрашены. Некоторые нейроны были окружены клетками микроглии и имели признаки фагоцитоза. Внутриклеточный отек имел разную степень выраженности вплоть до образования «клеток-теней» и полного исчезновения нейронов. В почках токсическое действие 2,3,7,8 – ТХДД приводило к возникновению очаговых некробиозов эпителия извитых канальцев, а также слущиванию части клеток. В просветах канальцев скапливались эозинофильные массы, пласты эпителия. В селезенке

лимфоциты образовывали скопления в тимусозависимых зонах, наряду с этим определялось разрежение белой пульпы с обнажением стромы В печени животных гепатоциты были в состоянии зернистой дистрофии. Гистологическая структура легких не отличалась от нормы. При изучении препаратов сердца также не выявлены какие-либо отклонения.

В головном мозге животных, получавших диоксин в дозе 1/800 ЛД₅₀, наблюдался отек субпиальной зоны, во всех случаях отмечалось скопление микрофагов вокруг нейронов и единичная нейронофагия, небольшое набухание некоторых нейронов. В почках были обнаружены участки десквамации эпителия извитых канальцев, слущивание эпителия в просветы канальцев, очаговые некрозы эпителия, небольшое утолщение волокнистых структур капсул клубочков почек. В печени наблюдалась умеренная жировая дистрофия, преимущественно в центрлобулярной зоне. В селезенке имелись фолликулы с многочисленными лимфоцитами, часть из них были в виде ядер и обломков.

В ходе исследования гистопрепаратов у овец, получавших диоксин в дозе 1/1000 от ЛД₅₀, структура головного мозга, печени, почек и селезенки не отличались от контроля. В головном мозге сосуды были расширены, сниженного кровенаполнения, на единичных нейронах наблюдалось оседание клеток микроглии. В сердце на фоне сниженного кровенаполнения строение не отличалось от нормы. В печени гепатоциты имели четкую структуру, строма была без особенностей. В селезенке определялось умеренное скопление лимфоцитов, малокровие. В почках на фоне сниженного кровенаполнения были видны участки нарушения структуры клеток эпителия извитых канальцев, на которых ядра не определялись, цитоплазма клеток имела вид зернистых глыбок, отмечено слущивание апикальных частей эпителия в просвет канальцев.

3.5 Изучение воздействия Т-2 токсина на организм овец в малых дозах

Животные были разделены на 2 группы по 3 овцы в каждой. Первая группа получала обычный рацион, вторая - микотоксин в дозе 200 мкг/кг массы в сутки. опыты проводили в течение 60 суток.

В группе животных, получавших токсин, клинические признаки появились к 40 сут в виде уменьшения потребления корма. К 60 сут эксперимента масса тела была ниже исходного уровня на 2,7 кг. Температура тела оставалась в норме. Содержание эритроцитов и лейкоцитов снижалось к концу опыта на 20 и 12% соответственно.

Биохимические исследования показали, что во второй группе общий белок на 60 сут снизился на 11%, β-глобулины на 40 и 60 сут повышались на 28 и 28% соответственно. Концентрация АСТ на 40 и 60 сут увеличивалась в 1,6 и 2,1 раза. Максимальное повышение концентрации АЛТ прослеживалось на 20 день исследования в 1,5 раза, в дальнейшем происходило понижение

данного фермента. Содержание глюкозы на 20 и 40 сут понижалось на 11 и 68% соответственно.

Концентрация ЛДГ и мочевины увеличивалась в данные сроки исследования в 2,6, 1,4, 1,4 и 1,3, 1,7, 2,1 раза соответственно, а количество общего билирубина и холестерина на 21, 29, 35% и 26, 26, 34% от исходных значений.

Содержание МДА в крови подопытных животных увеличивалось в среднем в 1,4-1,7 раза от фона.

При исследовании показателей естественной резистентности, у животных второй группы наблюдалось снижение на 40 и 60 сут фагоцитарной емкости на 10 и 10%, Т-лимфоцитов на 11 и 10%, В-лимфоцитов на 5 и 6%.

3.6 Изучение сочетанного действия диоксина и Т-2 токсина на организм овец

Для изучения сочетанного действия диоксина и Т-2 токсина на организм овец в малых дозах было сформировано 3 группы по 3 животных в каждой. Первая группа получала обычный рацион, вторая группа - диоксин в дозе 1/400 ЛД₅₀ (0,5 мкг/кг массы тела) и Т-2 токсин в количестве 200 мкг или 2 ПДК, третья диоксин в дозе 1/1000 ЛД₅₀ (0,2 мкг/кг массы тела) и Т-2 токсин в выше указанной дозе.

Биохимический анализ сыворотки крови показал, что во второй группе содержание общего белка на 40 и 60 сут понижалось на 11 и 20%. Отмечалось изменение в соотношения белковых фракций. Так, фракция альбуминов на 20, 40 и 60 сут снижалась соответственно на 33, 33 и 41%, α-глобулины наоборот повышались к 20 и 40 сут на 46 и 23%. Фракция β-глобулинов повышалась в данные сроки на 35, 69 и 92% соответственно от исходных данных.

В третьей группе, получавшей сочетано диоксин в дозе 1/1000 ЛД₅₀ и Т-2 токсин в количестве 2 ПДК, общий белок и альбумины снижались к концу опыта на 15 и 13% соответственно; фракция β-глобулинов на 40 и 60 сут увеличивалась на 28 и 42%.

Концентрация АСТ в исследуемые сроки повышалась в 1,1; 1,6 и 2,0 раза, АЛТ – в 1,7, 1,9 и 1,9 раза, ЛДГ – в 1,2, 1,4 и 1,8 раза, мочевина в 1,6; 2,0 и 2,5 раза. Отмечалось снижение уровня глюкозы в данные сроки на 27, 30 и 30%. Содержание креатинина оставалось ближе к фоновой величине. На 40 и 60 сут прослеживалось увеличение количества общего билирубина в 1,2 и 1,3 раза, холестерина – в 1,3 и 1,7 раза.

В группе овец, получавших сочетано диоксин в дозе 0,5 мкг/кг массы тела и Т-2 токсин в дозе 200 мкг/кг корма, концентрация малонового диальдегида в гемолизате на 20, 40 и 60 сут увеличивалась на 30, 45 и 67%, в плазме – на 36, 40 и 57% соответственно.

У животных третьей группы, затравленных диоксином в дозе 0,2 мкг/кг массы тела и Т-2 токсином в количестве 200 мкг/кг корма, содержание МДА

в гемолизате на 40 и 60 сут исследования увеличивалось на 44 и 44%, в плазме на 68 и 70%.

Введение в рацион токсикантов способствовало снижению естественной резистентности и иммунобиологической реактивности животных, которая была более выраженной во второй группе. Так, фагоцитарная активность на 40 и 60 сут исследования снижалась на 15 и 17%, фагоцитарное число - на 18 и 24%, фагоцитарная емкость – на 25 и 34%, активность лизоцима – на 25 и 30%, количество тимусзависимых клеток - на 12 и 18%, бурсазависимых клеток на 10 и 19% соответственно.

В третьей опытной группе изменения исследуемых показателей были менее выражены.

При ультраструктурных исследованиях наиболее яркие изменения происходили в гепатоцитах. Ядра клеток контрольной группы имеют округлую форму с диффузным расположением хроматина средней электронной плотности, в ядерной оболочке присутствуют ядерные поры. Небольшое количество конденсированного хроматина располагается по периферии ядра (рис. 1). Перинуклеарное пространство одинаковой ширины по всему периметру ядра. Митохондрии в основном округлой и продолговатой формы средних размеров. Небольшое количество ламеллярных крист располагаются в плотном матриксе и равномерно заполняют весь объем митохондрий. В клетках наличествует ЭПР четко видимыми рибосомами. Гладкий эндоплазматический ретикулум хорошо просматривается. В цитоплазме встречаются микротельца. Встречается аппарат Гольджи с мелкими цистернами. Цитоплазма заполнена небольшим количеством мелких вакуолей с содержимым средней электронной плотности. По всей цитоплазме распределено большое количество гликогена.

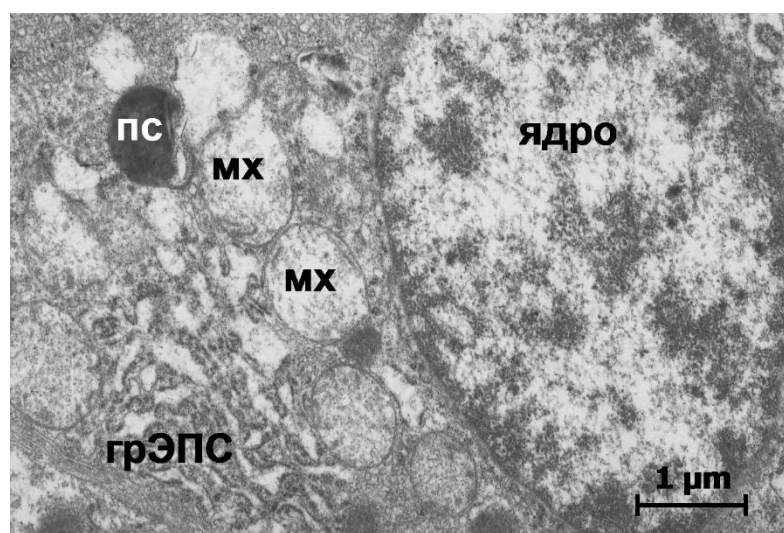


Рисунок 1 – Участок гепатоцита овцы, контрольной группы. Условные обозначения: М – митохондрия; ЭПР – эндоплазматический ретикулум, ПС – пероксисома.

В отличие от контрольной группы животных, в гепатоцитах у овец, получавших диоксин в дозе 1/400 ЛД₅₀ и Т-2 токсин в дозе 2 ПДК (рис. 2), отмечаются неравномерно конденсированный хроматин, большое количество глобулярного хроматина (интерхроматиновые гранулы) на фоне просветленной кариоплазмы. Цитоплазма просветленная с пустотами, каналы шероховатого и гладкого ЭПР фрагментированы, встречаются редко. Митохондрии с плотным хлопьевидным матриксом практически без крист. В цитоплазме много пероксисом, обнаруживаются мультиламеллярные или мультивезикулярные образования.

Все описанные нарушения клеточной организации гепатоцитов, говорят о деструктивных процессах при токсическом воздействии диоксина и Т-2 токсина на печень овец, что свидетельствует о нарушениях функциональной активности.

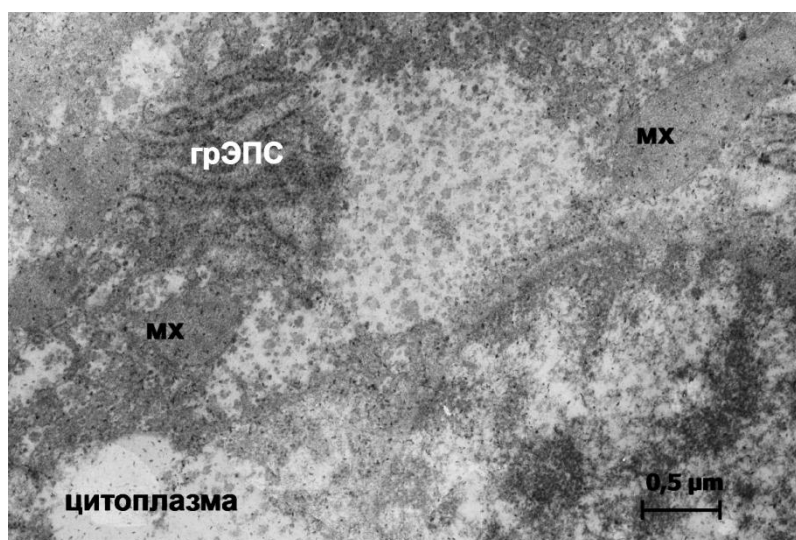


Рисунок 2 – Участок гепатоцита овцы, получавшей диоксин в дозе 1/400 ЛД₅₀ и Т-2 токсин 2ПДК. Условные обозначения: М – митохондрия; грЭПС – эндоплазматический ретикулум.

Ядра гепатоцитов у овец, получавших диоксин в дозе 1/1000 ЛД₅₀ и Т-2 токсин в дозе 200 мкг/кг массы корма, округлой формы, гетерохроматин локализуется по периферии, эухроматин в центре. Кариоплазма средней электронной плотности. Имеются ядрышки. У некоторых ядер наличествуют участки инвагинации кариолеммы. Перинуклеарное пространство не увеличено, в нем наблюдаются ядерные поры. В цитоплазме отмечается гладкий эндоплазматический ретикулум и небольшое количество розеток гликогена. Сильно развита гранулярная эндоплазматическая сеть. Вместе с тем, состояние большинства митохондрий можно характеризовать, как неблагоприятное (рис 3).

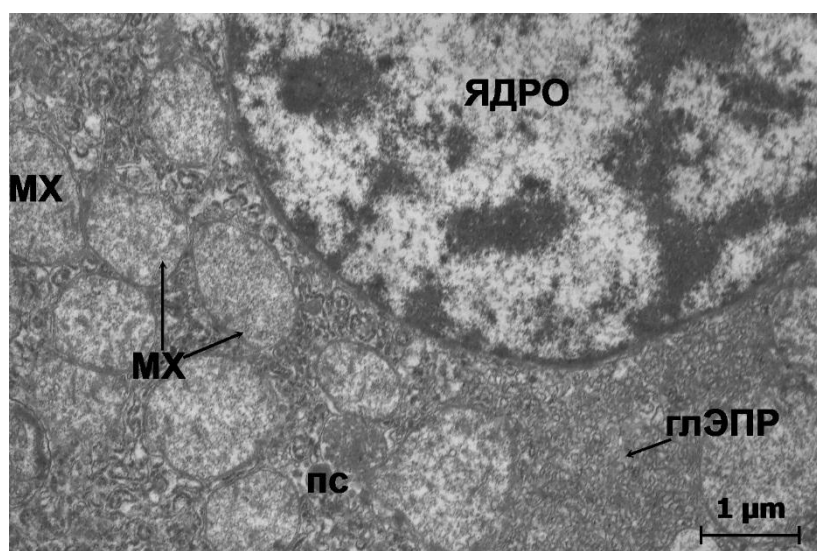


Рисунок 3-Участок гепатоцита овцы получавшей диоксин в дозе 1/1000 ЛД₅₀ и Т-2 токсин 2 ПДК. Условные обозначения: МХ - митохондрии, ПС – пероксисома, глЭПР – гладкий эндоплазматический ретикулум.

Таким образом, сочетанное отравление овец диоксином и Т-2 токсином характеризуется изменением биохимических и иммунобиологических показателей, структурными нарушениями клеток органов.

3.7 Изыскание лечебно-профилактических средств при остром отравлении диоксином и определение их эффективности

С целью скрининга лечебно-профилактических средств было отобрано 3 препарата: димефосфон – мембраностабилизатор и иммуномодулятор; янтарная кислота- адаптоген; тканевой стимулятор – АСД-2. Исследования проводили на 50 морских свинках живой массы 500 – 550 г., животные были разделены на 5 групп по 10 в каждой. Первая группа служила биологическим контролем, которым внутрижелудочно вводили адекватное количество рафинированного масла без диоксина. Второй группе животных внутрижелудочно, однократно вводили маслянный раствор 2,3,7,8-ТХДД в абсолютно смертельной дозе равной 2 мкг/кг массы тела. Третья группа получала токсикант в вышеуказанной дозе и янтарную кислоту в дозе 25 мг/кг массы тела, четвертая – токсикант и димефосфон в количестве 90 мг/кг массы тела, пятая группа – диоксин и АСД-2 в дозе 2 мл на голову. Третья, четвертая и пятая группы морских свинок получали исследуемые препараты за 3 дня до и в течение 30 дней после введения поллютанта. Эффективность препаратов оценивалось по клиническим признакам и соотношению выживших и павших животных.

Морские свинки контрольной группы хорошо поедали корм, прибавляли в весе и были активны.

В группе животных, получавших диоксин в смертельной дозе, симптомы проявились на 7 сут в виде уменьшения потребления корма, конъюнктивитов, ринитов, окрашивание шерстного покрова вокруг гениталий

в бурый цвет, снижения массы тела. Животные стали погибать на 12 сут. и к 21 дню исследований все животные этой группы пали.

В группах животных, получавших испытуемые препараты, снижение массы тела происходило незначительно. Так, в третьей группе, получавшей янтарную кислоту, к 30 сут масса тела снизилась на 90 г., в четвертой подопытной группе на 40 г., в пятой – на 33 г., тогда как во второй не леченой группе уже к 20 сут вес снизился на 155 г. от исходного уровня.

Таблица 1- Сравнительная эффективность лечебно-профилактических средств при остром отравлении морских свинок диоксином в дозе ЛД 100 (2 мкг/кг массы тела)

Группы животных	Количество животных			
	всего	выжило	пало	% выживаемости
Биологический контроль	10	10	0	100
Диоксин	10	0	10	0
Диоксин+АСД-2 (2 мл на голову)	10	6	4	60
Диоксин+димефосфон (90 мг/кг массы тела)	10	4	6	40
Диоксин+янтарная Кислота (25 мг/кг массы тела)	10	3	7	30

Из таблицы 1 видно, что при лечении янтарной кислотой пало 7 животных из 10, выживаемость составила 30%. В группе морских свинок, получавших мембраностабилизатор, выжило 4, пало 6, выживаемость составило 40%. В группе которым вводили антисептик стимулятор выжило 6, а пало 4, выживаемость составили 60%.

3.8 Изучение сочетанного действия диоксина и Т-2 токсина на организм овец на фоне применения лекарственных препаратов

Для изучения воздействия лечебно-профилактических препаратов при сочетанном отравлении диоксином и Т-2 токсином было сформировано 4 группы овец, по 3 животных в каждой. Первая группа служила биологическим контролем. Вторая получала сочетано диоксин в дозе 1/400 ЛД₅₀ (0,5 мкг/кг массы тела) и Т-2 токсин в количестве 200 мкг/кг массы корма. Третья группа подопытных животных наряду с токсикантами получала янтарную кислоту в дозе 25 мг/кг массы тела и энтеросорбент - бентонит в количестве 2% от рациона животного, четвертая – совместно с токсикантами получала тканевой стимулятор АСД-2 (3 мл/гол) и бентонит в выше перечисленной дозе. Опыты проводились в течение 60 суток.

У животных, получавших диоксин в дозе 1/400 ЛД₅₀ и Т-2 токсин в дозе 2 ПДК, на 60 сут наблюдалось снижение содержания эритроцитов, гемоглобина и лейкоцитов на 20, 26 и 14% соответственно. В третьей группе животных происходило снижение данных показателей за исключением лейкоцитов. Так эритроциты и гемоглобин снижались к концу эксперимента на 18 и 20%. В четвертой группе, получавшей тканевой стимулятор и сорбент, на 60 сут наблюдалось уменьшение количества гемоглобина на 25%.

В сыворотке крови овец, получавших только токсиканты, содержание общего белка на 40 и 60 сут понижалось на 11 и 20%, количество альбуминов в эти же сроки - на 33 и 41%, α -глобулины наоборот повышались к 20 и 40 сут на 46 и 23%, а β -глобулины - на 35 и 69 % соответственно. Концентрация АСТ в исследуемые сроки повышалась в 1,1, 1,6 и 2,0 раза, АЛТ – в 1,7, 1,9 и 1,9 раза, ЛДГ – в 1,2, 1,4 и 1,8 раза, мочевины – в 1,6, 2,0 и 2,5 раза. Отмечалось снижение уровня глюкозы в данные сроки на 27, 30 и 30% соответственно. Содержание креатинина оставалось ближе к фоновой величине. На 40 и 60 сут прослеживалось увеличение количества общего билирубина в 1,2 и 1,3 раза, холестерина – в 1,3 и 1,7 раза.

В третьей группе, получавшей с токсикантами янтарную кислоту и бентонит, содержание альбуминов на 40 и 60 сут снижалось на 27 и 37%, а концентрация α -, β - и γ глобулинов в эти же сроки исследования увеличивалась на 13 и 13%, 61 и 85%, 23 и 28% соответственно от исходной величины. Количество печеночных ферментов к концу исследования увеличивалось; АСТ – в 1,3 раза, АЛТ – в 1,1 раза. Прослеживалось увеличение содержания мочевины на 20, 40 и 60 сут в 1,6, 2,0 и 1,9 раза, в эти же сроки повышалась концентрация билирубина общего на 32, 32 и 30% соответственно.

В четвертой группе, получавшей тканевой стимулятор и сорбент содержание альбуминов уменьшалось в исследуемые сроки на 20, 21 и 28%, а количество α -, β - и γ глобулинов увеличивалось на 39, 44 и 42%, 12, 12 и 24%, 20, 19 и 20% соответственно. Отмечалось увеличение концентрации мочевины – в 1,4; 1,3 и 1,6 раза, а общего билирубина в 1,2 раза. Такие показатели как, АЛТ, АСТ, ЛДГ, глюкоза, креатинин и холестерин не изменялись и оставались в пределах исходных величин.

В группе овец, получавших сочетано диоксин в дозе 1/400 ЛД₅₀ и Т-2 токсин в дозе 200 мкг/кг корма, концентрация малонового диальдегида в гемолизате на 20, 40 и 60 сут увеличивалась на 30, 45 и 67%, в плазме – на 36, 40 и 57% соответственно. В третьей группе содержание МДА в плазме крови на 60 сут исследования увеличивалось на 15%. В четвертой группе, получавшей с токсикантами АСД-2 и бентонит, изменения количества ПОЛ не прослеживалось, показатель оставался на уровне фоновой величины.

В группе животных, получавших только токсиканты, фагоцитарное число на 40 и 60 сут исследования снижалось на 18 и 24%, фагоцитарная емкость – на 25 и 34%, активность лизоцима – на 25 и 30%, Т-лимфоциты - на 12 и 18%, В – лимфоциты - на 10 и 19% соответственно.

В группе животных, получавших адаптоген и сорбент фагоцитарная активность, фагоцитарная емкость и активность лизоцима снижались к концу исследования на 10, 27 и 18% соответственно.

У овец, получавших АСД-2 и бентонит, исследуемые показатели не изменялись на протяжении всего опыта за исключением В-лимфоцитов, количество которых к 60 сут увеличилось на 13%.

В группе овец, получавшей только токсиканты содержание Т-2 токсина составило в печени 2,5 мкг/кг, в мышцах - 3,2 мкг/кг, в почках 1,5 мкг/кг. У животных, получавших с токсикантами янтарную кислоту и бентонит, остаточное количество Т-2 токсина в исследуемых органах составило 1,9, 2,0 и 1,4 мкг/кг, а в группе, получавшей тканевой стимулятор и сорбент, 1,8, 1,4 и 1,4 мкг/кг соответственно (рис. 4,5).

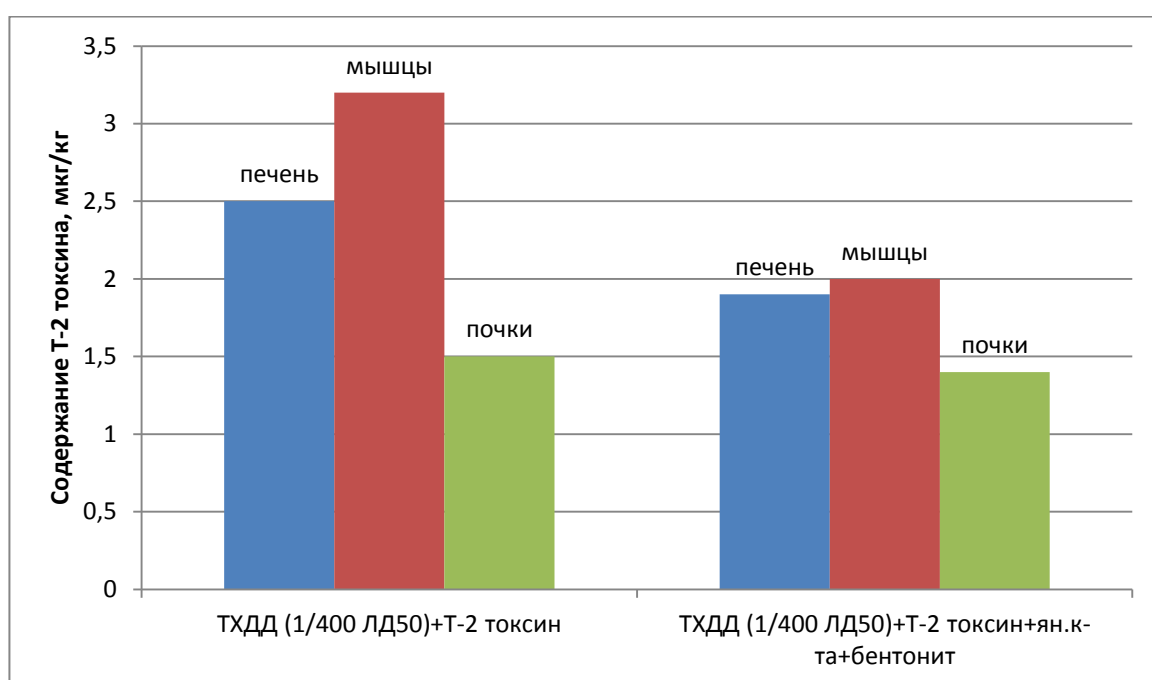


Рисунок 4 – Содержание Т-2 токсина в органах при сочетанном отравлении овец диоксином и Т-2 токсином на фоне применения янтарной кислоты с бентонитом.

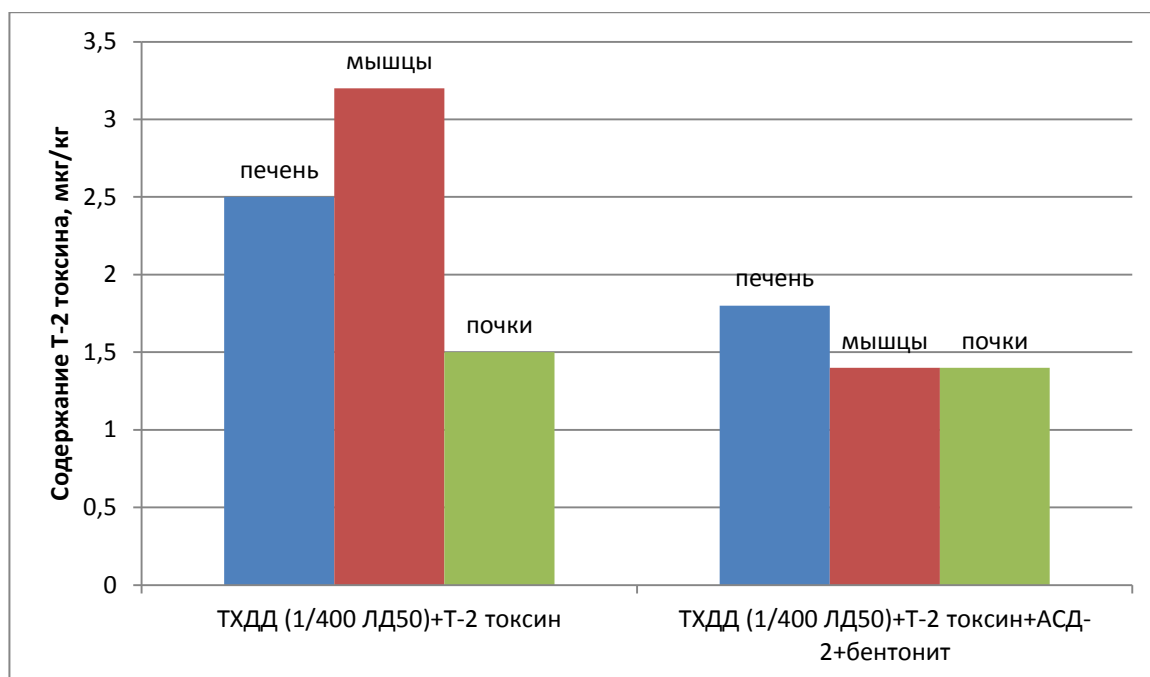


Рисунок 5 - Содержание Т-2 токсина в органах при сочетанном отравлении овец диоксином и Т-2 токсином на фоне применения АСД-2 с бентонитом.

Следовательно, при сочетанном отравлении овец диоксином и Т-2 токсином происходят более выраженные изменения гематологических, биохимических и иммунобиологических показателей, воздействие исследуемых токсикантов характеризуется ультраструктурными изменениями клеток и тканей органов.

Применение янтарной кислоты с бентонитом, АСД-2 с бентонитом защищало от негативного воздействия выше перечисленных токсикантов, которое характеризовалось снижением токсической нагрузки на организм и приводило к восстановлению функции органов.

3.9 Изучение отдельного и сочетанного действия диоксина и токсичных элементов на организм кроликов

Исследования проводили на 30 кроликах, разделенных на 6 групп по 5 в каждой. Первая группа служила биологическим контролем и получала с кормом растительное масло, вторая группа - диоксин в дозе 1/200 ЛД₅₀ (0,15 мкг/кг живой массы), третья - кадмия хлорид в дозе 1/20 ЛД₅₀ (5,85 мг/кг живой массы), четвертая - свинца ацетат в дозе 1/10 ЛД₅₀ (65 мг/кг живой массы). Пятая группа кроликов получала диоксин и кадмия хлорид в выше указанных дозах, шестая - диоксин и свинца ацетат (диоксин 1/200 ЛД₅₀, свинца ацетата 1/10 ЛД₅₀). Опыты проводили в течение 30 сут.

3.9.1 Клинико-гематологические и биохимические исследования

В первой и во второй группах клинические признаки отравления отсутствовали.

В группе животных, получавших кадмий, клинические признаки появились на 23 день затравки в виде общего угнетения, снижения аппетита, в дальнейшем - отказом от корма и воды.

У животных четвертой группы, клинические признаки проявились на 27 сут в виде угнетения и снижения аппетита. Масса тела на 30 сут снизилась на 15%. Падежа животных не было.

У животных, которым давали диоксин и кадмия хлорид одновременно, клинические признаки появились на 15 день затравки в виде угнетения, одышки, отказа от корма, диареи, наблюдалась потеря массы тела. На 22 день затравки один кролик пал.

В шестой группе животных клинические признаки появились на 18 сут в виде угнетения, вялости, взъерошенности шерстного покрова. У некоторых кроликов наблюдались парезы задних конечностей. Масса тела снизилась к 30 сут на 18%. На 20 сут пали 2 кролика.

Содержание эритроцитов у второй группы кроликов на 20 и 30 сут уменьшилось на 17 и 29%, уровень гемоглобина понизился на 16 и 17% соответственно от фонового показателя. В группе животных, получавших свинец, содержание эритроцитов на 20 сут уменьшилось на 18%, гемоглобина – на 14%. В четвертой группе животных количество красных кровяных клеток на 30 сут снизилось на 17%, гемоглобина – на 13%.

При сочетанном отравлении диоксином и кадмия хлоридом количество эритроцитов на 20 сут снизилось на 25%, уровень гемоглобина на 30 сут снизился на 17%. У животных шестой группы количество эритроцитов на 20 и 30 сут снизилось на 23% и 24%, гемоглобина - на 14% и 21%, соответственно.

Изучение белкового состава крови показало, что у животных второй группы количество общего белка в сыворотке крови оставалось в пределах исходных величин. Концентрация альбуминов на 10 и 30 сут снижалась на 20 и 26%, количество α -глобулинов на 10 сут уменьшилось на 28%, в дальнейшем происходило повышение их уровня.

Во третьей группе содержание общего белка на 30 сут снижалось на 16%, альбумины снижались на 20 сут на 25%, концентрация γ -глобулинов увеличивалась на 10, 20 и 30 сут на 49, 57 и 48 % соответственно.

3.9.2 Показатели естественной резистентности

У животных, получавших только диоксин, количество лейкоцитов на 10 сут уменьшилось на 34%, к 30 сут происходило постепенное восстановление количественного состава белых кровяных клеток. В группе животных, получавших кадмия хлорид, количество лейкоцитов снижалось на 30 сут на 15 %. В четвертой группе содержание белых кровяных клеток к концу исследований снижалось на 15%. В группах, получавших сочетано токсиканты так же отмечалось снижение данного показателя. Так, в группе, получавшей 2,3,7,8 – ТХДД и кадмий, содержание лейкоцитов на 20 и 30 сут уменьшалось на 19 и 20%, а в шестой группе данный показатель уменьшался лишь к 30 суткам на 20%.

Поступление вышеперечисленных токсикантов оказывало существенное влияние на естественную резистентность кроликов. В группе, получавшей диоксин, фагоцитарная активность повышалась на 10, 20, 30 сут наблюдений на 31, 33, 41% соответственно. Фагоцитарное число на 10 и 30 сут уменьшалось на 31 и 32%, фагоцитарный индекс на 11 и 12%. Максимальное снижение фагоцитарной емкости на 27% отмечалось на 20 сут эксперимента. Активность лизоцима на 20 и 30 сут снижалась на 16 и 31%.

В третьей группе фагоцитарная активность на 30 сут снижалась на 27%, фагоцитарное число – на 44%, фагоцитарный индекс – на 27%, фагоцитарная емкость – на 52%. На 10 сут отмечалось увеличение активности лизоцима на 37%, на 20 сут данный показатель снижался до фонового уровня.

В группе кроликов, получавших свинец, показатели фагоцитарной активности снижались на 30 сут; активность нейтрофилов – на 20%, фагоцитарный индекс – на 12%, фагоцитарное число – на 14%, фагоцитарная емкость – на 21%, активность лизоцима – на 22%.

Поступление диоксина и кадмия хлорида в организм животных вызывало выраженное снижение показателей естественной резистентности. Так, фагоцитарная активность на 20 и 30 сут снижалась на 23 и 36%, фагоцитарное число – на 30 и 41%, фагоцитарный индекс – на 34 и 40%, фагоцитарная емкость – на 39 и 47%, активность лизоцима – на 31 и 25% соответственно.

По сравнению с пятой группой, у животных, получавших диоксин и свинец, фагоцитоз был менее угнетен, однако наблюдалась тенденция к снижению активности данной функции иммунной системы. Фагоцитарная активность на 30 сут снизилась на 23%, фагоцитарный индекс – на 21%, фагоцитарное число – на 31%, фагоцитарная емкость – на 40%, лизоцимная активность – на 30%.

В контрольной группе животных содержание Т- и В- лимфоцитов оставалось в пределах фоновых величин. Во второй и третьей группах Т-клетки снижались на 30 сут на 19 и 17% соответственно. В четвертой группе Т и В лимфоциты в эти же сроки снижались на 11 и 19%. У кроликов пятой группы количество тимусзависимых клеток уменьшалось на 20 и 30 сут на 12 и 25%, В-лимфоцитов – на 20 и 31%. В группе животных, получавших сочетание диоксин и свинец, количество Т- и В- лимфоцитов на 30 сут уменьшились на 27% и 23%, относительно фоновых величин.

Таким образом, поступление в организм кроликов диоксина в сочетании с токсичными элементами вызывает гибель 20 – 40% животных. Совместное отравление животных диоксином и токсичными элементами сопровождалось потенцированием токсического эффекта, характеризующееся более выраженными гематологическими, биохимическими и иммунобиологическими изменениями, чем при интоксикации животных этими ядами в отдельности.

3.10 Изучение сочетанного действия диоксина и токсичных элементов на фоне применения цеолита

Животные были разделены на 5 групп, по 5 в каждой. Первая группа являлась биологическим контролем. Вторая получала диоксин в дозе 1/200 ЛД₅₀ (0,15 мкг/кг живой массы) и кадмия хлорид в дозе 1/20 ЛД₅₀ (5,85 мг/кг живой массы), третья наряду с диоксином и кадмием получала энтеросорбент цеолит в дозе 2% от рациона животного. Животные четвертой группы подвергались затравке диоксином в выше указанной дозе и свинца ацетатом в дозе 1/10 ЛД₅₀ (65 мг/кг живой массы), пятая группа получала с данными токсикантами цеолит (2% от рациона животного).

У животных, которым давали диоксин и кадмия хлорид одновременно, клинические признаки появились на 15 день затравки в виде угнетения, одышки, отказа от корма, диареи, наблюдалась потеря массы тела. На 22 день затравки один кролик пал.

У кроликов третьей группы симптомы интоксикации были менее выражены и появились на 20 сутки. Снижение массы тела не наблюдалось. Падежа животных не было.

В четвертой группе животных клинические признаки появились на 18 сут в виде угнетения, вялости, взъерошенности шерстного покрова. У некоторых кроликов наблюдались парезы задних конечностей. Масса тела снизилась к 30 сут на 18%. В течение эксперимента пали 2 кролика на 20 сут.

В пятой группе, где наряду с диоксином и свинцом давали цеолит на 30 сутки пал один кролик.

При сочетанном отравлении диоксином и кадмия хлоридом количество эритроцитов на 20 сут снизилось на 25%, уровень гемоглобина на 30 сут - на 17%. В группе животных, где с данными ксенобиотиками давали цеолит количество эритроцитов на 10 и 20 сут повышалось на 23 и 22%, гемоглобин оставался на уровне фоновой величины.

Сочетанное отравление диоксином и свинцом вызывало снижение количества эритроцитов на 20 и 30 сут на 23% и 24%, гемоглобина - на 14% и 21% соответственно, а в пятой - леченой группе, данные показатели оставались в пределах фоновых величин.

У кроликов второй группы общий белок на 20 и 30 сут снижался на 18 и 19%, а концентрация альбуминов на 39 и 49 % соответственно, содержание α -глобулинов не претерпевало существенных изменений и находилось на уровне фоновой величины. Фракция β -глобулинов на 10, 20 и 30 сут увеличивалась на 50, 79 и 74%, γ -глобулинов - на 65, 79 и 97% соответственно. У животных, третьей группы, концентрация альбуминов уменьшалась на 20 и 30 сут на 23 и 18%, содержание α -глобулинов на 20 сут увеличилось на 78%, к 30 сут превышение данного показателя составило 38% от исходного уровня. Концентрация γ -глобулинов увеличивалась на 10 сут на 40% .

У животных четвертой группы количество общего белка на 30 сут снижалось на 20%, альбуминов - на 22%. Концентрация β -глобулинов на 20 и 30 сут повышалась на 28% и 75% соответственно. У животных, получавших с токсикантами цеолит, содержание β -глобулинов на 30 сут увеличивалось на 25%. Изменения содержания общего белка и концентрации альбуминов, α - и γ - глобулинов в данной группе не наблюдалось.

В группе, получавшей диоксин и кадмий, содержание лейкоцитов на 20 и 30 сут уменьшалось на 19 и 20%. В четвертой группе количество данных клеток к 30 сут уменьшалось лишь на 20%. В третьей и пятых группах животных, получавших сорбент, количество лейкоцитов оставалось на уровне фона.

Поступление диоксида и кадмия хлорида в организм животных вызывало выраженное снижение показателей естественной резистентности. Так, фагоцитарная активность на 20 и 30 сут снижалась на 23 и 36%, фагоцитарное число – на 30 и 41%, фагоцитарный индекс – на 34 и 40%, фагоцитарная емкость – на 39 и 47%, активность лизоцима – на 31 и 25% соответственно. Применение цеолита при отравлении кадмием и диоксином существенно снижало токсическую нагрузку. Происходило улучшение показателей фагоцитоза, а также отмечено в два раза менее выраженное угнетение активности лизоцима.

В группе кроликов, получавших свинец с диоксином, фагоцитарная активность на 30 сут снизилась на 23%, фагоцитарный индекс – на 21%, фагоцитарное число – на 31%, фагоцитарная емкость – на 40%, лизоцимная активность – на 30%. В пятой группе кроликов, так же как и в третьей происходило улучшение показателей фагоцитоза. Так к 30 сут наблюдалось снижение фагоцитарного числа на 11%, фагоцитарной емкости – на 16% и активности лизоцима – на 19%.

У кроликов второй группы, получавших диоксин и кадмий отмечалось снижение В-лимфоцитов на 20 и 30 сут на 20 и 31%. В группе животных, получавших сочетано диоксин и свинец, Т- и В- лимфоциты на 30 сут уменьшились на 27% и 23%, относительно фоновых величин. В третьей, леченой группе, В- лимфоциты на 20 и 30 сут снижались на 12 и 18%. В пятой группе изменений в динамике Т- и В- лимфоцитов не наблюдалось.

Тяжелые металлы, поступающие в организм, вначале распределяются в зависимости от скорости доставки их кровью к различным органам и тканям организма, а затем уже происходит их перераспределение среди органов. Поэтому нами проведены исследования по изучению влияния цеолита на содержания кадмия и свинца в органах и тканях кроликов при сочетанной интоксикации животных (табл. 2,3).

Как видно из таблицы 2, при поступлении кадмия совместно с диоксином содержание элемента превышало в печени, почках, сердце в 1,3; 1,5 и 1,1 раза чем при раздельном его поступлении в организм кроликов. Применение цеолита способствовало менее выраженной кумуляции металла. Так, в исследуемых органах животных, получавших энтеросорбент,

количество тяжелого металла было ниже в среднем в 1,2-1,6 раза, чем у кроликов, не получавших цеолит.

Таблица 2 – Содержание кадмия (мг/кг) в органах кроликов при сочетанном отравлении диоксином и кадмия хлоридом и применении цеолита

Орган	Фон	Группа животных			
		Затравка диоксином	Затравка кадмием	Кадмий+ диоксин	Кадмий+ диоксин+ цеолит
Печень	0,20±0,04	0,18±0,09	3,65±0,20*	4,92±0,21*	4,06±0,18*
Почки	0,98±0,07	0,96±0,02	4,75±0,22*	7,50±0,32*	4,53±0,21*
Сердце	0,05±0,02	0,06±0,03	0,46±0,02*	0,54±0,03*	0,38±0,02*
Мышцы	0,10±0,08	0,12±0,07	0,18±0,02*	0,14±0,01*	0,09±0,01*
Кости	0,82±0,07	0,84±0,08	1,30±0,11*	1,20±0,09*	1,00±0,08*

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

В группе животных, получавших совместно свинца ацетат, диоксин и цеолит, содержание свинца в печени, почках, сердце, мышцах и костной ткани соответственно в 1,4, 1,4, 1,2, 1,2 и 1,1 раза было ниже чем в органах кроликов, не получавших цеолит с токсикантами.

Таблица 3 – Содержание свинца (мг/кг) в органах кроликов при сочетанном отравлении диоксином и свинца ацетатом и применении цеолита

Орган	Фон	Группа животных			
		Затравка диоксином	Затравка свинцом	свинец+ диоксин	свинец+ диоксин+ цеолит
Печень	0,26±0,01	0,30±0,02	3,90±0,05*	4,20±0,04	3,10±0,2*
Почки	0,44±0,02	0,50±0,04	4,68±0,01*	4,98±0,02*	3,55±0,03*
Сердце	0,14±0,01	0,11±0,01	0,98±0,03*	1,33±0,01*	1,09±0,03*
Мышцы	0,23±0,02	0,22±0,03	1,35±0,04	1,65±0,02*	1,30±0,02*
Кости	0,89±0,04	0,88±0,03	5,30±0,02*	5,40±0,04*	4,90±0,01*

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

Гистологические исследования внутренних органов кроликов, получавших затравку диоксином и кадмия хлоридом, показали паретическое венозное полнокровие во всех исследованных органах, нарушение проницаемости сосудов с периваскулярными кровоизлияниями в печени, головном мозге, почках, наблюдалось белковая дистрофия почек, печени, некробиотические изменения единичных клеток эпителия канальцев почек,

паренхиматозных клеток в печени, хорошо выраженный отек головного мозга. Кроме того, были обнаружены распространенные скопления темного пигмента в паренхиматозных клетках печени, в базальных отделах эпителия извитых канальцев, а также буро-серые массы в расширенных просветах канальцев в почках. В печени распространенная круглоклеточная инфильтрация в синусоидах, портальных трактах.

У животных, получавших цеолит с диоксином и кадмием, нарушения кровообращения и проницаемости сосудов не выявлялись. Не был выражен отек мозга. В почках имелись редкие слабо выраженные скопления темного пигмента, расположенные также в базальных отделах эпителия извитых канальцев. В печени у одного из кроликов наблюдалась вакуолизация цитоплазмы 1/3 клеток, у другого имело место набухание гепатоцитов, пылевидные скопления темного пигмента в цитоплазме гепатоцитов, хорошо выраженная круглоклеточная инфильтрация синусоидов и портальных трактов.

У животных, получавших одновременно диоксин и свинец, были так же выявлены изменения гистоструктуры. В легких стенки бронхов были умеренно инфильтрированы лейкоцитами, единичные альвеолы были заполнены эозинофильными массами, определялись мелкие участки дистелектазов, утолщение межальвеолярных перегородок с инфильтрацией лейкоцитами. В печени изменения имели более выраженный характер и проявлялись в виде набухания гепатоцитов, очаговой вакуолизации, в единичных клетках образовывались оптические пустоты (жировая дистрофия), некоторые гепатоциты были безъядерные, в синусоидах микрофаги были более многочисленными, чем у контрольного животного, на этом фоне были видны регенерирующие клетки на разных стадиях. В почке были видны участки десквамации эпителия извитых канальцев, в селезенке имелись фолликулы с многочисленными лимфоцитами, часть из которых распадались, во всех органах стенки сосудов были утолщены и набухшие.

В гистоструктуре органов животных, затравленных диоксином и свинцом и получавших сорбент, выраженных патологических изменений не отмечалось, структура органов не отличалась от контроля.

Таким образом, сочетанное отравление животных диоксином и токсичными элементами приводит к изменениям макрокартины органов, вызывает выраженные изменения в их гистоструктуре.

По результатам проведенных исследований установлено что, применение цеолита при сочетанном отравлении кроликов диоксином и токсичными элементами оказывает лечебное действие и предотвращает развитие дегенеративно-дистрофических изменений в органах и тканях животных.

3.11 Изучение сочетанного действия диоксина и кадмия хлорида на фоне применения димефосфона, янтарной кислоты, АСД-2 и бентонита

Животные были разделены на 5 групп по 3 кролика в каждой. Первая группа служила биологическим контролем. Вторая получала диоксин в дозе

1/200 ЛД₅₀ (0,15 мкг/кг живой массы) и кадмия хлорид в дозе 1/20 ЛД₅₀ (5,85 мг/кг живой массы). Третьей наряду с токсикантами давали АСД-2 в количестве 1 мл /гол и бентонит в дозе 2% от рациона животного, четвертой с токсикантами выпаивали димефосфон в дозе 90 мг/кг массы тела и исследуемый сорбент, пятая получала с бентонитом янтарную кислоту в количестве 25 мг/кг массы тела и совместно токсиканты.

У животных, получавших диоксин и кадмия хлорид, клинические признаки появились на 12 сут затравки в виде уменьшения потребления корма. На 20 сут исследования симптомы усилились, появилась одышка, диарея, отказ от корма. Масса тела снизилась на 24% (табл. 4). На 22 и 27 сут пало по одному кролику.

В третьей и четвертой опытных группах клинические признаки появились на 23 сут, которые характеризовались уменьшением потребления корма с последующим развитием диареи. Масса тела уменьшилась на 18%. На 29 сут пал один кролик из группы, получавшей лечение димефосфоном и бентонитом.

В пятой группе животных, которым с токсикантами давали янтарную кислоту и сорбент, клинические признаки практически не отмечались. Масса тела снизилась на 8% от фона.

Таблица 4 - Изменение массы тела при сочетанном отравлении диоксином и кадмия хлоридом на фоне применения лекарственных средств

Срок исследования, сут			
фон	10	20	30
Биологический контроль			
2,50±0,40	2,50±0,40	2,60±0,65	2,60±0,67
Диоксин+кадмий			
2,50±0,40	2,20±0,55	1,90±0,50	1,70±0,55*
Диоксин+кадмий+АСД-2+бентонит			
2,60±0,48	2,50±0,46	2,50±0,50	2,10±0,50*
Диоксин+кадмий+димефосфон+бентонит			
2,50±0,40	2,45±0,40	2,30±0,48	2,10±0,46*
Диоксин+кадмий+янтарная кислота+бентонит			
2,55±0,46	2,55±0,50	2,30±0,46	2,30±0,40*

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

При изучении содержания общего белка и его фракций в сыворотке крови отмечали изменения во всех опытных группах. Так, во второй группе кроликов, количество общего белка на 20 и 30 сут снижалось на 19 и 25%, альбуминов - на 60 и 48% соответственно, а фракция β- и γ- глобулинов наоборот увеличивалась на 118, 118% и 80, 108 % от фоновой величины.

В леченых группах животных содержание общего белка оставалось в норме, но отмечались изменения в соотношениях его фракций.

В третьей группе, получавшей с ксенобиотиками АСД-2 и бентонит, на 20 и 30 сут происходило снижение альбуминов на 12%, а концентрация α - и β - глобулинов повышалась на 24, 24% и 22, 54% соответственно. Фракция γ -глобулинов на 30 сут снижалась лишь на 19%.

При затравке исследуемыми токсикантами и лечении димефосфоном и бентонитом, у животных к 30 сут прослеживалось увеличение концентрации β - глобулинов на 66%. Наряду с этим происходило снижение γ -глобулинов на 20 день исследования на 66%, а к концу исследования данный показатель повышался на 20 % выше фоновой величины.

У затравленных животных, подвергшихся лечению янтарной кислотой и бентонитом, количество α - и γ -глобулинов увеличивалось на 30 сут на 23 и 19%, фракция β - глобулинов повышалась на протяжении всего опыта на 50, 50 и 91% соответственно от фона.

При изучении показателей естественной резистентности в группе кроликов, получавшей токсиканты, количество лейкоцитов на 10, 20 и 30 сут снижалось на 20, 20 и 22%, фагоцитарная емкость - на 20, 43 и 53% соответственно. Фагоцитарная активность, индекс и число уменьшались на 20 и 30 сут на 21 и 33; 10 и 10; 29 и 60% от фоновых величин. Активность лизоцима уменьшалась на 20 сут на 18% и оставалась на таком же уровне до конца опыта.

У кроликов, получавших тканевой стимулятор и сорбент, в исследуемые сроки происходило снижение фагоцитарного индекса – на 12, 15 и 15%, фагоцитарного числа - на 20, 21 и 21% соответственно. Максимальное снижение фагоцитарной емкости прослеживалось на 20 сут опыта, а к 30 сут показатель возвращался в норму. Активность лизоцима на 20 и 30 сут снижалась на 13 и 15% соответственно.

У животных, получавших мембраностабилизатор и бентонит, содержание лейкоцитов на 10 сут повышалось на 6%, в дальнейшем происходило не значительное снижение данного показателя, которое к 30 сут составило 6% от исходных данных. Вместе с тем, фагоцитарная активность, фагоцитарный индекс и активность лизоцима на 30 сут снижались на 15, 12, и 12% соответственно.

В группе животных, получавших янтарную кислоту и сорбент, показатели фагоцитоза практически не изменялись. Прослеживалось лишь снижение количества лейкоцитов и фагоцитарной емкости на 10 и 13%.

Содержание Т-лимфоцитов на 30 сут понижалась во второй и четвертых группах кроликов на 10 и 12% соответственно. Количество бурсазависимых клеток во второй группе снижался к концу опыта на 12%, а в пятой - данный показатель уменьшался лишь не значительно - всего на 10% от исходных данных.

В группе, получавшей сочетано диоксин и кадмия хлорид содержание токсичного элемента в печени, почках, сердце, мышцах и костной ткани

превышало биологический контроль в 24, 5, 4, 4 и 5 раз соответственно. В группах животных, получавших с токсикантами лекарственные препараты, накопление металла было менее выраженной, чем у животных, не получавших лечение. В третьей группе содержание кадмия в исследуемых органах было ниже, чем во второй группе в 1,6, 1,6, 1,5, 1,1 и 1,3 раза, в четвертой группе в 1,8, 1,5, 1,5, 1,1 и 1,1 раза, в пятой в 1,5, 1,6, 1,5, 1,5 и 1,3 раза соответственно.

3.12 Изучение раздельного и сочетанного действия диоксина и свинца ацетата на организм кроликов в малых дозах

Исследования по изучению сочетанного воздействия диоксина и свинца на организм животных в малых дозах проводили на кроликах живой массой 2,5-2,8 кг, разделенных на 6 групп по 3 в каждой. Первая группа служила биологическим контролем и получала обычный рацион. Вторая группа затравливалась 2,3,7,8 - ТХДД в количестве 0,075 мкг/кг массы тела (1/400 ЛД₅₀), третья получала 2,3,7,8- ТХДД в дозе 0,037 мкг/кг массы тела (1/800 ЛД₅₀), четвертая подвергалась воздействию свинца ацетата в дозе 10 мг/кг массы корма (2 ПДК). Пятая группа кроликов получала сочетано диоксин (1/400 ЛД₅₀) и свинца ацетат (2ПДК), шестая – диоксин (1/800 ЛД₅₀) и свинец в вышеуказанной дозе.

У животных, получавших диоксин в дозе 0,075 мкг/кг массы тела, на 60 сут наблюдалось снижение количества эритроцитов, гемоглобина, альбуминов и α -глобулинов соответственно на 6, 12, 6 и 26% ниже фона. Концентрация β - и γ -глобулинов увеличивалась в исследуемые сроки на 13, 50, 50% и 10, 30, 40% соответственно.

При затравке животных диоксином в дозе 0,037 мкг/кг параметры исследуемых показателей оставались в норме, за исключением фракций α - и β - глобулинов, концентрация которых на 40 и 60 сут повышалась на 33, 34% и 27, 32% соответственно.

В четвертой группе животных, получавших свинец, эритроциты и общий белок к концу опыта снижались на 8 и 8%. В исследуемые сроки происходило снижение количества альбуминов соответственно на 6, 6 и 13%, а фракции α - и β -глобулинов повышались на 12, 12, 50% и 27, 27 и 18% от фоновой величины. На 60 сут прослеживалось увеличение концентрации γ -глобулинов на 21%.

В пятой группе кроликов на 30, 40 и 60 сут наблюдалось снижение содержания эритроцитов на 5, 8 и 8%, альбуминов - на 11, 11 и 14, повышение α - и β -глобулинов – на 13, 37, 25 и 18, 18, 27% соответственно.

В шестой подопытной группе на 60 сут происходило снижение концентрации гемоглобина на 7%. Максимальное снижение общего белка на 9% отмечалось на 40 сут, альбуминов - на 10% на 20 сут. К 60 сут данные показатели возвращались к норме. Фракции α - и β -глобулинов повышались на протяжении всего опыта на 22, 22, 13 и 16, 25, 41% соответственно. На 40

и 60 сут прослеживалось снижение концентрации γ -глобулинов на 8 и 6% от исходных данных.

У кроликов, получавших диоксин в дозе 1/400 ЛД₅₀, количество лейкоцитов снижалось в среднем на 5%, фагоцитарная активность - на 6%, фагоцитарная индекс – на 20%, фагоцитарное число на 11% , фагоцитарная емкость – на 16%, активность лизоцима - на 8% соответственно.

В третьей подопытной группе, получавшей диоксин в дозе 1/800 ЛД₅₀ , изменений в показателях естественной резистентности не наблюдалось.

В четвертой группе на 60 сут прослеживалось снижение фагоцитарного числа, емкости и активности лизоцима на 13, 15 и 11% ниже исходных данных.

У кроликов пятой и шестой групп, получавших сочетано токсиканты, к концу исследования отмечалось снижение практически всех показателей фагоцитоза. Так, количество лейкоцитов снижалось на 11 и 6%, фагоцитарное число - на 8 и 14%, емкость - на 23 и 15%, лизоцимная активность на 15 и 11% соответственно. В пятой группе происходило снижение фагоцитарной активности на 12%, а в шестой фагоцитарного индекса на 12%.

В первой, второй, третьей группах подопытных кроликов каких либо изменений в содержании Т- и В-лимфоцитов не прослеживалось. Однако в группе, получавшей свинца ацетат, на 40 и 60 сут происходило снижение бурсазависимых клеток на 12 и 13%, в пятой группе количество Т-лимфоцитов снижалось на 7%, В-лимфоцитов на 14% к 60 суткам.

У кроликов затравленных меньшими дозами диоксина и свинца ацетатом уменьшалось лишь количество В-клеток на 60 день исследования на 14% по сравнению с фоном.

Таким образом, совместное поступление диоксина и свинца ацетата в организм животных в малых дозах вызывает потенцирование токсического эффекта, характеризующееся изменением гематологических, биохимических и иммунобиологических показателей. Степень вышеперечисленных изменений зависит от доз поступающих токсикантов.

4 ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, из вышеперечисленного можно сделать следующие выводы:

1. Сочетанное воздействие диоксина в дозе 1/200 ЛД₅₀ (0,3 мкг/кг живой массы) и Т-2 токсина в дозе 1/10 ЛД₅₀ (0,3 мг/кг живой массы) на организм белых крыс характеризуется более выраженными клиническими признаками, гибелью 100% животных (при 100% выживаемости в контроле), гематологическими и биохимическими изменениями, чем при отдельном введении токсикантов, и сопровождается снижением количества эритроцитов, гемоглобина, лейкоцитов на 15-16, 11-17, 15-31% соответственно, 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%); оказывает угнетающее действие на естественную резистентность белых крыс, что выражается уменьшением фагоцитарной активности нейтрофилов на 22-37%, лизоцима - на 32-44%, уменьшением содержания Т – лимфоцитов на 13-19% и В - лимфоцитов- на 15-19%.

2. Совместное поступление в организм поросят в течение 45 сут диоксина в дозе 1/400 ЛД₅₀ (15 мкг/кг живой массы) и Т-2 в количестве 2 ПДК (200 мкг/кг корма) характеризуется более выраженными симптомами отравления, снижением прироста массы тела, гибелью 77% животных (при 100 % выживаемости в контроле и в группе, получавшей Т-2 токсин и 33% гибелью в группе, получавшей только диоксин). Сочетанная интоксикация поросят диоксином и Т-2 токсином характеризуется снижением уровня эритроцитов - на 12-23%, гемоглобина – на 16-22%, лейкоцитов – на 22-30%, глюкозы – на 46%; повышением активности печеночных ферментов (АЛТ - в 3-6,5; АСТ – в 3,7 раза), МДА в 2,6-3,2 раза; на 46%, снижением концентрации микроэлементов в органах (меди на 43% в печени, на 46 – в почках, на 42 – в сердечной ткани, на 30 – в скелетной мускулатуре, на 43 – в костной ткани, цинка в костной ткани, сердечной и скелетной мускулатуре в 1,3, 2,0, 2,5 раза соответственно, железа в указанных органах в среднем в 1,4-2,6 раза, марганца в 1,3- 2,0 раза) и обнаружением следовых количеств Т-2 токсина, содержание которого было больше чем в группе получавшей только Т-2 токсин.

3. Сочетанная интоксикация овец диоксином в дозах 1/400 ЛД₅₀ (0,5 мкг/кг массы тела), 1/1000 ЛД₅₀ (0,2 мкг/кг живой массы) и Т-2 токсином в дозе 200 мкг/кг корма (2 ПДК) характеризуется снижением фагоцитарной активности – на 17 и 7%, фагоцитарной емкости – на 34 и 8%, активности лизоцима – на 25 и 7%, Т-лимфоцитов – на 18 и 10%, В-лимфоцитов - на 19 и 5% соответственно и обнаружением остаточных количеств Т-2 токсина в органах: в печени - 2,5 и 2,4 мкг/кг, в мышцах 3,2 и 2,0 мкг/кг, в почках 1,5 и 1,5 мг/кг соответственно.

4. Патоморфологическая картина сочетанного действия диоксина и Т-2 токсина характеризуется проявлением паренхиматозных дистрофий в органах с участками некробиоза и некроза, нарушениями ультраструктуры ядер, митохондрий и ЭПС, появлением в цитоплазме большого числа вакуолей, сокращением количеств цитоподий в подоцитах почек. Выраженность данных изменений зависит от доз поступающих токсикантов.

5. Сочетанное пероральное поступление диоксина в дозе 1/200 ЛД₅₀ (0,15 мкг/кг живой массы) и тяжелых металлов (кадмия хлорид 1/20 ЛД₅₀ - 5,85 мг/кг живой массы, свинца ацетат 1/10 ЛД₅₀ -65 мг/кг живой массы) в течение 30 сут характеризуется угнетением, одышкой, отказом от корма, диареей, парезом задних конечностей, гибелью 20-40% животных; снижением массы тела, гематологических показателей на 14-25%, общего белка - на 19-20%, фагоцитарной активности на 23-36%, активности

лизоцима - на 25- 31%, количества Т- и В-клеток в среднем - на 20-30%, образованием белковой дистрофией почек и печени с участками некробиоза и некроза, повышением содержания металлов в органах, по сравнению с раздельным введением токсикантов.

6. Длительное сочетанное поступление диоксина в дозе 1/400 ЛД₅₀ (для белых крыс 0,15 мкг/кг живой массы, для кроликов 0,075 мкг/ кг живой массы) и 1/800 ЛД₅₀ (для крыс 0,07 мкг/кг живой массы, для кроликов 0,037 мкг/кг живой массы), кадмия хлорида (0,6 мг/кг корма) и свинца ацетата (10 мг/кг корма), что составляет 2ПДК в течение 60 сут вызывает гематологические, биохимические изменения и приводят к снижению естественной резистентности без видимых клинических признаков отравления.

7. Применение препарата АСД-2 в количестве 2 мл/гол. при остром отравлении морских свинок диоксином снижает степень тяжести отравления и предупреждает гибель до 60% животных, тогда как применение димефосфона (90 мг/кг живой массы) – до 40%, а янтарной кислоты (25 мг/кг живой массы) – до 30%.

8. Применение разработанных схем лечения с использованием янтарной кислоты (25 мг/кг массы тела) в сочетании с бентонитом (2% от суточного рациона животного), АСД-2 (3 мл/гол) с бентонитом и димефосфона (90 мг/кг массы тела) с цеолитом (2% от суточного рациона животного) защищает животных от патогенного воздействия диоксина и Т-2 токсина и снижает токсическую нагрузку на организм, нормализует гематологические и биохимические показатели крови, процессы свободно радикального окисления, показатели естественной резистентности и иммунобиологической реактивности, предотвращает развитие дистрофических процессов в органах и тканях, предупреждает деструктивные изменения мембранных структур клеток.

9. Назначение рекомендуемых препаратов в сочетании димефосфона (90 мг/кг массы тела) и бентонита (2% от суточного рациона); АСД-2 (1 мл/гол) и бентонита; янтарной кислоты (25 мг/кг массы тела) и бентонита оказывает положительное влияние на организм кроликов при сочетанном отравлении их диоксином и кадмия хлоридом и характеризуется сохранностью всего поголовья, нормализацией клинико-гематологических, биохимических показателей и естественной резистентности организма, предотвращает накопление тяжелых металлов в органах и тканях животных.

ПРЕДЛОЖЕНИЯ ПРОИЗВОДСТВУ

Полученные результаты исследований необходимо учитывать при диагностике и лечении сочетанных отравлений животных, вызванных диоксинами, тяжелыми металлами и микотоксинами.

В качестве средств профилактики и лечения отравлений, вызванных диоксинами, микотоксинами и тяжелыми металлами как раздельно, так и сочетано, рекомендуется применять в комплексе бентонит (2% от рациона

животного) с АСД-2 (1-3 мл/гол), бентонит (2 % от рациона животного) с янтарной кислотой (25 мг/кг живой массы), цеолит (2% от рациона животного) с димефосфоном (90 мг/кг живой массы).

Результаты исследований отражены в 2 нормативно-технических документах, утвержденных Отделением ветеринарной медицины РАСХН (2012, 2013 гг.). Для специалистов в области токсикологии, фармакологии, иммунологии и экологии издана монография «Диоксины (биологические и ветеринарные аспекты)» (Казань, 2014, 223 с.).

Полученные результаты рекомендуется использовать для широкого круга ветеринарных и медицинских специалистов, токсикологов, биологов, экологов, ветсанэкспертов, научных сотрудников, аспирантов и студентов ВУЗов, а также ССУЗ зооветеринарного профиля.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Галкин, А.В. Диоксины в кормах. Риски для человека / А.В. Галкин, П. Бениш // Комбикорма. – 2011. – № 2. – С. 64-67.
2. Гончаренко М.С., Латинова А.М. Метод оценки перекисного окисления липидов. Лаб. дело. 1985; 1: 60-1.
3. Дорофейчук В.Г. Определение активности лизоцима нефелометрическим методом // Лаб.дело. – 1968. - № 1. – С.28-30.
4. Донченко, Л.В. Безопасность пищевой продукции / Л.В. Донченко, В.Д. Надыкта // М.: Пищепромиздат, 2001. – 528 с.
5. Желтов, В.А. Диоксины – техногенные загрязнители окружающей среды и их опасность для с.-х. животных / В.А. Желтов, В.Н. Волков, А.Л. Лавров и др. // Проблемы ветеринарной санитарии и экологии: Сб. науч. трудов ВНИИВСГЭ – М.: – 1995. – С. 107-109.
6. Иванов, А.В. Микотоксины (в пищевой цепи): монография. / А.В. Иванов, В.И. Фисинин, М.Я. Тремасов, К.Х. Папуниди – М.: ФГБНУ «Росинформагротех», 2012. – 136 с.
7. Иванов, А.В. Микотоксикозы животных (этиология, диагностика, лечение, профилактика) / А.В. Иванов, М.Я. Тремасов, К.Х. Папуниди и др. – М.: Колос, 2008. – 177 с.
8. Иванова, Ю.В. Нейрофизиологическая и гистологическая оценка комбинированного действия ПХБ и тяжелых металлов / Ю.В. Иванова // Токсикологический вестник. – 2004. – № 6. – С. 6-11.
9. Кост, С.А. Определение фагоцитарной активности лейкоцитов / С.А. Кост, М.И. Стенко // Клиническая гематология животных. М. 1974 - С.99-100.
10. Крятов, И.А. Полихлорированные бифенилы и диоксины – опасные и персистентные загрязнители окружающей среды (обзор) / И.А. Крятов, М.М. Автисменко, Н.Н. Цапкова. // Гигиена и санитария. – 1991. – № 12. – С. 68-72.
11. Монастырский, О.А. Проблемы исследования токсигенных грибов, поражающих злаковые культуры / О.А. Монастырский, Ю.Д. Коган // С.-х. биология. Серия Биология растений. – 2001. – № 3. – С. 27-35.

12. Новиков, В.А. Техногенное воздействие тяжелых металлов на окружающую среду и животных / В.А. Новиков, М.Я. Тремасов // Ветеринария. – 2004. – № 11. – С. 50-55.
13. Новиков, В.А. Диоксины: источники загрязнения, опасность, предупреждение отравлений / В.А. Новиков, М.Я. Тремасов // Ветеринария. – 2004. – № 5. – С. 51-55.
14. Папуниди, К.Х. Влияние цеолита и натрия сульфида на токсикокинетику кадмия при сочетанном отравлении белых крыс диоксином и кадмия хлоридом / К.Х. Папуниди, В.А. Конюхова, И.Ф. Вафин, И.Р. Кадиков // Современные проблемы ветеринарной фармакологии и токсикологии: Матер. второго съезда ветеринар. фармакол. в и токсикол. России. – Казань, 2009. – С. 309–312.
15. Папуниди, К.Х. Обеспечение химической безопасности / К.Х. Папуниди, М.Я. Тремасов, Р.М. Асланов // Современные проблемы ветеринарной фармакологии и токсикологии: Матер. конфер. – ФЦТРБ, Казань, 2009. – С. 312-314.
16. Папуниди, Э.К. Применение цеолитов для коррекции нарушения обмена веществ и содержания тяжелых металлов в организме животных / Э.К. Папуниди // Ветеринарный врач. – 2008. – № 1. – С. 13-15.
17. Смирнов, А.М. Ветеринарно-санитарные мероприятия на территориях, загрязненных экотоксикантами / А.М. Смирнов, В.И. Дорожкин, Г.А. Таланов // Матер. I-го съезда ветеринар. фармакол. России. – Воронеж, 2007. – С. 229.
18. Сетко, Н.П. Кинетика металлов в системе мать плод-новорожденный при техногенном воздействии / Н.П. Сетко, Е.А. Захарова // Гигиена и санитария. – 2005. – № 6. – С. 65-67.
19. Тремасов, М.Я. Диоксин вновь вернулся / М.Я. Тремасов, А.А. Иванов // Ветеринарный врач. – 2011. – № 1. – С. 2-3.
20. Федоров, Л.А. Диоксины как экологическая опасность: Ретроспектива и перспективы / Федоров Л.А // М.: Наука. – 1993. – С. 35.
21. Фримель, Г. Иммунологические методы // М.: Медицина, 1987. – 472с.
22. Dröge, W. Free radicals in Physiological control of cell function// *Physiol.Rev.*- 2002. 82: 105-112
23. Tinneberg, H.R. Infertility and heavy metals / H.R. Tinneberg, H. Goblinghoff // *Reprod. Domest. Anim.* – 1997. - №4. – P. 77.
24. Vanyi, A. Changes induced in newborn piglets by the trichothecene toxin T-2 / A. Vanyi, R. Glavits, E. Gajdacs // *Acta veter. hung.* – 1991. – V. 39. - №1-2. – p.29-37.

СПИСОК РАБОТ ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи, опубликованные в изданиях, рекомендуемых ВАК РФ

1. Вафин, И.Ф. Влияние цеолита и натрия сульфида на естественную резистентность животных при сочетанном отравлении диоксином и кадмия хлоридом / И.Ф. Вафин, К.Х. Папуниди, В.А. Новиков, **И.Р. Кадиков** // Ветеринарный врач. - 2010. - №3. – С. 14 – 16.
2. Папуниди, К.Х. Диоксины: опасность, профилактика, и лечение токсикозов, перспективы исследования / К.Х. Папуниди, М.Я. Тремасов, В.А. Новиков, **И.Р. Кадиков**, Р.Р. Гайзатуллин, Н.Г. Шангараев // Ветеринарный врач. - 2010.- №5. – С.25-27.
3. Саитов, В.Р. Влияние диоксина на ультраструктуру клеток различных органов овец в малых дозах / В.Р. Саитов, К.А. Осянин, М.М. Сальникова, И.Ф. Рахматуллин, **И.Р. Кадиков**, И.И. Идиятов // Вестник Новосибирского государственного аграрного университета. – 2011. - № 4 (20). – С. 87-94.
4. **Кадиков, И.Р.** Воздействие диоксина на иммунобиологическую реактивность и морфологию клеток организма овец / И.Р. Кадиков, К.Х. Папуниди, К.А. Осянин, В.Р. Саитов и др. // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – 2012. – Т. 210. – С. 101-106.
5. **Кадиков, И.Р.** Оценка показателей естественной резистентности и ультраструктуры тканей организма кроликов при сочетанном отравлении диоксином и свинцом / И.Р. Кадиков, К.Х. Папуниди, В.Р. Саитов, К.А. Осянин, М.Я. Тремасов // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – 2012. – Т. 210. – С. 95-100.
6. Саитов, В.Р. Изучение ультраструктуры белой пульпы селезенки кроликов при воздействии экотоксикантов и некоторых лекарственных препаратов / В.Р. Саитов, К.Х. Папуниди, М.М. Сальникова, К.А. Осянин, **И.Р. Кадиков**, И.Ф. Рахматуллин // Ветеринарный врач. – 2012. - № 3. – С. 48-50.
7. Иванов, А.В. Эффективность лекарственных средств при сочетанном отравлении животных диоксином и свинцом / А.В. Иванов, К.Х. Папуниди, М.Я. Тремасов, **И.Р. Кадиков**, М.М. Сальникова, В.Р. Саитов, К.А. Осянин, И.Ф. Вафин // Достижения науки и техники АПК. – 2012. - №3. – С. 58-62.
8. Иванов, А.В. Морфологические и биохимические показатели крови овец при хроническом отравлении диоксином / А.В. Иванов, К.Х. Папуниди, И.И. Идиятов, **И.Р. Кадиков** // Ветеринарный врач - 2012. - № 1. – С.17-19.
9. Папуниди, К.Х. Клинико-гематологические показатели поросят при хроническом отравлении диоксином / К.Х. Папуниди, И.И. Идиятов, **И.Р. Кадиков**, И.Ф. Вафин // Ветеринарный врач - 2012. - №5. – С.17-19.
10. Идиятов, И.И. Оценка биохимических показателей сыворотки крови на фоне воздействия диоксина как индикатор биологического действия на организм / И.И. Идиятов, А.А. Иванов, **И.Р. Кадиков**, В.Р. Саитов // Ветеринарный врач. – 2013. - № 1. – С. 51-54.

11. Саитов, В.Р. Изучение ультраструктуры белой пульпы селезенки свиней при воздействии диоксида, Т-2 токсина и применении лекарственных препаратов / В.Р. Саитов, М.М. Сальникова, **И.Р. Кадиков** // Ветеринарный врач. – 2013. - № 5. – С. 2-7.
12. Папуниди, К.Х. Хроническое отравление поросят малыми дозами диоксида / К.Х. Папуниди, А.А. Иванов, И.И. Идиятов, **И.Р. Кадиков**, И.Ф. вафин // Ветеринария. – 2013. - №3. – С. 50-55.
13. Папуниди, К.Х. Клинико-гематологические показатели крови овец при сочетанном отравлении диоксином и Т-2 токсином в малых и сверх малых дозах // К.Х. Папуниди, **И.Р. Кадиков**, М.Я. Тремасов, И.Ф. Вафин, А.А. Иванов // Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии - 2014. - № 2(12). - С. 77-79.
14. **Кадиков, И.Р.** Сочетанное действие диоксинов, микотоксинов и токсичных элементов на животных / И.Р. Кадиков, В.Р. Саитов, К.Х. Папуниди, М.Я. Тремасов, И.И. Идиятов // Ветеринария. – 2014. - №9 – С. 47-51.
15. **Кадиков, И.Р.** Применение янтарной кислоты и бентонита при сочетанном отравлении животных экотоксикантами / И.Р. Кадиков // Ветеринарный врач. – 2015. - №2. – С. 32-35.
16. **Кадиков, И.Р.** Морфо-функциональная характеристика крови животных при сочетанном отравлении диоксином и кадмием в малых дозах / И.Р. Кадиков // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. -. 2015. – Т. 222. - С.115-118.
17. **Кадиков, И.Р.** Токсикокинетика тяжелых металлов при сочетанном отравлении диоксином и токсичными элементами / И.Р. Кадиков // Ветеринария и кормление. – 2015.- № 5. – С. 26-27.
18. **Кадиков, И.Р.** Оценка эффективности АСД-2 и бентонита при сочетанном отравлении животных ксенобиотиками / И.Р. Кадиков К.Х. Папуниди, И.Ф.Вафин, Е.Л. Матвеева // Ветеринарный врач. – 2016. - №2. – С. 24-28.
19. Papunidi, K.Kh. Cytomorphological Changes Hepatorenal System Combined With Fever Poisoning Xenobiotics/ K.Kh Papunidi, **I.R. Kadikov**, V.R. Saitov, M.Y. Tremasov, A.M. Tremasova, F.A. Sunagatullin, S.Y. Smolentsev// Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences 2016. - 7(4). – P. 2214 – 2220.
20. Salnikova M.M. Cytomorphological Changes of Gepatorenalny System of Rabbits at The Combined Poisoning with Xenobiotics / E. G. Gubeeva, V/ R. Saitov, K/ Kh. Papunidi, **I. R. Kadikov**, F. A. Sunagatullin, S. Yu. Smolentsev // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences –2017. – 8 (10). - P. 1939- 1946.

Патенты РФ

21. Патент на изобретение № 2565406 «Способ защиты животных при отравлении диоксином» / К.Х. Папуниди, А.В. Иванов, **И.Р. Кадиков**, М.Я. Тремасов, А.А. Иванов, А.А. Корчемкин, И.И. Идиятов, И.Ф. Вафин – Заявлено 10.12.14; опубликовано 20.10.15, Бюл. № 29 – 8 с.

Методические пособия и монографии

1. Иванов, А.В. Подготовка образцов для трансмиссионной электронной микроскопии, применяемой при токсикологических исследованиях: компьютеризация расчетов / А.В. Иванов, К.Х. Папуниди, А.А. Иванов, В.Р. Саитов, К.А. Осянин, М.М. Сальникова, И.Ф. Рахматуллин, **И.Р. Кадиков** и др. // ФГБУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», 2012.-29 с.
2. Иванов, А.В. Токсикозы животных, вызванных диоксинами: этиология, профилактика и лечение / А.В. Иванов, К.Х. Папуниди, М.Я. Тремасов, А.А. Иванов, **И.Р. Кадиков** и др. // ФГБУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», 2013. – 33 с.
3. Иванов, А.В. Диоксины (биологические и ветеринарные аспекты) / А.В. Иванов, А.М. Смирнов, К.Х. Папуниди, М.Я. Тремасов, А.А. Иванов, **И.Р. Кадиков** // Казань, 2014 – 224 с.

Публикации в других изданиях

1. **Кадиков, И.Р.** Сочетанное действие диоксина и кадмия хлорида на животных / И.Р. Кадиков, И.Ф. Вафин // Материалы всероссийской научно-практической конференции молодых ученых «Актуальные проблемы с/х науки и практики в современных условиях и пути их решения», 25-27 февраля. – Казань, 2009. - С. 381-383.
2. Вафин, И.Ф. Лечебное действие натрия сульфида и цеолита при сочетанном отравлении животных диоксином и кадмия хлоридом / И.Ф. Вафин, **И.Р. Кадиков**, В.А. Новиков // Второй съезд ветеринарных фармакологов и токсикологов России «Современные проблемы ветеринарной фармакологии и токсикологии». – Казань, 2009. - С. 403-407.
3. Папуниди, К.Х. Влияние цеолита и натрия сульфида на токсикокинетику кадмия при сочетанном отравлении белых крыс диоксином и кадмия хлоридом / К.Х. Папуниди, В.А. Конюхова, И.Ф. Вафин, **И.Р. Кадиков** // Материалы второго съезда ветеринарных фармакологов и токсикологов России «Современные проблемы ветеринарной фармакологии и токсикологии». – Казань, 2009. – С. 309-312.
4. Иванов, А.В. Лечебное действие димефосфона и цеолита при сочетанном отравлении животных диоксином и кадмия хлоридом / А.В. Иванов, И.Ф. Вафин, **И.Р. Кадиков** // Современные проблемы диагностики, лечения и

профилактики болезней животных и птиц». – Екатеринбург, 2010. – С. 342-345.

5. **Кадиков, И.Р.** Лечебная эффективность бентонита с димефосфоном при сочетанном отравлении кроликов диоксином и Т-2 токсином / И.Р.Кадиков, М.Я. Тремасов // Ветеринарна медицина. –Харків, 2010. – С. 235.

6. **Кадиков, И.Р.** Совместное действие Т-2 токсина и диоксина на организм кроликов / И.Р. Кадиков, В.А. Новиков, М.Я. Тремасов, К.Х. Папуниди // Иммунология: аллергология, инфектология. - 2010. - № 1. - С 193-194.

7. Папуниди, К.Х. Гематологические и биохимические показатели овец при отравлении диоксином в малых дозах / К.Х. Папуниди, **И.Р. Кадиков**, И.Ф. Вафин, Е.Н. Майорова // Биотехнология: токсикологическая, радиационная и биологическая безопасность. – 2010. - С. 109-112.

8. Закирова, Г.Ш. Применение метода клиновидной дегидратации для экспресс-индикации отравлений токсическими веществами / Г.Ш. Закирова, **И.Р. Кадиков** // Журнал экологии и промышленной безопасности (Вестник Татарстанского отделения Российской экологической Академии). – 2010. - № 2. - С. 26.

9. **Кадиков, И.Р.** Лечебная эффективность цеолита и димефосфона при сочетанном отравлении кроликов диоксином и свинцом / И.Р. Кадиков, К.Х. Папуниди, И.Ф. Вафин, И.И. Идиятов // Материалы III съезда фармакологов и токсикологов России «Актуальные проблемы ветеринарной фармакологии, токсикологии и фармации». - Санкт-Петербург, 2011.- С.214-216.

10. Папуниди, К.Х. Сочетанное воздействие диоксина и свинца на организм / К.Х. Папуниди, **И.Р. Кадиков**, И.Ф. Вафин, В.И. Степанов // Материалы международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы современной ветеринарии», посвященной 65-летию ветеринарной науки Кубани» - Краснодар, 2011. – Ч.1. - С. 77-81.

11. **Кадиков, И.Р.** Применение цеолита при сочетанном отравлении животных диоксином и кадмием / И.Р. Кадиков, К.Х. Папуниди, И.Ф. Вафин, И.И. Идиятов // Материалы межрегиональной научно-практической конференции «Актуальные вопросы ветеринарной фармакологии и фармации» - Краснодар, 2012. – С. 149-152.

12. Идиятов, И.И. Оценка воздействия диоксина на факторы неспецифической резистентности / И.И. Идиятов, **И.Р. Кадиков**, К.Х. Папуниди, А.В. Иванов // Материалы международной научно-практической конференции «Научные основы производства и обеспечения качества биологических препаратов для АПК» - Щелково, 2012.- С. 543-548.

13. Идиятов, И.И. Клинико - гематологические показатели поросят при сочетанном отравлении диоксином и Т-2 токсином / И.И. Идиятов, **И.Р. Кадиков**, И.Ф. Вафин, Э.И. Семенов // Материалы IV съезда ветеринарных фармакологов и токсикологов России «Актуальные вопросы ветеринарной фармакологии, токсикологии и фармации» - Москва, 2013. - С. 286-288.

14. **Кадиков, И.Р.** Сочетанное воздействие диоксина и Т-2 токсина на иммунобиологическую реактивность организма поросят и ее коррекция / И.Р.

- Кадиков, И.И. Идиятов, М.Я. Трemasов // Материалы IV съезда ветеринарных фармакологов и токсикологов России «Актуальные вопросы ветеринарной фармакологии, токсикологии и фармации» - Москва, 2013. - С. 295-297.
15. Папуниди, К.Х. Показатели перекисного окисления липидов при сочетанной интоксикации поросят диоксином и Т-2 токсином и применение средств терапии // К.Х. Папуниди, А.А. Иванов, И.И. Идиятов, **И.Р. Кадиков** // Материалы IV съезда ветеринарных фармакологов и токсикологов России «Актуальные вопросы ветеринарной фармакологии, токсикологии и фармации» - Москва, 2013. - С. 455-457.
16. Губеева, Е.Г. Оценка эмбриотоксичности и тератогенности 2,3,7,8-тетрахлордифенза-пара-диоксина / Е.Г. Губеева, И.И. Идиятов, **И.Р. Кадиков**, И.Ф. Вафин // Материалы международной научно-практической конференции молодых ученых и специалистов «Биотехнологии в решении экологических проблем природы, общества и человека в Евразии: взгляд молодых ученых и специалистов». - Казань, 2013. - С. 17-19.
17. Губеева, Е.Г. Патоморфологические изменения тканей и клеток органов поросят при хроническом отравлении диоксином / Е.Г. Губеева, **И.Р. Кадиков**, И.И. Идиятов, К.А. Осянин // Материалы международной научно-практической конференции молодых ученых и специалистов «Биотехнологии в решении экологических проблем природы, общества и человека в Евразии: взгляд молодых ученых и специалистов». - Казань, 2013. - С. 137-139.
18. **Кадиков, И.Р.** Сочетанное воздействие диоксинов и микотоксинов на организм / И.Р. Кадиков, И.И. Идиятов, К.Х. Папуниди // Материалы второй Всероссийской научной конференции с международным участием «Окружающая среда и устойчивое развитие регионов», 2013. – С. 81-84.
19. Корчемкин, А.А. Клинико-гематологические показатели кур-несушек кросса «Хайсекс браун» при сочетанном отравлении диоксином и Т-2 токсином / А.А. Корчемкин, **И.Р. Кадиков**, И.Ф. Вафин, В.И. Степанов // Materialy IX Miedzynarodowej naukowii-praktycznej konferencji «Wschodnie partnerstwo – 2013» Volume 27. Weterynaria. –S. 55-57.
20. Идиятов, И.И. Коррекция процесса свободнорадикального окисления липидов при сочетанном отравлении поросят диоксином и Т-2 токсином / И.И. Идиятов, **И.Р. Кадиков**, И.Ф. Вафин // Материалы VII всероссийской конференции молодых ученых «Наука и устойчивое развитие». - Нальчик, 2013. - С. 57-59.
21. Осянин, К.А. Ультратонкие исследования селезенки и сердца овец при хроническом воздействии ксенобиотиков / К.А. Осянин, М.М. Сальникова, **И.Р. Кадиков**, В.Р. Сайтов, И.И. Идиятов // Материалы III международного конгресса ветеринарных фармакологов и токсикологов «Эффективные и безопасные лекарственные средства в ветеринарии», 2014. –С. 229-231.
22. Сальникова, М.М. Ультратонкие исследования печени, почек и головного мозга овец при хроническом воздействии ксенобиотиков / М.М. Сальникова, К.А. Осянин, В.Р. Сайтов, **И.Р. Кадиков**, К.А. Асылбаева // Материалы III международного конгресса ветеринарных фармакологов и токсикологов

- «Эффективные и безопасные лекарственные средства в ветеринарии», 2014. – С. 202-205.
23. **Кадиков, И.Р.** Применение адаптогенов в сочетании с бентонитом при совместном отравлении кур-несушек микотоксином Т-2 и диоксином / И.Р.Кадиков, К.Х. Папуниди, М.Я. Трemasов, А.А. Корчемкин // Материалы VI всероссийского конгресса по медицинской микологии «Успехи медицинской микологии» - Москва, 2014 – Том XIII - С. 328-330.
24. **Кадиков, И.Р.** Влияние АСД и бентонита на организм кур-несушек при сочетанном воздействии диоксином и микотоксином / И.Р. Кадиков, А.А. Корчемкин, А.А.Иванов, И.И. Идиятов // Материалы III международного конгресса ветеринарных фармакологов и токсикологов «Эффективные и безопасные лекарственные средства в ветеринарии», 2014. – С. 108-109.
25. Саитов, В.Р. Влияние сочетанного действия диоксина и ацетата свинца на ультраструктуру гепатоцитов кроликов и применение средств лечения и профилактики / В.Р. Саитов, К.А. Осянин, **И.Р. Кадиков** // Матер. IV международ. ветеринарного конгресса «Единый мир - единое здоровье», Казань, 2014.- С. 329-331.
26. **Кадиков, И.Р.** Содержание микроэлементов в органах поросят при сочетанном отравлении диоксином и Т-2 токсином на фоне применения лекарственных средств / И.Р. Кадиков, Иванов А.В., Конюхова В.А., Идиятов И.И., Вафин И.Ф. // Материалы V международного съезда ветеринарных фармакологов и токсикологов «Актуальные проблемы и инновации в современной ветеринарной фармакологии и токсикологии» - Витебск, 2015. – С 253-255.
27. **Кадиков, И.Р.** Субхроническое воздействие диоксина организм сельскохозяйственных животных / И.Р. Кадиков, И.И. Идиятов, К.Х. Папуниди, В.Р. Саитов // Тезисы докладов Российской научной конференции с международным участием «Медико-биологические проблемы токсикологии и радиобиологии» - Санкт- Петербург, 2015. - С. 202-203.
28. **Кадиков, И.Р.** Показатели гомеостаза овец при длительном поступлении Т-2 токсина в малых дозах / И.Р. Кадиков // Материалы III международного микологического форума «Современная микология в России» - Москва, 2015- Том V. –С 237-238.
29. Саитов, В.Р. Изменение тканей и клеток органов при отравлении поросят диоксином, Т-2 токсином и лечении / В.Р. Саитов, И.И. Идиятов, К.Х. Папуниди, **И.Р. Кадиков** // Материалы III международного микологического форума «Современная микология в России» - Москва, 2015 - Том V. – С 249-250.