

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РЕСПУБЛИКИ УЗБЕКИСТАН
БУХАРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ ИНСТИТУТ
ИМЕНИ АБУ АЛИ ИБН СИНО**

На правах рукописи
УДК 611.36.611.018. 614.9-616

Очилов Комил Рахимович

**СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МОРФОМЕТРИЧЕСКОГО И
УЛЬТРАСТРУКТУРНОГО СТРОЕНИЯ ГЕПАТОЦИТОВ ПЕЧЕНИ В
НОРМЕ И ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ РАЗЛИЧНЫХ ХИМИЧЕСКИХ
ФАКТОРОВ**

14.00.02 –Морфология

диссертация на соискание ученой степени

доктора (DSc) медицинских наук

**Научный консультант,
д.м.н., проф. Тешаев Ш.Ж.**

Бухара - 2020

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	6
ГЛАВА I. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	19
1.1. Воздействия экотоксикантов на живой организм	19
1.2. Влияния пестицидов на организм теплокровных.....	27
1.3. Клеточные основы влияния тяжелых металлов на организм.....	32
1.4. Влияние кадмия на организм человека и животных	39
1.5. Влияние свинца на организм человека и животных	46
ГЛАВА II. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	50
2.1. Оптическая и трансмиссионная электронная микроскопия.....	50
2.2. Выделение митохондрий	52
2.3. Измерение окислительного фосфорилирования и транспорта Ca^{2+} в митохондриях.....	53
2.4. Измерение проницаемости внутренней мембраны митохондрий	54
2.5. Методы индукции ПОЛ и определения его продуктов по содержанию малонового диальдегида	55
ГЛАВА 3. МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ СТРУКТУРНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ ПЕЧЕНИ В НОРМЕ, ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ СОЛЕЙ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ И ПЕСТИЦИДОВ.	58
3.1. Морфометрические параметры структурных элементов печени в норме.....	58
3.2. Морфометрические параметры структурных элементов печени при воздействии кадмия.....	61
3.3. Морфометрические параметры структурных элементов печени при введении соли свинца.....	68
3.4. Морфологические изменения гепатоцитов при введении животным бутилкаптакса.....	79

3.5. Морфометрические параметры структурных элементов печени при воздействии дефолианта дроппа.	83
3.6. Морфологические параметры при сочетанном введении солей свинца и кадмия	87
3.7. Морфометрические параметры структурных элементов печени при совместном введении животным дроппа и свинца.	91
3.8. Структура гепатоцитов при совместном введении животным бутилкаптакса и свинца	97
ГЛАВА 4. УЛЬТРАСТРУКТУРА ГЕПАТОЦИТОВ И КЛЕТОЧНЫХ СТРУКТУР В НОРМЕ И ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ СОЛЕЙ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ	109
4.1 Ультраструктура клеток печени в норме	109
4.2 Влияние тяжелых металлов на ультраструктуру печени.....	112
4.2.1. Ультраструктура гепатоцитов и клеточных структур при воздействии соли кадмия	112
4.2.2. Ультраструктура гепатоцитов и клеточных структур при воздействии соли свинца	116
4.2.3. Ультраструктура гепатоцитов и клеточных структур при сочетанном введении солей свинца и кадмия.	123
ГЛАВА 5. УЛЬТРАСТРУКТУРА ГЕПАТОЦИТОВ И КЛЕТОЧНЫХ СТРУКТУР ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ПЕСТИЦИДОВ И ПРИ СОВМЕСТНОМ ВВЕДЕНИИ СОЛЕЙ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ	126
5.1. Морфологические изменения гепатоцитов при введении животным бутилкаптакса	126
5.2. Структура гепатоцитов после введения дефолианта дроппа.	129
5.3. Структурный статус гепатоцитов при совместном введении животным дроппа и свинца	134
5.4. Структура гепатоцитов при совместном введении животным бутилкаптакса и свинца	139

ГЛАВА 6. ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ПЕСТИЦИДОВ С МЕМБРАННЫМИ СТРУКТУРАМИ ГЕПАТОЦИТОВ	144
6.1. Тканевое и субклеточное распределение некоторых пестицидов в организме животных	145
6.2. Взаимодействие пестицидов с мембранами митохондрий.....	148
6.3. Влияние тяжелых металлов на функциональную активность клеточных структур.....	152
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	158
ВЫВОДЫ	179
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	182
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	183

УСЛОВНЫЕ СОКРАЩЕНИЯ

ADP -	Аденозиндифосфат
АТР -	Аденозинтрифосфат
АМПБ -	аминопептидный бульон
БЛМ	бислойные липидные мембраны
ВОЗ -	всемирная организация здравоохранения
ГПК	бислойные липидные мембраны
ГХЦГ -	гексахлорциклогексан
ГЭС-	гладкая эндоплазматическая сеть.
ДДТ -	дихлордифенилтрихлорэтан
ДК -	дыхательный контроль
ЗЭС-	зернистая эндоплазматическая сеть
МДА-	малоновый диальдегид
МП -	мембранный потенциал
МПКП -	миниатюрные потенциалы концевых пластинок
Мх-	Митохондрия
НАД-	никотинамиддинуклеотид
ОС -	окислительный стресс
ОФ -	окислительное фосфорилирование
ПДК -	предельно допустимая концентрация
ПОЛ -	перекисное окисление липидов
РК-	рутениевый красный
СВ -	среда выделения
СИ -	среда инкубации
ТБК -	тиобарбитуровая кислота
ТГ -	токсический гепатит
ТБАБ -	тетрабутиламмоний бромид
ЦсА-	циклоспорин А
ЭГТА-	этиленгликоль-бис-аминоэтил-тетраацетат
ЭДТА-	этилендиаминтетраацетат
ЭПР-	электропарамагнитный резонанс
ΔμН-	протонный электрохимический потенциал
НАД·Н-	никотинамидадениндинуклеотид восстановленный
НАДФ·Н-	никотинамидадениндинуклеотидфосфат восстановленный

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность и востребованность темы диссертации. В мире охрана здоровья населения является актуальной проблемой глобального масштаба. Преобладающую часть загрязнителей окружающей среды составляют пестициды, без использования которых невозможно перспективное развитие сельского хозяйства. «По данным Всемирной Организации Здравоохранения ежегодно в мире отравлению пестицидами подвергаются от 500 тысяч до 2 млн человек, причем 40 тысяч случаев завершается смертельным исходом»¹. В настоящее время запрещено или ограничено применение высокотоксичных фосфорорганических и хлорорганических пестицидов, они замещаются пестицидами, производными пиретроидных, пиразоловых и других классов. Их преимуществами считаются: относительно низкая токсичность для организма животных и человека, высокая эффективность в отношении насекомых при воздействии в сравнительно малых дозах. Использование пестицидов для повышения урожайности, в мировом масштабе обуславливается актуальностью проблемы разработки мер по профилактике отрицательных последствий их воздействия на организм человека и животных.

В мировом масштабе настоящее время зарегистрировано более 1500 видов пестицидов, применение которых в сельском хозяйстве приводило к массовой гибели птиц и животных, также «...наблюдалось экзогенное загрязнение почвы тяжелыми металлами, превышающими фоновую концентрацию: по свинцу до 10 раз, по кадмию от 3 до 8 раз...»². По результатам исследований Государственного мониторинга «...окружающей природной среды Узбекистана ... »³, загрязнение подземных вод в низовьях

¹ Основные показатели здоровья по европейскому региону. ВОЗ. 2014 год.

² Barnola F.V., Camejo G. Villegans R. DDT-nerve membrane inter-action and ionic channels. // "Biophys.Soc.Program. and Abstrs 15th Ann.Meet., New Orleans, La., ".2001 - New York, - P.51.

³ Мониторинг окружающей природной среды: Доклад о состоянии окружающей среды и использовании природных ресурсов в Республике Узбекистан за 2002-2004 гг. (по результатам исследований по программе Государственного мониторинга окружающей природной среды).- Ташкент, 2005. – 51 с.

рек Амударьи (Республика Каракалпакстан и Хорезмская область) и Зарафшан (Бухарская и Навоийская области) носит региональный характер и формируется под влиянием сельскохозяйственных факторов. Так, подземные воды Бухарской области не отвечают требованиям OзDSt 950-2011. В Навоийской области загрязнение подземных вод отмечается в южной, центральной и северной частях территории. Большая часть этих вод характеризуется повышенными значениями минерализации общей жесткости, сульфатов, нитратов, аммония. Повышенное содержание аммония (> 10 ПДК) наблюдается по всем областям (за исключением Республики Каракалпакстан, где ПДК превышена в 1,6 раз), но особенно в Самаркандской – 32 ПДК, Джизакской - 32 ПДК и Бухарской областях – 27 ПДК. На сегодняшний день в нашей стране среди различных слоев населения проводится широко масштабная работа по раннему выявлению соматических заболеваний и снижению осложнений, созданию здоровой обстановки среди людей, предупреждению распространения и профилактики болезни. В Стратегии действий по пяти приоритетным направлениям дальнейшего развития Республики Узбекистан на 2017–2021 годы определены следующие задачи: «... способствующих повышению качества оказания медицинской помощи населению, оздоровлению, обеспечению и укреплению материальной технической базы медицинских учреждений первичного звена и скорой неотложной помощи ...»⁴. Исходя из сказанного выше, особое внимание уделяется повышению уровня оказания медицинских услуг населению, в предотвращении токсического воздействия пестицидов и солей тяжелых металлов на организм человека и животных. В результате масштабных реформ, осуществленных за годы независимости, в нашей стране достигнуты определенные успехи в предотвращении токсического воздействия пестицидов и солей тяжелых металлов на организм человека и животных. Данное диссертационное исследование в определенной степени

⁴ Указ Президента Республики Узбекистан № УП-4947 «О Стратегии действий по дальнейшему развитию Республики Узбекистан» от 7 февраля 2017 года

служит выполнению задач, предусмотренных Законом Республики Узбекистан «О санитарно–эпидемиологическом благополучии населения», «Об охране труда» и в Постановлении Президента Республики Узбекистан ПП-2460 от 29 декабря 2015 года «О мерах по дальнейшему реформированию и развитию сельского хозяйства на период 2016-2020 годов», в Указе Президента Республики Узбекистан УП-4947 «О стратегии действий по дальнейшему развитию Республики Узбекистан» от 7 февраля 2017 года, в Указе Президента Республики Узбекистан УП-5024 «Об усовершенствовании государственной системы по охране окружающей среды и экологии» от 21 апреля 2017 года, в «Стратегии действий по пяти приоритетным направлениям развития Республики Узбекистан в 2017- 2021 годах» и в других нормативно-правовых документах, принятых в данной сфере.

Соответствие исследования приоритетным направлениям развития науки и технологий республики. Настоящая работа выполнена в соответствии с приоритетными направлениями развития науки и технологий Республики Узбекистан: VI. «Медицина и фармакология».

Обзор международных научных исследований по теме диссертации. Отрицательные эффекты воздействия пестицидов на организм человека разнообразны, и во всем мире проводятся многочисленные научные изыскания для решения этой глобальной проблемы. Эти работы ведутся в ведущих мировых научных центрах и высших учебных заведениях, в том числе National Institute of Environmental Health Sciences, University of Maryland, New York University, University of Illinois at Chicago, Colorado State University, University of Rochester, University of California, Harvard University, Emory University (США), University of Milan (Италия), Universitat de València (Испания), University of Turku (Финляндия), Ghent University (Бельгия), Imperial College London (Великобритания), University of Edinburgh (Англия), University of Pavia (Италия), University of Murcia (Испания), Pukong National University (Корея), Punjab Agricultural University (Индия), в Российской

академии наук, в Байкальском национальном университете (Российская Федерация). За последние годы, в результате исследований по выявлению и снижению негативных последствий воздействия пестицидов на организм человека и животных, получен ряд важных научных результатов: разработаны современные методы для снижения частоты острого и хронического отравления пестицидами (University of Murcia); установлена безопасность применения 250 пестицидов (Colorado State University, University of Rochester Medical Center, University of California, Harvard University, Sinai Medical Center, Department of Environment and Health, Rollins School of Public Health at Emory University, США); разработаны современные методы для изучения токсического действия пестицидов, выявлены нарушения метаболических процессов в организме (Baikal Institute of Nature Management Siberian branch of the Russian Academy of sciences, Российская Федерация); раскрыты свойства загрязнителей окружающей среды по их передаче через генетические механизмы, и увеличению восприимчивости к различным заболеваниям, посредством вызывания тех или иных эпигенетических нарушений (University of Milan, Италия, Universitat de València, Испания, University of Illinois at Chicago, США, University of Turku, Финляндия, Ghent University, Бельгия); обнаружено эндокрин-разрушающее действие у широко распространенных хлор- и фосфорорганических (ДДТ, хлорпирифос и др.) пестицидов, а также у более 100 широко распространенных пестицидов из класса пиретроидов, неоникотиноидов, пиретроидов и карбаматов (Imperial College London, National Centre for Environmental Toxicology, Великобритания; Bundesinstitut für Risikobewertung, Federal Environment Agency, Германия; Centre National de la Recherche Scientifique, Centre de Biophysique Moléculaire, Франция). Отрицательные свойства эндокрин-разрушающих пестицидов разнообразны и во многом еще недостаточно изучены. Разработкой данной глобальной проблемы занимаются ведущие научные центры и университеты различных

стран мира, такие как National Institute of Environmental Health Sciences, National Exposure Research Laboratory, University of California, New York University (США); Institute of Environmental Medicine (Южная Корея); China Medical University, Shenyang (Китай). В них установлены отдельные механизмы развития токсического эффекта.

Разработаны токсикологические тесты, позволяющие определить остаточные количества эндокрин-разрушающих пестицидов и их метаболитов (National Centre for Environmental Toxicology, Великобритания); показано, что сохранение даже ничтожно малых концентраций пестицидов в воде, почве и пищевых продуктах представляет серьезный риск для здоровья человека и животных (Centre National de la Recherche Scientifique, Франция); разработаны способы определения пиретроидных пестицидов в воде, почве и воздухе в условиях жаркого климата и оценки степени их отрицательных воздействий; определены некоторые механизмы эндокрин-разрушающего действия пестицидов на потомство в условиях их внутриутробного и раннего постнатального воздействия через организм матери (НИИ санитарии, гигиены и профессиональных заболеваний, Ташкентская медицинская академия, Узбекистан). Однако, конкретные механизмы действия ионов тяжелых металлов и других ксенобиотиков на молекулярном, клеточном и мембранном уровнях до конца не установлены. Вместе с тем необходимость изучения механизма токсического действия химического агента предусматривает исследование их эффектов на клеточном, субклеточном и молекулярном уровнях.

Степень изученности проблемы. Прогнозирование эффекта совместного влияния ряда токсических агентов на основе информации об их влиянии при изолированном воздействии затруднительно. В каждом конкретном случае требуются экспериментальные исследования. В настоящее время в области изучения механизмов действия абиотических соединений на уровне клетки и ее органелл достигнут существенный прогресс. Обнаружено, что некоторые пестициды и ионы тяжелых металлов

аккумулируются в тканях млекопитающих и нарушают морфофункциональный статус клетки (Иванов С.Д. с соавт. 2003). Выяснилось мембранотропное влияние некоторых пестицидов (Кадиков И.Р., 2015).

Обнаружено, что окислительный стресс (ОС) играет главную роль при интоксикации организма тяжелыми металлами и различными пестицидами (WanL., 2012). Формирование свободных радикалов при этом, вызывает пероксидацию липидов, изменение клеточного гомеостаза Ca^{2+} , редокс - состояние тиоловых групп мембран, а также различные модификации дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК). Основой механизма токсического влияния тяжелых металлов на организм теплокровных является, возможно, совокупность всех этих негативных воздействий на клеточный метаболизм (Кадиков И.Р., 2015).

Имеется множество работ, посвященные механизму действия тяжелых металлов и пестицидов на организм человека и животных на уровне биологических мембран (Иванов С.Д. с соавт., 2003; Кучерко Н.И., 2007; Кадиков И.Р., 2015).

С точки зрения современной физико-химической биологии, в анализе токсического действия пестицидов особое место принадлежит их модифицирующему влиянию на структурно-функциональные свойства биологических мембран и клеточных органелл (Корнева Е.А. с соавт., 2005; KondohM. et al., 2002).

В настоящее время определен мембранообразный эффект некоторых пестицидов (Акиншина Н.Г., 2001). Обнаружено, что окислительный стресс (ОС) играет главную роль при интоксикации организма тяжелыми металлами (Dineley K.E., et al. 2003; Lewis C.P. et al., 2005). Формирование свободных радикалов вызывает пероксидацию липидов, изменение клеточного гомеостаза Ca^{2+} , редокс-состояние тиоловых групп мембран, а также различные модификации дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК). Основой механизма токсического влияния тяжелых металлов на организм

теплокровных является, возможно, совокупность всех этих негативных воздействий на клеточный метаболизм.

Имеется множество работ, посвященные механизму действия тяжелых металлов и пестицидов на организм человека и животных на уровне биологических мембран (Ибрагимова К.М., Алматов К.Т., 2003; Куценко С.А. 2003; Исмаилова А.А., Яковенко К.В., 2006). Однако, конкретные механизмы действия ионов тяжелых металлов и других ксенобиотиков на молекулярном, клеточном и мембранном уровнях до конца не изучены.

Однако по мере накопления опытных данных становится ясно, что современное гигиеническое нормирование имеет серьёзные недостатки. Нет ясности в обоснованности действующих концентраций химических веществ, нуждаются в уточнении вопросы определения токсичности веществ на биологических моделях и о правомочности распространения этих данных на человека. Установление действующих концентраций отравляющих веществ, а также механизмы их токсического действия на организм также важны для токсикологии медицины. Повышение качества оценки экологического состояния внешней среды требует изучения действия на организм не отдельно взятых веществ, а в комплексах, как это в основном бывает в реальных условиях. Прогнозирование эффекта совместного влияния ряда токсических агентов, на основе информации об их влиянии при изолированном воздействии, крайне затруднительно. В каждом конкретном случае требуются экспериментальные исследования.

Влияние многих пестицидов и других загрязняющих веществ оценивается главным образом с токсикологических и санитарно-гигиенических точек зрения, а это оправдало себя в использовании в определенной области для регулирования. В настоящее время в странах СНГ установлены и действуют более 6000 разных гигиенических нормативов, которые определяют максимально допустимое количество различных ксенобиотиков для разных объектов окружающей среды. Но когда были собраны экспериментальные данные, стало ясно, что современная гигиена

представляет собой ряд недочетов. Основа для фактической концентрации химических веществ неясна, есть необходимость уточнения токсичности веществ в биологических моделях и объяснение в способности человека использовать эту информацию. Фактическая концентрация ядовитых веществ, а также механизм их токсического воздействия на организм важны для токсикологии и медицины. Для повышения качества экологического состояния окружающей среды требуется изучение влияния их комплексов на организм, которое, скорее всего, будет происходить в реальных условиях, а не в отдельном веществе. Трудно предсказать совокупное воздействие ряда токсичных агентов на их состояние. В каждом конкретном случае требуются экспериментальные исследования.

Связь диссертационного исследования с планами научно-исследовательских работ высшего образовательного или научно-исследовательского учреждения, где выполнена диссертация. Диссертационная работа выполнена в рамках проектов Бухарского государственного медицинского института по плану научно-исследовательской работы № 05.2018.DSc.021 на тему «Разработка новых подходов по раннему выявлению, лечению и профилактике предпатологических и патологических случаев в Бухарском регионе» (2017–2021).

Цель исследования изучение морфометрических и ультраструктурных параметров печени и гепатоцитов при действии солей тяжелых металлов и некоторых дефолиантов при раздельном и совместном применении.

Задачи исследования:

изучить массового коэффициента печени крыс при действии солей тяжелых металлов – кадмия и свинца а также дефолиантов – бутилкаптокса и дроппа при раздельном и совместном применении;

изучить морфологических параметров гепатоцитов, внутripеченочных сосудов и желчных путей в норме, при действии солей кадмия и свинца а

также при действии дефолиантов бутилкаптокса и дроппа при отдельном и совместном применении;

изучить ультраструктуры гепатоцитов в норме, при действии солей кадмия и свинца а также при действии дефолиантов бутилкаптокса и дроппа при отдельном и совместном применении;

изучить отдельного и комбинированного введения солей кадмия и свинца на функциональное состояние митохондрий печени;

исследование тканевого и субклеточного распределения некоторых пестицидов в организме животных;

комплексное изучение действия дефолиантов в условиях *insitu* и *in vitro* на энергетический обмен и проницаемость мембран митохондрий клеток животных тканей.

Объектом исследования являются печень крысы, гепатоциты и мембранные структуры (митохондрий).

Предметом исследования являются морфофункциональное состояние гепатоцитов и клеточных структур в условиях различных отравлений организма пестицидами и тяжелыми металлами.

Методы исследования. В настоящей диссертационной работе использованы современные методы морфологии, биохимии, биофизики, клеточной биологии, вариационной статистики.

Научная новизна исследования заключается в следующем:

впервые исследован массовый коэффициент печени крысы при действии на нее солей кадмия и свинца, а также при действии дефолиантов бутилкаптокса и дроппа при отдельном и совместном применении;

впервые исследованы ультраструктурные изменения в ткани печени и функциональном состоянии митохондрий при интоксикации животных солями тяжелых металлов и пестицидов при их отдельном и сочетаемом введении;

показано, что наиболее уязвимыми ультраструктурами печени при действии токсикантов являются митохондрий и эндоплазматическая сеть. С

применением меченых дефолиантов (дропп, бутылкапакс) обнаружено наибольшее накопление метки в этих ультраструктурах;

установлено, что в случае сочетанного введения животным препаратов свинца и кадмия на уровне ультраструктурных изменений гепатоцитов и сдвигов в функциональном состоянии митохондрий реализуется взаимный синергизм этих токсикантов с преобладанием признаков, присущих действию солей свинца;

обнаружена специфика изменений ультраструктуры гепатоцитов при сочетанном введении дефолиантов и соли свинца, которая, как правило, не повторяет ту перестройку структуры, которую индуцирует отдельное введение токсикантов;

выявлена корреляция токсикологических характеристик дефолиантов с их модифицирующим действием в условиях *in vitro* на проницаемость мембран митохондрий печени крысы.

Практические результаты исследования:

Практическое значение имеет описанный в диссертации факт взаимоусиления влияния токсических соединений на структурно-функциональное состояние ткани печени и внутриклеточных мембранных образований. Совместное действие органических и неорганических соединений на организм оказывает существенно более сильное воздействие, чем их отдельное введение, поскольку они способны усиливать эффективность друг друга. Строгое соблюдение предельно допустимых концентраций (ПДК) для каждого из токсикантов в отдельности, в условиях одномоментного контакта человека с несколькими из них, может приводить к грубым нарушениям структуры и функции клеток, а в конечном счете к возникновению патологического состояния, профессиональных заболеваний и т.д. Полученные в настоящей работе данные следует учитывать при развитии стратегии адекватного подхода к разработке санитарных и гигиенических норм в условиях контакта людей и животных с промышленными токсинами и ядохимикатами в различном сочетании.

Достоверность результатов исследования. Исследования проведены с использованием современных морфологических методов и средств. Все цифровые данные статистически обработаны. Результаты научных исследований внедрены в судебно-химических и ветеринарных лабораториях.

Научное и практическое значение результатов исследования.

Научная значимость заключается в том, что впервые исследованы ультраструктурные изменения в ткани печени и функциональном состоянии Мх при интоксикации животных солями тяжелых металлов и пестицидов при их отдельном и комбинированном введении. Показано, что наиболее уязвимыми ультраструктурами печени при действии токсикантов являются Мх и эндоплазматическая сеть. В случае комбинированного введения животным препаратов свинца и кадмия на уровне ультраструктурных изменений гепатоцитов и сдвигов в функциональном состоянии Мх реализуется взаимный синергизм этих токсикантов с преобладанием признаков, присущих действию солей свинца.

Практическая значимость заключается в том, что совместное действие органических и неорганических соединений на организм оказывает более сильное воздействие, чем их отдельное введение, поскольку они способны усиливать эффективность друг друга. Нужно учесть, что соблюдение ПДК в условиях одновременного контакта человека с несколькими пестицидами приводит к нарушениям структуры и функции клеток и к возникновению патологического состояния.

Внедрение результатов исследования. На основании полученных результатов по изучению морфометрических и ультраструктурных параметров печени и гепатоцитов при действии солей тяжелых металлов и некоторых дефолиантов при отдельном и комбинированном применении:

утверждены методические рекомендации на тему: «Методика изучения ультраструктурного строения клеток печени при введении в организм солей тяжелых металлов» (справка Министерства здравоохранения №8н-р/139 от

09 июня 2020 года). Данная методическая рекомендация дала возможность изучению ультраструктурного строения клеток печени при введении в организм солей тяжелых металлов;

утверждены методические рекомендации на тему: «Методика изучения структурного статуса гепатоцитов при совместном введении животным дроппа и свинца» (справка Министерства здравоохранения №8н-р/140 от 09 июня 2020 года). Данная методическая рекомендация дала возможность изучению структурного статуса гепатоцитов при совместном введении животным дроппа и свинца;

утверждены методические рекомендации на тему: «Методика изучения морфофункционального состояния клеточных структур при действии пестицидов» (справка Министерства здравоохранения №8н-р/141 от 09 июня 2020 года). Данная методическая рекомендация дала возможность изучению морфофункционального состояния клеточных структур при действии пестицидов;

Результаты диссертации внедрены в судебно-химическую лабораторию Бухарского областного бюро Судебно-медицинской экспертизы, Бухарского областного бюро патологической анатомии (Заключение Министерства здравоохранения РУз №8 н-д/62 от 9.06.2020 года). Результаты разработки, по установлению наличия малых доз пестицидов и солей тяжелых металлов в биологических объектах с использованием тонкослойной газожидкостной хроматографии в процессе проведения судебно-медицинской экспертизы, позволяют установить причину возможных патологических изменений в организме исследуемого, что даёт возможность повысить эффективность диагностики отравлений человека с целью оказания своевременной помощи и лечения пострадавшего, или установить причину смерти человека.

Апробация результатов исследования. Результаты данного исследования были обсуждены на 2 международных и 6 республиканских научно-практических конференциях.

Публикация результатов исследования. По теме диссертации опубликовано 32 научных работ, из них 11 журнальных статей – 7 в республиканских и 4 в зарубежных научно-практических изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Республики Узбекистан для публикации основных научных результатов докторских диссертаций.

Структура и объём диссертации. Диссертация состоит из введения, пяти глав, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка использованной литературы. Объём диссертации составляет 182 страниц.

ГЛАВА I. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Воздействия экотоксикантов на живой организм

Экотоксикантом называют токсичное и устойчивое в условиях окружающей среды вещество, способное накапливаться в организмах до опасных уровней концентраций [95; с194-195]. Чужеродные для организмов химические вещества, не входящие в естественный биотический круговорот, называют ксенобиотиками [3; с. 24, 54; с.104-109].

Ксенобиотики это чужеродные для организмов соединения (промышленные загрязнения, пестициды, препараты бытовой химии, лекарственные средства, соли тяжелых металлов и т. п.). Ксенобиотики, попадая в организмы в больших количествах, могут воздействовать на генетический аппарат и вызывать их гибель. [148; с.183-184., 109; с.5-15].

В результате хозяйственной деятельности человека в биосфере циркулирует большое число различных, чужеродных для человека и животных ксенобиотиков, многие из которых имеют исключительно высокую токсичность. Из органических соединений - загрязнителей выделены «приоритетные», т.е. те из них, которые представляют наибольшую опасность для человека сейчас и в будущем [55; с.117–118].

Активная работа промышленных предприятий приводит к большому поступлению в окружающую среду тяжелых металлов, которые затем могут привести к оседанию токсикантов на поверхность земли, в очень близком расстоянии от источника загрязнения [41; с.12-14, 173; с.153-156]. Концентрация металлов на территориях, прилегающих к промышленным предприятиям, значительно превышает предельно допустимую норму [72; с.23- 32, 117; с.171, 196; p.12349-12366].

В настоящее время в мире зарегистрировано более 1500 видов пестицидов, применение которых, в сельском хозяйстве, приводило к массовой гибели птиц и животных [158; с.169, 163; с. 315-317].

Экотоксиканты поглощаются живыми организмами и перемещаясь по пищевым цепям, увеличивая во много раз свои концентрации, оказывают

вредное воздействие на природные экосистемы, живые организмы и человека [40; с.87 , 157; с. 243-245]. В последние десятилетия все чаще признается тот факт, что успех в области охраны и укрепления здоровья населения во многом зависит от социальных и экономических факторов, а также от условий и состояния окружающей среды, в которых живет нынешнее и будет жить будущее поколение людей [122; с. 243].

В сельском хозяйстве нет фактора, более тесно связанного с проблемой охраны природы, особенно охраны здоровья человека, чем химизация отрасли. Вопросы безопасного обращения пестицидов, агрохимикатов и химиотерапевтических средств чрезвычайно важны. Способность их к циркуляции в объектах окружающей среды (вода, почва) и их наличие в сельскохозяйственной продукции обуславливает возможность хронического неблагоприятного воздействия на живой организм [117; с.171, 83; с. 67, 140; с. 35-37].

К тому же немало действующих веществ пестицидов и агрохимикатов, обладают способностью к материальной биологической кумуляции – накоплению в биосредах человека [152; с.232, 104; с.14-16].

В результате действия гербицидов на промежуточный метаболизм, нарушаются процессы распада и образования низкомолекулярных органических соединений, необходимых для нового синтеза; действие на вторичный метаболизм выражается в нарушении синтеза различных специфических компонентов растительных клеток типа алкалоидов, пектинов, кумаринов, антоцианина, танинов и т.д. [160; с. 224]. Важно отметить возможность прямого и косвенного контакта гербицидов с эндогенными регуляторами роста, таких как фитогормоны (ауксины, гибберелены, цитокинины, абсцизины и этилен) и негормональными физиологически активными веществами (витамины, фенольные соединения) [26; с. 214]

Гербицидное действие соединений может сопровождаться изменением их молекулярной структуры. Производные арилоксиуксусных

кислот (2,4-Д, 2М-4Х), бензойной кислоты (бифенокс), арилоксифеноксипропионовых кислот (бензоилпропэтил), галлоидалкановых кислот (бидизин), мочевины и др. превращаются и передвигаются по растению в форме кислот и конъюгированных с сахарами соединений [231; p. 609-627]. Обнаружено, что некоторые гербициды амипрофосметил, оризалин, трифлуралин, а также фунгициды каптан и дихлофлуанид реализуют свое воздействие через гомеостаз Ca^{2+} клетки, индуцируя $2H^+/Ca^{2+}$ - обмен Мх [219; p.164-168]. При этом нарушается перераспределение ионов Ca^{2+} между Мх и цитоплазмой клетки. Показано, что эти гербициды индуцируют $2H^+/Ca^{2+}$ -обмен Мх.

Способность соединения проникать через мембрану, в большей степени зависит от его липофильности. Более того, в ряде случаев отмечается прямая корреляция активности пестицида от его липофильности [184; p.143-150]. Проникновение пестицидов через мембрану и их встраивание в мембрану приводит к изменениям структуры функции и мембран.

Исследование Patnaik В.В. [227; p.413-416] показали, что через 5 часов внутрибрюшинного введения крысам гербицидного соединения N-(фосфометил)-глицина, наблюдалось заметное ингибирование энергозависимого фосфат-индуцированного набухания изолированных Мх печени. При этом дыхательный контроль снижался, и одновременно увеличивалась АТФазная активность Мх печени. Этот пестицид снимал ингибированные окисления, вызванные олигомицином. Авторы сделали заключение, что это фосфорорганическое соединение проявляет свойства разобщителя динитрофенольного типа.

Морфологические и цитологические эффекты ряда гербицидов на процессы морфогенеза клеток осуществляются за счет взаимодействия с системой микротрубочек. Очевидно, ингибированные сборки/разборки микротрубочек являются результатами изменения уровня Ca^{2+} в цитоплазме через взаимодействие с системой Ca^{2+} - помпы митохондриальных мембран [57; с.15-17], поскольку ионы Ca^{2+} играют ведущую роль в регуляции

полимеризации/диполимеризации микротрубочек. В основном, эффект при этом реализуется через ослабленные поглощения Ca^{2+} . Так, иоксинил может влиять на поглощение Ca^{2+} косвенно, поскольку он подавляет систему генерации энергии, с другой стороны он эффективно индуцирует $2\text{H}^+/\text{Ca}^{2+}$ -обмен Мх, не разобщая ОФ.

Для развития токсического эффекта инсектицид должен проникнуть в животный или растительный организм. Во многом реализация эффекта обусловлена физико-химическими особенностями соединения. Так, вещества даже высокоактивные, но ионизированные, практически нетоксичны по отношению к подавляющему большинству членистоногих.

Одним из факторов, обеспечивающим проникновение и специфическое распределение пестицида клетки, является взаимодействие его с мембранными липоидами. Чем больше липотропного вещества, тем легче оно проникает через клеточные и внутриклеточные мембраны, влияя на функциональное состояние субклеточных структур. Важным фактором является и то, с какими липоидами мембран преимущественно связывается инсектицид.

По данным Т.Д. Дегтяревой показано, что разные по химической природе пестициды обнаруживаются в максимальных количествах в составе различных липидных фракций [34; с.56]. В частности, ДДТ – высоко гидрофобное соединение, в наибольших количествах обнаруживается во фракции эфиров холестерина, γ – ГХЦГ – в триглицеридах, а Севин менее гидрофобен, максимальное количество его обнаруживается в фосфолипидах.

В основе нейротоксичности хлорофоса и других пестицидов лежат изменения таких важных компонентов нейрональных мембран, как ганглиозидов, цереброзидов и холестерина [49; с.202-204]. В основе взаимодействия пестицида с липидом, очевидно, лежит образование адсорбционных связей.

Изучение взаимодействия ДДТ с нервными мембранами кальмара [188; р.111-116] показало, что препарат аккумулируется в плазматической

мембране нервных волокон. При этом он ингибирует калиевую проницаемость и задерживает открывание натриевых каналов в аксонах кальмара.

Обнаружено, что хлорфенвиомфос и его аналоги подавляют потребление кислорода в состоянии V_3 в Мх мозга крысы, однако, в концентрации 25-75 мкМ, эти соединения не влияют на скорость дыхания Мх состоянии V_4 при использовании сукцината в качестве субстрата окисления [244; p.625]. Кроме того, не изменяется активность сукцинатдегидрогеназы и цитохром – с – оксидазы.

При изучении влияния паратиона, малотиона и диметоата на дыхание Мх печени крыс показало, что данные препараты при концентрации свыше 26 мкг/мл существенно угнетают скорость дыхания Мх, активированного в присутствии 2,4 – ДНФ, однако и без добавки разобщителя обнаруживается аналогичный угнетающий эффект [227; p. 413-416].

Одним из проявлений активности пестицидов является воздействие их на ферментные системы биомембран. ДДТ в концентрации 53 мкМ подавляет *invitro* Mg^{2+} - и Na^+ , K^+ - АТФазу печени, слизистой оболочки кишечника, клоакального пузыря и почек черепах. В результате непосредственного воздействия токутиона и его метаболитов изменяется активность микросомальных ферментов крыс [29; с.53]. Ряд хлорорганических инсектицидов и карбамантов снижает активность ферментов пентозофосфатного цикла.

Следует отметить, что влияние инсектицидов на большинство ферментов неспецифично. Однако ингибированные холинэстеразы являются характерными для инсектицидов, особенно в фосфорорганических и карбонатных соединениях [243; p. 531-537].

Вместе с тем, в механизме действия ряда ксенобиотиков важная роль наряду с непосредственным действием препарата принадлежит опосредованному влиянию на метаболические процессы через изменение уровня гормонов, метаболитов и других биологически активных веществ.

Так, у насекомых, отравленных малотионом, существенно повышается содержание цГМФ [250; р. 471–482]. Поскольку цГМФ играет важную роль в механизме действия гормонов, автор придает установленному им факту патогенетическое значение в процессе интоксикации насекомых фосфорорганическими соединениями.

В организме млекопитающих отдельные группы инсектицидов проявляют направленное действие вследствие различной избирательной локализации [202; р.77-83]. Так, метилнитрофос вызывает резкое понижение уровня АТФ и гликогена в грудных мышцах и печени кур. Токсическое действие на репродуктивные функции обнаружено для синтетического пиретроида амбуша, линдана и других пестицидов [105; с.46-48].

Таким образом, из данных, вышерассмотренных литературных источников, видно многостороннее проявление токсических эффектов соединений с инсектицидной направленностью, как на организм насекомого, так и на организм млекопитающих и на растительные клетки. Пока трудно более или менее однозначно определить последовательность процессов, ведущих к реализации токсического эффекта. Думается, что более детальное изучение механизма действия соединений на клеточном и субклеточном уровнях способно решить эту проблему.

Действие дефолиантов на растительном организме сказывается и на протекающем в нем метаболизме углеводов. Нарушение углеводного обмена, может быть связано с изменением энергетической эффективности процессов дыхания и фотосинтеза, выражающемся в снижении уровня АТФ, дефицит которого препятствует как передвижению, так и превращению сахаров. Несмотря на высокую дефолирующую активность бутифоса, в настоящее время прекращено его применение в хлопководстве Республики Узбекистан, ввиду высокой токсичности в отношении теплокровных. Эти аспекты действия бутифоса на физиологические и биохимические процессы, протекающие в организме человека и животных, будут проанализированы нами в ряде последующих разделов. Здесь же мы рассмотрим свойства

некоторых других дефолиантов, являющихся перспективными для использования в хлопководстве ввиду их меньшей токсичности.

Мембраноповреждающие и цитотоксические эффекты многих ксенобиотиков связаны с ПОЛ. В качестве иллюстрации этого положения можно привести данные [152; с.38]: дефолианты дропп и бутилкаптакс нарушают ультраструктуру гепатоцитов, индуцируют НАДФН- и аскорбат-зависимый ПОЛ. Взаимосвязь индукции ксенобиотиками процессов ПОЛ с модификацией функциональных показателей мембран обсуждается в работах Мухомедзяновой С.В. и соавт. [106; 43-48]. Дефолианты бутифос, бутилкаптакс, хлорат магния, дропп, этилен продуцирующие соединения в значительной мере модифицируют протекание важнейших физиолого-биохимических процессов в растительном организме.

Таким образом, представленные в настоящем разделе литературные данные свидетельствуют о разностороннем эффекте пестицидов на структурно-функциональное состояние тканей и клеток, как растительного, так и животного организма. Очевидно, выяснение механизма биологического и токсического действия соединений различной направленности будет способствовать созданию препаратов с минимально-отрицательным воздействием на организм человека и животного.

Общественное мнение достаточно встревожено опасностью возможных неблагоприятных влияний ядохимикатов, особенно после массового отравления в Италии диоксином, ртутью в Японии, Скандинавии и Ираке, кадмием в Японии. Однако для многих людей эта опасность реально существует только в исключительных обстоятельствах, более постоянно опасные для здоровья факторы возникают в ряде отраслей антропогенной деятельности [132; с.235-243]. Увеличение в экосистеме вредных факторов химической этиологии обусловлено деятельностью человека, отрицательными последствиями применения современных агрохимикатов и химиотерапевтических препаратов, что является причиной изменения важнейших параметров функционирования живых систем, и ставит задачу

комплексного изучения воздействия ксенобиотиков на организм [18; с. 38-44; 69; с. 29-33]. Из 106 известных элементов около 20 металлов опасны для человека и его природного окружения, особенно такие, как мышьяк, бериллий, кобальт, хром, кадмия, свинец, марганцем, ртуть и молибден. Опасным является также повышенная концентрация в окружающей среде меди, цинка и алюминия [95; с.194-195, 147; с.218, 1490; с.182-192]. Основным источником загрязнения этими металлами являются места добычи (шахты, карьеры) и обработки (плавильные и металлообрабатывающие предприятия).

Ухудшение экологической обстановки, которое прогрессирует, может привести к концентрации тяжелых металлов в питьевой воде и продуктах питания, которое свидетельствует о значимой роли алиментарного фактора в поступлении ксенобиотиков в организм [24; с. 135-138, 179; p. 153-156].

Патогенные бактерии в разной степени устойчивы к действию тяжелых металлов, процессы размножения патогенных микроорганизмов в среде в большей степени тормозят кадмий и кобальт, и в меньшей степени – свинец, что может быть связано с механизмами проникновения и воздействия тяжелых металлов на микробную клетку [123; с. 165-170].

Лукин С.В. (2013) считает, что основной путь поступления экотоксиканта в агроэкосистемы с органическими и минеральными удобрениями (0,256 г/га). Кроме того, количество Cd в почве увеличивается при применении удобрений из осадка хозяйственно-бытовых сточных вод [94;.18-21с].

Воздействие ксенобиотика усиливается при сочетании с другими токсичными веществами и ядохимикатами. При пероральной интоксикации крыс, в течение 12 недель линии Wistar инсектицидами с тяжелыми металлами Pb, Hg и Cd наблюдалось значительное изменение относительной массы и активности коры головного мозга [215; p. 423-432].

Комбинированная интоксикация кроликов, хлористым кадмием (1/20 ЛД₅₀) и диоксином, (1/200 ЛД₅₀) на 30 день вызывала увеличение

количества металла в тех же органах, что и у крыс на 34-58% [23; с.14-16]. А при совместном внутрижелудочном введении $CdCl_2$, диоксида титана, кремния и фуллеренола крысам, в течение 29 суток наблюдалось увеличение содержания Cd в 3445 раз [176; с. 86-93].

Токсический иммунодефицит усиливается при совместном введении с рационом радионуклидов и ТМ. При добавлении в рацион беспородных белых крыс Cd и Pb в концентрации 10 МДУ и ^{137}Cs и ^{90}Sr (1500 и 5000 Бк/кг соответственно) количество Т- и В-клеток снижалось, угнеталась их функциональная активность [46; с. 164-171].

При совместном воздействии Cd и TiO_2 на самцов крыс линии Wistar так же характеризуются иммуносупрессией Т клеточного звена [176; с. 86-93].

При гистологическом исследовании внутренних органов кроликов Валеева А.Р. [22; 158с] выявила более выраженные морфологические изменения внутренних органов у животных, инфицированных *M.bovis* на фоне хронической кадмиевой интоксикации. По мнению автора, хроническая кадмиевая интоксикация усугубляет патогенез туберкулеза у кроликов, выявлены более выраженные изменения показателей лейкоцитарной формулы, которые указывают на тяжесть проходящих в организме кроликов процессов и ослабление неспецифических иммунных реакций, что проявляется в угнетении функциональной активности В-лимфоцитов и гуморального иммунного ответа, и в подавлении выработки Т-лимфоцитов, с усугублением противотуберкулезного клеточного иммунного ответа.

1.2. Влияния пестицидов на организм теплокровных

Пестициды широко используются в сельском хозяйстве как инсектициды, акарициды, дефолианты в борьбе с вредителями хлопчатника, некоторых зерновых, плодовых, овощных и декоративных культур. Многие из них применяются для защиты посевов трав, лесных насаждений, некоторые препараты - в качестве инсектицидов для уничтожения мух, комаров и других насекомых, паразитирующих на животных. Многие

пестициды как в органических растворителях, маслах, жирах, так и в воде [161; с.179]. Это свойство обуславливает легкое проникновение их через различные биологические мембраны, хорошую резорбцию через неповрежденную кожу, гематоэнцефалический барьер. Механизм токсического действия большинства пестицидов определяется, прежде всего, угнетением ряда ферментов, относящихся к эстеразам, Происходящее в связи с этим накопление медиатора нервной системы ацетилхолина приводит к нарушению передачи нервного возбуждения через нервные клетки и ганглионарные синапсы центральной нервной системы [93; с. 159-160].

Характер взаимодействия пестицидов с клеточными элементами в значительной степени зависит от физико-химических свойств, обуславливающих их проникновение через мембраны. В начале молекулы пестицидов адсорбируются на поверхности клеточной мембраны и, если эти молекулы ионной природы, то адсорбция может модифицировать поверхностный заряд мембраны, что неизбежно сказывается на состоянии мембранной проницаемости. При проникновении пестицидов через клеточную мембрану определенную роль играют мембранные белки. Некоторые пестициды реализуют свой эффект непосредственно на уровне мембраны, кроме того, возможно их десорбция внутрь клетки, что приводит к прямому нарушению ионного гомеостаза и внутриклеточного обмена веществ.

Фосфорорганические пестициды – бутифос, паратион, диазинон, хлорофос, карбофос, дисульфотион, тетраэтилпирофосфат, малатион нарушают проведение нервных импульсов в центральных и периферических холинэргических синапсах [239; р. 545-554]. Показано, что пиретроиды действуют на уровне ионных каналов, замедляя кинетику активационных и инактивационных ворот натриевых каналов [194; р.272-279].

Известно, что токсические препараты (в т.ч. и пестициды) приводят к нарушению структуры и функциональных параметров Мх печени крыс [87; с.49-52]. В настоящее время предполагают, что в развитии

патологических состояний участвует Ca^{2+} -регулируемый мегаканал (или ЦсА-чувствительная пора) Мх]. Под влиянием некоторых ксенобиотиков нарушается функция ЦсА-чувствительной, что играет ключевую роль в некрозе и апоптозе [214; p.177-196]. Такие пестициды как токутион, стопп, сонален, болстар, бенифен, бутралин и другие препятствуют открыванию этой поры [12; с. 298], в то время как которан, бутилкаптакс и производные нафтохинона индуцируют ее переход в открытое состояние.

По данным некоторых авторов лишь 0,1% применяемых пестицидов достигает цели, остальная же часть является источником загрязнения окружающей среды, в том числе продуктов животноводства. Вместе с тем отдаленные последствия воздействия ксенобиотиков на организм животных и человека остаются до конца не изученными [2; с.19, 177; с.188].

Инсектициды - это вещества, предназначенные для уничтожения насекомых. Они могут быть менее токсичны для млекопитающих, чем для насекомых, однако все они оказывают определенное токсическое действие. Имеются сообщения, что пестициды могут оказывать мутагенное или канцерогенное и тератогенное действие. Аналогично этому, трихлорфон в очень высоких дозах (400 мг/кг/сут) при введении на 6- 15-й день беременности вызывал пороки развития потомства: каждая доза обуславливала появление холинергических симптомов у крыс [83; с. 67, 85; с.8-12].

Синтетические пиретроиды в условиях “in vitro” эффективно ингибируют активность холинэстеразы лошадиной сыворотки, однако в условиях “in vivo» это действие слабо выражено [131; с. 255-257].

Клиническая картина интоксикации синтетическими пиретроидами у всех видов животных проявляется однотипно и характеризуется выраженной нейротропностью, однако летальные исходы, как правило, отмечаются в первые 24-72 часа [130; с. 62-65].

Известно, что одним из базовых механизмов токсичности ксенобиотиков является индукция ими окислительного стресса. Поддержание

устойчивого состояния окислительно-восстановительного гомеостаза клетки может происходить при действии адаптогенов природного происхождения, которые оказывают влияние, как на клеточные мембраны, так и на ее метаболизм, проявляя антиоксидантную и антигипоксантную активность [115; с.346].

В процессе превращений пестицидов в организме принимают также участие микросомальные ферменты эндоплазматического ретикулума печени. Процессы десульфурации некоторых пестицидов сопровождаются повышением их токсичности [155;с.19].

Пестициды, содержащие в боковой цепи хлорированные углеводороды, оказывают токсическое влияние на печень. Не холинергическое действие пестицидов большое значение имеет при развитии хронической интоксикации [3; с.24].

Симптоматика острых отравлений пестицидами определяется нарушением функции холинергических систем организма. Нарушения центральной нервной системы проявляются головной болью, беспокойством, нарушением сна, психомоторным возбуждением, нарушением статики, речи, координации движений, клонико-тоническими судорогами, сменяющимися параличом, различными нарушениями сознания. Сначала возникает возбуждение, которое затем сменяется угнетением и параличом жизненно важных центров продолговатого мозга, арефлексией и комой [156; с. 264].

По мнению авторов накопление пестицидов в жировой ткани организма может снизить скорость их выведения, однако маловероятно, что значительные количества этих препаратов будут препятствовать гидролитическим процессам потребления и пищеварения и интенсивно накапливаться на высших уровнях пищевой цепи [170; с. 12-15].

Ясно, что ни одну из перечисленных реакций нельзя отделить от общих холинергических эффектов интоксикации пестицидами здоровых животных после затравки [65; с. 47-49]. Но мало опубликовано каких-либо сообщений

об исследованиях действия некоторых пестицидов и тяжелых металлов при раздельном и совместном применении.

Нельзя привести четкую градацию видовой чувствительности к фосфорорганическим пестицидам как к классу. Общая зависимость такова, что с учетом количества соединений мыши, хомячки и морские свинки могут быть более чувствительными, чем крысы; обратная зависимость наблюдается редко. У лабораторных приматов и грызунов полная клиническая реакция отчетливо не прослеживается, хотя морфологические нарушения можно выявить [69; с. 29-33].

Воздействия токсичного паратионметила в количестве, достаточном для угнетения АХЭ крови на 50%, содержание метаболитов в моче будет намного ниже аналогичного показателя идентичных метаболитов после воздействия сходного препарата фенитротиси, токсичность которого меньше примерно в 40 раз [49; с. 202–204].

По мнению Карповой Е.А. [68; с. 12-15] барьерные функции печени задерживаются или изменяются, и выводятся вместе с желчью многие ядовитые вещества эндогенного и экзогенного происхождения печен, способен фиксировать скрытые повреждения, которые проявляются в ближайшие или отдаленные сроки. Новый нанокompозитный препарат селена в экспериментах *invitro* обладает антиоксидантным действием и достоверно снижает негативные эффекты перекисного окисления липидов, усиливает систему антиоксидантной защиты.

С позиции современной токсикологии проведен комплексный анализ механизма морфофункциональных перестроек субклеточных структур печени в динамике после повторного введения бутилкаптакса и дроппа.

Также по Jung J.Y et al. [210; p.85-90] бутилкаптакс и дропп несколько тормозят скорость переноса электронов и окислительное фосфорилирование в митохондриях печени матери и эмбриона. Эти изменения наиболее сильно выражены при отравлении бутилкаптакса на 19-й день беременности. По мнению авторов, введение бутилкаптакса и дроппа на 3, 13 и 19-й дни

беременности вызывает нарушение ультраструктур гепатоцитов и наибольшие изменения отмечаются при отравлении пестицидами на 3 и 19-й дни эмбрионального развития.

При высокой концентрации пестицидов в крови все молекулы переносчика в мембране клетки живого организма будут заняты и процесс переноса, достигнув определенной скорости, вынужден будет ограничиться. Выяснилось, что некоторые ксенобиотики могут повреждать и нарушать транспортные пути выведения токсикантов, что может привести к избирательному накапливанию вредных веществ в определенных тканях живого организма. Знание возможностей защитных систем организма позволяет установить, какие вещества не должны попадать в пищу человека и животных [155; с.19].

Сейчас во всем мире, создаются новые виды кормового белка, новые комбикорма. При этом, однако, не проверяется, какие пестициды содержатся в этих новых продуктах, могут ли с ними справиться системы защиты, не будут ли эти ксенобиотики сами нарушать работу защитных систем [60; с.140-141].

1.3. Клеточные основы влияния тяжелых металлов на организм

Тяжёлые металлы играют двойственную роль в процессах жизнедеятельности микроорганизмов. Некоторые из них – Mo, Cu, Mn, Zn, Ni являются жизненно необходимыми в небольших количествах и ионы металлов входят в состав многих биологически макромолекул (ферментов, гормонов, витаминов, дыхательных пигментов, липидов и т.д.) и являются их необходимой частью, без которой не реализуется их физиологическая функция. Другие – Cd, Pb, Sn, Hg, Ag, Co – не выполняют биологических функций, однако, при высоких концентрациях все эти элементы, за счёт хорошей способности к комплексообразованию, являются чрезвычайно токсичными. Металлы могут влиять на процессы, протекающие в клетке, только проникая внутрь её и фиксируясь на субклеточных мембранах [19; с.30-33].

Среди многих экотоксикантов соли тяжелых металлов широко распространены в окружающей среде и являются агрессивными поллютантами [161; с. 179]. Среди населения, живущего в условиях влияния тяжелых металлов повышается распространенность и интенсивность заболеваний пародонта, зубочелюстных аномалий [90; с. 69-74]. Тяжелые металлы вызывают деструкцию кости путем непосредственного воздействия на кость, опосредованное действие осуществляется через инициацию окислительного стресса.

К чрезвычайно опасным для здоровья химическим веществам относятся: свинец, ртуть, кадмий, кобальт. Их высокая токсичность определяется тем, что они обладают способностью накапливаться в организме, не подвергаться химическому разложению, вмешиваться в метаболические циклы, быстро изменять свое химическое состояние при переходе из одной среды в другую, могут приводить к дефициту эссенциальных элементов, замещая их в металлосодержащих белках [156; с.264].

При остром отравлении соли металлов больше всего накапливались в печени, в кишечнике, далее в легких, почках, мозге, лимфатических узлах, сердце. При хроническом отравлении соли металлов больше накапливались в печени, почках, кишечнике, далее в сердце, мозге, лимфатических узлах, легких [162; с. 61-62].

Показаны высокие уровни накопления солей тяжелых металлов (цинк, медь, железо, кобальт) в органах у лабораторных животных при отравлении острыми и хроническими дозами этих металлов. Негативное влияния солей тяжелых металлов на функциональные системы организма по результатам гематологических и биохимических показателей крови, транскапиллярный обмен белков, резистентность мембран эритроцитов, генотоксический эффект в сравнительном аспекте [163; с. 315-317].

При острой интоксикации солями кобальта обнаружено: лейкоцитоз, эритроцитоз, повышение концентрации гемоглобина в крови; при

хронической: лейкопения, эритроцитоз, повышение концентрации гемоглобина. при интоксикации солями металлов выявлено разрушение мембран эритроцитов крыс. Установлено понижение двигательной и эмоциональной активности лабораторных животных на действие солей металлов в сравнении.

При отравлении солями цинка, меди и железа содержание белка в плазме крови и лимфе понизилось, в моче повысилось, объем плазмы крови увеличился, при отравлении солями кобальта содержание белка в плазме крови понизилось, концентрация белка в лимфе и моче увеличилась, объем плазмы по гематокриту.

По мнению Н.Ю.Русецкой (2014) селеноорганические соединения низкой токсичностью при предварительном введении регоз крысам снижают интоксикацию солями тяжелых металлов, о чем свидетельствуют биохимические, гематологические показатели крови крыс и лейкоцитарные индексы интоксикации [124; с. 261]. Сократительная активность лимфатических узлов при интоксикации металлами угнеталась, о чем свидетельствуют изменения в частотно-амплитудной характеристике спонтанных ритмических сокращений лимфатических узлов. Нарушения были наиболее значительными на соли меди, далее в порядке убывания соли кобальта, цинка, железа.

Присутствие повышенной концентрации тяжелых металлов в волосах, говорит о возможности организма к самоочищению от ксенобиотиков, через кумулирование их в эпидермальной ткани [52; с. 7-14].

Взаимодействие ксенобиотиков с живыми организмами начинается с процессов адсорбции, контакта с клеточными мембранами и переноса через мембраны; в последующем происходят метаболизм, биоаккумуляция или экскреция токсикантов и продуктов их метаболизма. Следует изучить такое опасное явление, как биоконцентрирование – повышение концентрации токсиканта при прохождении через пищевую цепь. Рассмотреть явление синергизма - взаимного усиления действия двух и более токсикантов. Среди

тяжелых металлов особенно опасны для живых организмов кадмий и ртуть. Ежегодный выброс кадмия в атмосферу во всем мире составляет около 8000 тонн, ртути - примерно 40-50 тыс. т. [27; с.173–178, 148; с.183-184].

Прогрессирующие изменения в белковых структурах под воздействием ксенобиотика, позволяют реализовать дизрегуляторную роль ртути в различных биохимических реакциях, но такие изменения носят возвратное действие [2; с. 13-20, 55; с. 117–118], такой путь происходит при поступлении высоких доз ксенобиотика, преимущественно в условиях промышленных катастроф и носит острый характер [192; p. 48-58].

Несмотря на химическую форму, ртуть является одним из сильных клеточных ядов, так как она способна изменять структуру белковых молекул. Ртуть потенциально имеет способность изменить функциональное состояние любой клетки, ткани и органа человека [193; p. 575-583].

Научно-исследовательские труды [198; p.343-351] посвящены изучению механизмов токсического действия ртути на функциональное состояние поджелудочной железы и помогли установить выраженную гипергликемическую направленность патофизиологического действия ртути. Апогеем токсического действия ртути являлось развитие онкопатологии поджелудочной железы.

В научном труде Внуковой В.В. [25; с.36-38] определено, что экспозиция низкими дозами ртути, которые не приводят к клиническим проявлениям интоксикации, воздействуют на процессы липопероксидации, приводя к возникновению стойкого окислительного стресса.

Опасность данных изменений состоит в том, что отсутствие детоксикационных мероприятий в отношении выраженных изменений процессов перекисного окисления липидов, может привести к развитию необратимых патобиохимических изменений [11; с. 35, 225; p. 11066-11074].

Токсическое влияние ртути на эндокринную систему может привести к инкреторной деятельности щитовидной железы, надпочечников, мужских и женских половых желез. Поэтапный каскад механизмов повреждающего

действия ионов ртути на железы внутренней секреции начинается из-за накопления металла в эндокринной ткани, и последующего развития цитотоксических эффектов, переходящих к нарушениям синтеза и секреции гормонов [11; с. 35, 192; р. 48-58].

Гепатотоксическое действие ртути обусловлено способностью ксенобиотика приводить к формированию митохондриальной дисфункции, нарушению обменных процессов и формированию сдвигов в эндокринной регуляции функций. Данные изменения являются следствием формирования окислительного стресса, запуска митохондриального пути апоптоза; изменения функциональной активности рецепторов клеточных ядер с одновременным ингибированием активности киназ (киназы-3 гликогенсинтазы); нарушения деятельности сигнальных путей отвечающих за клеточную дифференцировку (сигнальный путь wnt). Являясь мощным тиоловым ядом, сулема приводит к повреждению белковых структур и ингибированию тиолсодержащих антиоксидантов. Снижение активности ферментов антиоксидантной защиты, приводит к развитию печеночных повреждений, обусловленных развитием окислительного стресса [31; с. 21-27, 210; р.85-90].

В морфологических изменениях структуры печени, в условиях хронического воздействия ртути, было обнаружено, что сулема приводит к формированию выраженных гистологических изменений. Дегенерация клеточных ядер с их сплошной вакуолизацией; фокусный, центродолевой и перипортальный некроз гепатоцитов, а также признаки желчного застоя являлись основными гистопатологическими проявлениями гепатотоксического действия ртути [31; с. 21-27, 225; р. 11066-11074].

Как и другие тяжелые металлы, кобальт в физиологических концентрациях нужен для обеспечения процессов жизнедеятельности организма, но в большом количестве он вреден. Данный металл обладает высокой сенсibiliзирующей активностью и при попадании в организм,

оказывает токсическое влияние на сердечно – сосудистую, дыхательную, кроветворную системы и систему иммунитета [246; p. 212, 238; p. 259-265].

Кобальт. Co^{2+} оказывает существенное влияние на процессы кроветворения, активирует ряд ферментов, усиливает синтез белков, участвует в биосинтезе витамина B_{12} и в образовании инсулина. Однако высокие концентрации кобальта токсичны для организма. Токсичность $CoCl_2$ в высоких концентрациях связывают с процессами окисления тиоловых групп и ОС. В присутствии биологических хелаторов - глутатиона, глицилглицилгистидина и бета-аланил -3-метил-L-гистидина, реакция Co^{2+} с водой приводит к образованию целого спектра реактивных разновидностей кислорода, которые могут быть ответственны за Co^{2+} -вызванное повреждение клетки [15; с. 196].

Лабораторные исследования установили наличие у кобальта способности локально индуцировать секрецию хемокинов. Однако описанные патофизиологические изменения были наиболее выражены в желудочно-кишечном тракте и в легких [200; p. 756-764].

Физиологические дозы кобальта оказывают стимулирующее влияние на эритропоэз, а токсические – угнетают процессы образования красных кровяных клеток в организме человека [23; с. 14-16].

Поступление ионов кадмия в организм приводит к нарушению белковообразовательной функции печени и метаболизма железа, что является одним из факторов развития гипертонической болезни.

Токсическое действие кобальта на щитовидную железу характеризуется снижением её способности аккумулировать в фолликулах ионы йода, приводя к развитию заболевания зоба [56; с. 143-150].

Хроническое воздействие $CoCl_2$ на экспериментальных животных характеризуется серьезным нарушением их сердечной деятельности. Механизм такого эффекта $CoCl_2$ заключается в уменьшении синтеза АТФ, подавлении марганец-супероксид дисмутазы, [52; с. 7-14], ферментов

дыхательной цепи-сукцинат цитохром с редуктазы, НАДН -цитохром с редуктазы и цитохром с оксидазы [82; с. 3-10].

Исследования Ung C.Y. [247; p. 1161-1208] подтвердили, что металлы активизируют сигнальные пути, и канцерогенный эффект металлов был связан с активацией главным образом редокс-чувствительных факторов транскрипции. Механизм токсичности Cd^{2+} , Co^{2+} и других тяжелых металлов заключается в истощении запасов глутатиона и связывающих сульфгидрильных групп белков [24; с. 135-138]. $CoCl_2$ также может вызывать состояние гипоксии, в которых образуются активные формы кислорода.

Было показано, что у позвоночных животных при вызванном марганцем апоптозе не участвует изменение МРТ [224; p. 9505-9510], тогда как другие металлы типа Cd^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} и мышьяк вызывают апоптоз, воздействуя на МРТ [231; p.609-627].

Главный механизм индуцированного $CoCl_2$ апоптоза РС12 клетках, может быть митохондрия - опосредованный путь [172; с. 177-180]. При воздействии $CoCl_2$ на клетки увеличиваются количества проапоптического белка Вах и антиапоптического белка Bcl-2, и это может быть следствием активации митохондрия–опосредованного апоптоза [224; p. 9505-9510].

Аналогичные результаты были получены группой японских ученых [185; p. 849-858], которые изучали влияние $CoCl_2$ на клетках U-937 и макрофагах альвеол человека. Авторы предполагают, что Co^{2+} -вызванный апоптоз может быть одним из механизмов токсичности исследуемого металла. Данные Poncet D. и соавт. [239; p. 545-554] демонстрируют, что пермеабилзация внутренней мембраны Мх является начальным этапом в каскаде апоптоза, индуцированного $CoCl_2$. При этом пермеабилзация внутренней мембраны может сопровождаться потерей МП.

Ионы Co^{2+} являются также активаторами цитохром с -оксидазной и ротеноннечувствительной НАДН - оксидазной системы мембран Мх. Повышение активности этих ферментов зависит от концентрации $CoCl_2$. Ионы Co^{2+} также активируют сукцинатоксидазные системы дыхательной

цепи Мх. В то же время высокие концентрации ионов Co^{2+} ингибируют перенос электронов от сукцината и НАДН до молекулярного кислорода в дыхательной цепи Мх. Co^{2+} почти дозозависимо повышает прирост активности сукцинат-оксидзы экзогенным цитохромом с. Низкие концентрации CoCl_2 также повышают прирост активности НАДН-оксидазы цитохромом с. В то же время с увеличением концентрации ионов Co^{2+} активность ротенон-нечувствительной НАДН-оксидазы цитохромом значительно повышается, а НАДН-оксидазной системы дыхательной цепи вначале растет с очень высокой скоростью, затем уменьшается [7; с. 32-35, 54; с. 104-109, 192; р. 48-58].

В то же время высокие концентрации ионов Co^{2+} ускоряют прирост активности НАДН-оксидазной системы дыхательной цепи. Авторы делают вывод, что присутствие ионов Co^{2+} вызывает значительные изменения в цепи переноса электронов Мх [128; с. 17-20, 192; р. 48-58].

1.4. Влияние кадмия на организм человека и животных

Кадмий - один из самых токсичных тяжелых металлов и поэтому Российским СанПиНом (2015г.) он отнесен ко 2-му классу опасности – «высоко опасных веществ». Некоторые источники даже называют кадмий «наиболее опасным экотоксикантом». Кадмий присутствует в воде в растворенном виде. По данным ВОЗ, в незагрязненных природных водах содержания кадмия составляет существенно меньше 1 мкг/л (порядка 0.02 - 0.3 мкг/л).

Однако в загрязненных районах его концентрация в воде может достигать десятков микрограмм на литр. Существует опасность загрязнения питьевой воды за счет процессов коррозии цинка гальванизированных труб и другой водопроводной арматуры, так как цинк очень часто содержит примеси кадмия. Естественными источниками поступления кадмия в организм служат пища (90-95)%, вода (5-10%) и воздух (примерно 1%).

По данным ВОЗ (2016) суммарное суточное поступление кадмия в организм человека из всех источников составляет 10-50 мкг. Основным и

наиболее "стабильным" источником является пища - в среднем от 10 до 30-40 мкг кадмия в сутки. Овощи, фрукты, мясо животных, рыба содержат обычно 10-20 мкг кадмия на килограмм веса. Однако нет правил без исключений.

Кадмий в организме находится в связанном состоянии - в комплексе с белком-металлотионеином являющимся естественной защитой организма. По последним данным альфа-2 глобулин также связывает кадмий, в таком виде он менее токсичен, хотя и далеко не безвреден. Даже "связанный" кадмий, накапливаясь годами, способен привести к неприятностям со здоровьем, в частности к нарушению работы почек и повышенной вероятности образования почечных камней. К тому же часть кадмия остается в более токсичной ионной форме.

Кадмий является также антагонистом кальция и железа и способен замещать эти элементы, например, кальций в костной ткани. Поэтому недостаток в организме цинка, железа и кальция может привести к 2-3 кратному повышению усвояемости кадмия из желудочно-кишечного тракта (до 15-20%). Острое пищевое отравление кадмием наступает при поступлении больших разовых доз с пищей (15-30 мг) или с водой (13-15 мг). При этом наблюдаются признаки острого гастроэнтерита - рвота, боли и судороги в эпигастральной области. Летальная разовая доза для кадмия не определена, но по оценкам ВОЗ может составлять 350-3500 мг. Данные о канцерогенности кадмия ограничены. В опытах на животных не было зафиксировано возрастание числа опухолей при употреблении кадмия внутрь. Такая тенденция наблюдалась только при вдыхании частиц пыли, содержащих неорганические соединения кадмия [17; с. 194-195].

Несмотря на то, что кадмий не является необходимым элементом для жизнедеятельности млекопитающих, его можно обнаружить во всех тканях животных, в небольших количествах в почках, печени, органах размножения и легких. В то же время кадмий не был обнаружен в поджелудочной железе, аорте, пищеводе. На распределение и связывание кадмия в организме влияют некоторые комплексообразователи. В частности, были проведены

эксперименты по распределению кадмия в печени и почках крыс, где он связывался с белком металлотионеином [237; p. 30-34].

Кадмий попадает в организм различными путями. Но наиболее опасное и быстрое – это адсорбция ионов кадмия из парентеральной инъекции в кровь, которая происходит быстро и полно. В крови ионы кадмия входят в эритроциты и распределяются в плазме. Кадмий связывается с плазменными белками, особенно с α -глобулинами, или легко попадает в другие ткани [167; с. 39-41, 175; с. 64-67].

В регионе, загрязненном кадмием, установлено повышение экспрессии 137 генов и снижение – 80 в клетках крови женщин, корреляция изменения уровня экспрессии с количеством Cd в крови и моче подтверждена опытами на мышцах [235; p. 25-32].

Содержание металла в органах перепелов при введении в рацион 2 мг/кг ионов Cd к 60 сут достигало уровня выше показателя контрольной группы в печени в 9 и в почках - 28 раз [91; с. 52-53].

При ежедневном пероральном введении водного раствора CdCl₂ (23,5 мг/мл) к 7 сут у белых беспородных мышей количество МДА (малоновый диальдегид) увеличивалось в 1,5 раза в мембранах клеток эритроцитов и в 4,5 раза – клеток печени [138; с. 55-57].

Аккумулированный в органах и тканях животных металл вызывает цитолиз или пролиферацию клеточных структур. Степень поражения печени и связанных с ним нарушений белкового обмена зависит от концентрации вводимого металла [44; с.60-61]. Снижаются показатели клеточного дыхания, за счет функциональных нарушений структур митохондрий и накопления металла в них [180; p. 1604-1613].

Ионы Cd воздействуют на миокард, развивается фиброз, увеличивается количество клеток с признаками апоптоза и некроза [245; p. 24]. Интоксикация ацетатом кадмия с питьевой водой (10 мг/л) в течении 30 сут крыс линии Wistar сопровождается увеличением индекса пролиферации клеток предстательной железы [212; p. 988-997].

Присутствие металла негативно влияет на пресинаптические структуры мозга [194; p. 272-279]. Котельникова С.В. с соавторами (2011) установила зависимость токсического воздействия $CdCl_2$ ($1/3$ ЛД₅₀) на тимус, щитовидную железу и селезенку от времени года и пола крыс [79; с 103-109].

Выявлена наибольшая кумуляция кадмия в почках и печени животных, инфицированных *M.bovis* на фоне хронической кадмиевой интоксикации, $44,54 \pm 2,02$ мг/кг и $14,72 \pm 3,5$ мг/кг соответственно [22; с.158].

При попадании кадмия в организм происходит нарушение метаболизма нуклеиновых кислот, кадмий ингибирует ДНК – полимеразу, нарушает синтез ДНК. Большие дозы кадмия разобщают ОФ в Мх печени, вызывают нарушение в мембранах Мх. По - видимому, высокая токсичность кадмия связана с аккумулярованием его в тканях млекопитающих. Кадмий токсичен не только для наземных животных, но и морских. т.к. в морской воде содержится определенное количество соли кадмия, то были исследованы клеточные механизмы токсического действия кадмия у морской водоросли *D.biosculata*. Присутствие кальция в среде снижало токсическое действие кадмия [22; с 158,79; с 103-109].

В труде Shati A.A. [179; p. 153-156, 198; p. 343-351] было дано объяснение, что гепатотоксическое действие кадмия, приводит к формированию значительных изменений в биохимических показателях крови человека.

Увеличение гепатосоматического индекса и наличие выраженных некротических изменений в печени, является основным проявлением влияния высоких доз кадмия [237; p. 30-34].

Прямое воздействия кадмия на структуры печени обуславливает развитие первого механизма токсического действия, связанного со способностью токсиканта взаимодействовать с сульфгидрильными группами молекул белковых структур в митохондриях, приводя к развитию митохондриальной дисфункции [226; p. 37-44].

При попадании Cd^{2+} в организм происходит нарушение метаболизма нуклеиновых кислот. Cd^{2+} ингибирует ДНК-полимеразу, нарушает синтез ДНК. По-видимому, высокая токсичность Cd^{2+} связана с аккумулярованием его в тканях млекопитающих [78; с. 552-554, 183; p.407-413].

При исследовании распределения Cd^{2+} в органеллах гепатоцитов показано, что через два часа после инъекции содержание Cd^{2+} в ядре, Мх и эндоплазматическом ретикулуме, небольшое, а в цитоплазме больше [237; p. 30-34].

Исследование транспорта неорганического Cd^{2+} в энтероцитах кишечника показало, что этот металл переносится в форме свободного иона Cd^{2+} и в этом сложном процессе участвует ко-транспортер $\text{Fe}^{2+}/\text{H}^+$. Относительный вклад этой системы в накоплении Cd^{2+} зависит от степени дифференцирования и изменяется с фенотипом клетки. Например, транспорт Cd^{2+} , а также его токсичность в культуральных клетках печени человека, крысы и рыб отличаются. Механизм транспорта Cd^{2+} до сегодняшнего дня окончательно не установлен. Однако ясно, что в этом процессе участвуют глутатион и транспортные P_1 -АТФазы. Известно, что свободный ион Cd^{2+} накапливается в Мх клетки СаСо-2. Обнаружение реактивных форм O_2 в мембранах Мх было связано с присутствием Cd^{2+} [208; p. 487-499].

При изучении влияния Cd^{2+} на функции изолированных Мх печени показано нарушение функциональных параметров Мх. При этом наблюдали набухание Мх, ингибирование дыхания, выход ионов Ca^{2+} , снижение МП. Присутствие в среде инкубации дитиотреитола в концентрации 2 мМ восстановило функцию Мх почти до уровня контроля. Циклоспорин А в концентрации 1 мкМ не влиял на эффекты Cd^{2+} . Полученные данные указывают на прямой эффект Cd^{2+} на функцию Мх. Как считает автор, токсичность Cd^{2+} может проявляться за счет потери глутатиона, а не в результате увеличения внутренней высокопроницаемой состоянием поры (РТР). Эффект Cd^{2+} на Мх печени, возможно, является начальным этапом Cd^{2+} -вызванной гепатотоксичности [185; p. 849-858].

Известно, что ионы Cd^{2+} способны вызвать апоптоз в различных клетках. На основании полученных результатов Min и соавторы предлагают следующий механизм: Cd^{2+} вызывает апоптоз в клетках U937 посредством двух независимых путей: Ca^{2+} -зависимый путь и каспаз-Мх-зависимый путь [221; p.39702-39709]. Острая Cd^{2+} -вызванная гепатотоксичность вовлекает два пути: первичные нарушения, обусловленные прямыми эффектами Cd^{2+} , и вторичные - последующими изменениями [225; p.11066-11074]. Cd^{2+} -вызванный апоптоз является главным аргументом в устранении поврежденных клеток при остром отравлении Cd^{2+} и это предшествует некрозу [221, p. 39702-39709].

В условиях хронического отравления, кадмий приносит к деструкции печени и повреждению почек, так как обладает выраженным гепатоксическим и нефротоксическим действием [193; p. 575-583, 196; p.12349-12366., 202; p. 79-83].

В работах Wan L. [249; p. 200-212] установлено цитостатическое действие кадмия, обусловленное снижением концентрации кальция в клетках в условиях отравления ксенобиотиком.

В экспериментальном исследовании Гутникова А.Р. и соавт. [32; с. 54-59] было установлено, что наибольшей чувствительностью к токсическому влиянию кадмия обладают митохондрии и эндоплазматическая сеть гепатоцитов. Хроническое воздействие ксенобиотика приводит к формированию структурных изменений в клетках печеночной ткани, что проявляется в виде набухания и изменения формы митохондрий, в появлении признаков их биодеградации. Токсическое действие кадмия способствует развитию тотальной гидропической дистрофии гепатоцитов, местами переходящей в баллонную дистрофию [101; с. 16-20, 218; p.209-214].

Имеются сведения о толерантности к кадмию. У животных, получивших предварительно соединения кадмия, появляется толерантность к летальным дозам. Например, крысы, которым одноразово, подкожно был введен кадмий (2,0 мг/кг) за сутки до введения летальной дозы (3,9 мг/кг)

внутривенно оставались живы. Толерантность к кадмию не связана с уменьшением его адсорбции или изменением распределения в тканях. [71; с. 12-14, 249; p. 200-212].

Морфологические доказательства токсичности кадмия, свидетельствует о взаимодействии его с чувствительными органеллами, и ферментными системами клеток печени, более вероятным следует считать возникновение толерантности в связи с изменением распределения внутри клеток. Показано, что в печени через два часа после инъекции кадмия мало в ядре, Мх и эндоплазматическом ретикулуме, а больше в цитоплазме. [179; p. 153-156, 24; с. 135-138].

По-видимому, вызванное кадмием формирование свободных радикалов вызывает различные модификации ДНК. При пероксидации липидов, происходит взаимодействие радикалов на жирные кислоты в остатках фосфолипидов, могут далее реагировать с металлами, и наконец в итоге проявляет мутагенный эффект [247; p. 1161-1208]. Cd^{2+} связывается с сульфгидрильными группами мембран Мх и инактивирует их. Инактивация тиоловых групп вызывает ОС, пермеабиллизацию мембран и митохондриальную дисфункцию [230; p.110-117].

Ионы кадмия нарушает метаболизм нуклеиновых кислот. Установлено, что ксенобиотик подавляет ген репарации ДНК и замедляет экспрессию мРНК [182; p. 226-232].

Из-за сродства с биметаллами Cd снижает активность металлоферментов, ингибирует активность антиоксидантной системы, приводит к образованию свободных радикалов и усилению процессов перекисного окисления липидов [71; с.12-14].

Мирзоев Э.Б. с соавт. [102; с.16-20, 102; 29-33] в своей работе указывают на активацию синтеза металлотioneинов, увеличение концентрации МДА (малонового диальдегида), как продукта ПОЛ при хронической интоксикации крыс нитратом кадмия, растворенного в питьевой воде в дозе 0,05 и 0,1 мг/л.

Коллектив авторов сообщает, что при экспериментальной хронической интоксикации бычков $CdCl_2$ с рационом в концентрации 0,6 мг/кг и $Pb(NO_3)_2$ – 10 мг/кг (2ПДК) к концу опыта (60 сут) наблюдалось повышение показателей активности ферментов группы аминотрансфераз, щелочной фосфатазы, указывающей на функциональные нарушения клеточных структур печени и ина нарушение белкового обмена, выражающееся в увеличении содержания креатинина и мочевины. Концентрация общего белка в сыворотке крови белых крыс при интоксикации Cd в той же дозе снижается, тогда как количество глобулиновых фракций увеличивается [64; с.26-27].

Подобная картина наблюдается и при субхронической затравке кроликов $CdCl_2$ (1,5 мг/кг с кормом) в течении 30 сут (Софронова С.А., 2008). Кадмий блокирует сульфгидрильные группы белковых и небелковых соединений [142; с.47, 184; р.143-150].

Существует множество научных работ доказывающих, что больше всего металл накапливается в паренхиматозных органах, почках и печени [91;с. 52-53].

Кроме того, на разновозрастных группах зайца-русака доказана статистически значимая зависимость аккумулятивной способности Cd в паренхиматозных органах от возраста животных [228; р. 14058-14068].

1.5. Влияние свинца на организм человека и животных

Свинец - высокотоксичный тяжелый металл, и все его эффекты на биологические системы вредны. Свинцовое загрязнение имеет длительную историю, поскольку человек использовал свинец в течение тысячелетий. Свинец считается главной причиной крушения Римской империи. Антропогенное загрязнение свинцом происходит в результате его добычи, добычи других металлических руд, транспортных выхлопов, производства, использования и хранения продуктов, содержащих свинец. Этот металл попадает непосредственно в атмосферу, воду и почву и циркулируют между ними [135; с. 219–220].

Особую опасность для окружающей среды представляет использование тетракилсвинца как антидетонационной добавки к бензину и свинцовой охотничьей дроби. Свинец попадает в растения путем влажного и сухого отложения на поверхности растений, поглощения через корни. Поглощение свинца растениями ограничено низкой доступностью свинца в грунте. Токсичность ограничивается механизмами хранения и ограниченным перемещением по растениям. Существует целый ряд факторов, которые влияют на поглощение и токсичность свинца. Свинец обычно не аккумулируется в листьях, что ограничивает его перенос на более высокие трофические уровни. Свинец вызывает разнообразные вредные эффекты у растений и животных [37; с. 92].

В экспериментальной работе Berrahal A. A. и соавт. [191; p.68-78] было установлено, что степень выраженности функциональных и морфологических изменений в печени при хроническом воздействии свинца, зависит от возраста организма.

Явная токсическая активность свинца в отношении желудочно-кишечного тракта является причиной формирования функциональных изменений желудка. Также в условиях хронического отравления, эпителий слизистой оболочки желудка активно секретируют ионы свинца, что приводит к блокированию ферментов, необходимых для запуска регенераторных процессов слизистой оболочки, что является развитием атрофических изменений в желудке [16; с. 36-38, 195; p. 421-437].

В условиях хронического отравления, в эпителии слизистой оболочки желудка активно секретируют ионы свинца, что приводит к блокированию ферментов, необходимых для запуска регенераторных процессов слизистой оболочки, следствием чего является развитие атрофических изменений в желудке [51; с. 37-39].

Свинец, тесно взаимодействуя с функциональными группами белковых молекул, понижает активность ферментов, через видоизменение конфигурации их активных центров, приводя к дезорганизации

внутриклеточного транспорта и искажению функций белков, итогом данных изменений является развитие в организме многочисленных патологических процессов [28; с. 23-26].

Главным механизмом токсического воздействия свинца является его способность изменять метаболизм глутатиона, путем блокирования его сульфгидрильных групп [173; с.120].

Свинец может начать отравлять сразу после поступления его в организм. Первая система, которая подвергается мощному деструктивному действию свинца – это система крови. При этом проявляется изменение эластичности мембран эритроцитов и развитие гемолиза, с образованием анемии. В таких условиях, когда возникает «свинцовая анемия», организм компенсаторно активизирует процессы эритропоэза, в итоге в общий кровоток поступают предшественники эритроцитов – ретикулоциты.

Экспериментально выявлено, что в условиях свинцовой интоксикации обнаруживается понижение концентрации в плазме крови данного фермента, который отвечает за метаболизм ксенобиотиков и понижение его токсических воздействий [111; с. 13-16].

Политропность токсического действия свинца обладает способностью попадать во все системы организма. Но главными местами заражения токсического действия токсиканта, являются центральная и периферическая нервная системы, сердечно – сосудистая система, кровеносная система и почки [119; с. 77-79].

Прогрессирующий в условиях хронического отравления «свинцовый полиневрит» относится к клиническим проявлениям поражения нервной системы, проявляется параличом верхних и нижних конечностей. Появляющиеся церебральные нарушения в условиях свинцового отравления отмечаются наличием расстройств речи, а в тяжелых случаях, развитием токсической комы [73; с. 23].

Нейротоксическое действие свинца, поступившего в организм даже в малых концентрациях, заключается в формировании функциональных

расстройств периферической нервной системы, которые проявляются полинейропатией и энцефалопатией [193; p. 575-583].

Несмотря на актуальность проблемы до настоящего времени в литературе остается малоизученным вопрос исследования действия некоторых пестицидов и тяжелых металлов при отдельном и совместном применении на морфо-функциональное состояние различных клеточных структур тканей организма. С этой точки зрения особенно актуальным является изучение механизма действия тяжелых металлов и пестицидов в молекулярном, клеточном и мембранном уровнях.

Таким образом, как тяжелые металлы, так и различные пестициды эффективно поражают механизмы обеспечения и контроля многих важнейших функциональных процессов, накапливаясь в тканях и органах, взаимодействуя с мембранами, изменяя их проницаемость и активность мембраносвязанных процессов и т.д.

Вместе с тем следует отметить, что реальные условия промышленного и сельскохозяйственного производства предполагают одновременное действие на организм нескольких физико-химических факторов, в том числе различных токсических веществ. Однако эта актуальная проблема требует дальнейшей, тщательной разработки.

Глава II. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.

В настоящей главе описаны основные методы и объекты, использованные в работе.

2.1. Оптическая и трансмиссионная электронная микроскопия

Для выявления действия ряда токсикантов на морфометрические параметры клеток печени и на ультраструктуру структурных компонентов гепатоцитов были проведены эксперименты на 144 белых крыс-самцов линии Вистар, массой не менее 120 г. В зависимости от используемых токсических веществ, все животные были разделены на шесть основных групп (табл. 2.1).

При проведении экспериментов основывались на положениях Хельсинкской Декларации Всемирной Медицинской Ассоциации от 1964 г., дополненной в 1975, 1983, 1989, 1996, 2000, 2002, 2004, 2008, 2013 гг.

Забои животных осуществлялись методом мгновенной декапитации в сроки от 3 до 24 часов после введения препаратов или их смеси.

Группа I – контрольная. Крысам контрольной группы металлическим зондом внутрижелудочно вводили дистиллированную воду в объеме 0,5 мл.

Группа II (действие солей тяжелых металлов):

1) раствор $CdSO_4$ в концентрации 5 мг/мл и дозе 0,4 мл/100 г массы животного, однократно, внутрижелудочно;

2) раствор $Pb(CH_3COO)_2$ в концентрации 10 мг/мл и дозе 0,6 мл/100 г массы животного, однократно, внутрижелудочно.

Группа III. (действие пестицидов):

1) бутилкаптакс в дозе 0,13 г/100 г массы животного, однократно, внутрижелудочно;

2) дропп в дозе 0,4 г/100 г массы животного, однократно, внутрижелудочно.

Группа IV. Сочетанное введение солей свинца и кадмия - растворы солей в концентрации по 2 мг/мл и дозе смеси 0,5 мл/100 г массы животного, однократно, внутрижелудочно;

Группа V. Сочетанное введение дроппа и соли свинца;

Группа VI. Сочетанное введение бутилкаптакса и соли свинца.

Перед забоем измеряли массу крыс, затем, после вскрытия брюшной полости, извлекали печень и измеряли массу органа.

Для оптической микроскопии кусочки ткани печени, взятые из правой доли, фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина. После промывки и дегидратации в спиртах возрастающей концентрации, кусочки заливались парафином и готовились срезы толщиной 5-7 мкм, которые окрашивали гематоксилином и эозином. Срезы исследовали морфометрически, с помощью окуляр-микрометра DN-107Т/ Модель NLCD-307В (Novel, Китай) измеряли размеры гепатоцитов, объём ядер гепатоцитов, диаметр центральных вен, диаметр артериолы, венулы и желчного протока в области триады. Также измеряли размеры эпителиальных клеток желчных протоков. Изучали соотношение гепатоцитов с двумя ядрами по отношению к гепатоцитам с одним ядром.

Для трансмиссионной электронной микроскопии (ТЭМ) ткань печени размером не более 1,5x1,5 мм фиксировали в течение 2 часов в 2,5% растворе глутарового альдегида на фосфатном буфере (рН 7,4), с последующей дофиксацией в течение 1 часа в 1 % растворе осмиевой кислоты. После обезвоживания ткани в растворах ацетона возрастающей концентрации, материал заливался в смесь эпон-аралдит.

Полутонкие (1 мкм) и ультратонкие срезы изготавливались на ультрамикротоме «ЛКВ-III» и «Ultracut». Полутонкие срезы окрашивали смесью метиленового синего - фуксина и пиронина G.

Ультратонкие срезы контрастировали уранилацетатом свинца (микропроцессор «Ultra-stainer»), просматривали и фотографировали в электронном трансмиссионном микроскопе «HitachiH-600». Электронную микроскопию провели в лаборатории патоморфологии Республиканского центра хирургии им. В. Вохидова (зав. лаб. д.м.н., проф. И.М. Байбеков).

Полученные при исследовании данные подвергали статистической обработке на ЭВМ на базе процессора «Pentium IV» с помощью пакета

программ Microsoft Office Excel - 2007, включая использование встроенных функций статистической обработки.

При статистической обработке данных исследования, применялся метод вариационной статистики с вычислением средней арифметической изучаемого показателя (m), среднеквадратичного отклонения ($\pm\sigma$), ошибки средней арифметической величины ($\pm m$) и относительной величины (частота %). Статистическая значимость полученных изменений при сравнении средних величин определялась по критерию Стьюдента (t) с вычислением вероятности ошибки (P). Уровень достоверности статистических изменений характера рассматривался как $P < 0,05$.

2.2. Выделение митохондрий

Эксперименты проводились на самцах беспородных белых крыс. Условия содержания и кормления животных соответствовали нормативам. В помещении вивария поддерживалась температура 18-20 °С, влажность воздуха около 65 %, и естественный световой режим солнечного освещения.

Митохондрии (Мх) выделяли методом дифференциального центрифугирования [157; с. 204]. Крыс (самцы массой 120-150 г) забивали декапитацией, извлекали печень и помещали в стаканчик с ледяной средой выделения (СВ), содержащей 250 мМ сахарозы и 10 мМ трис-хлорида (рН 7,4). После охлаждения и определения массы, печень вынимали, подсушивали между листками фильтровальной бумаги и продавливали через специальный пресс, изготовленный из нержавеющей стали. Полученную кашу гомогенизировали в стеклянном гомогенизаторе с тефлоновым пестиком в 7-8-кратном объеме СВ.

Ядра и неразрушенные клетки осаждали центрифугированием гомогената при 6000 g в течении 15 мин. Фракцию Мх получали при центрифугировании супернатанта при 5000g в течении 15 мин. Осадок Мх снова суспендировали в СВ (4-5-ти кратный объем по отношению к исходной массе ткани) и центрифугировали при 5500g 15 мин. Конечный осадок Мх ресуспендировали в СВ из расчета, чтобы 1 мл суспензии содержал 70-100 мг

белка Мх. В течении опыта (4-5 часов) полученная суспензия хранилась в ледяной ванне.

2.3. Измерение окислительного фосфорилирования и транспорта Ca^{2+} в митохондриях

Одним из основных параметров, характеризующих обменные процессы изолированных Мх, является состояние ОФ. Для его измерения наиболее часто используют полярографический метод, обстоятельно изложенный в руководстве [157; с. 204]. Наряду с ОФ в полярографических экспериментах был исследован и транспорт Ca^{2+} .

Скорость окисления субстратов митохондриями измеряли при помощи полярографа LP-7 (производство ЧССР, 1989г) с использованием закрытого платинового электрода типа Кларка при температуре 26 °С. Скорость дыхания в метаболическом состоянии 4 (состоянии покоя) и 3 (дыхание, активированное добавлением АДФ), а также величины дыхательного контроля и АДФ/О определяли по методу Чанса, исходя из того, что количество кислорода в 0,5 мл СИ при 26 С° составляет 250 мкг-атом кислорода. Состав СИ: 120 мМКСI, 5 мМ сукцинат или смесь глутамат/малат по 5 мМ, 10 мМ трис-НСI, 1 мМ фосфат калия, рН 7,1. В случае использования сукцината в качестве субстрата окисления в среду вносили ротенон, для предотвращения накопления щавелевоуксусной кислоты (ЩУК) - конкурентного ингибитора окисления сукцината.

В опытах на полярографе с вращающимся открытым электродом СИ объемом 1 мл содержала 100 мМ сахарозы, 75 мМКСI, 10 мМ сукцината, 10 мМ трис-хлорида (рН=7,4) и 2,5 мМ $\text{KН}_2\text{PО}_4$. Белок Мх в ячейке – 3-4 мг/мл, температура комнатная.

Транспорт Ca^{2+} в митохондриях печени исследовали потенциометрически с использованием Ca^{2+} - селективного электрода, марки ЗМ-Са (Тбилприбор). Установка для регистрации малых сдвигов концентрации Ca^{2+} состояла из электродного блока, закрепленного на штативе магнитной мешалки, рН-метра, к выходу которого подключали

самописец КСП-4. Измерения проводили в стеклянных кюветах из оптического стекла при непрерывном перемешивании среды. СИ объемом 4 мл содержала 125 мМ сахарозу, 60 мМКСI, 10 мМ сукцината и 5 мМ трис-хлорида (рН=7,4). Мх вносили в среду из расчета 2-3 мг белка/мл, Ca^{2+} - в виде добавок, $CaCl_2$ по 200 нмоль, систему калибровали стандартным раствором $CaCl_2$.

2.4. Измерение проницаемости внутренней мембраны митохондрий

Согласно Arnaud Mourier (2010), проницаемость мембран Мх может быть оценена сравнительно просто по кинетике энергонезависимого набухания Мх в различных солевых средах.

В соответствии с этим, при исследовании переноса заряженных частиц внутреннюю мембрану Мх в расчет должны быть приняты электрические явления, сопровождающие эти процессы [186; p. 255-261].

Осмотическое набухание в присутствии электролитов может иметь место в том случае, когда анион и катион проникают в матрикс Мх и при этом увеличение осмотического давления внутри органеллы не сопровождается созданием значительного диффузионного потенциала. Применение ионофоров с известными свойствами, а также возможность варьирования как катионного, так и анионного состава среды дает возможность исследовать проницаемость внутренних мембран для конкретного сорта катионов или анионов, а также влияние на этот процесс различных соединений. Как отмечает Arnaud Mourier (2010), применение этого метода для анализа проницаемости дало результаты, совпадающие в данными, полученными другими методами.

Некоторые анионы, и в первую очередь – использованный нами нитрат, проникают через мембрану за счет энергии химического или электрического градиентов. В среде с нитратом аммония до добавления разобщителя - протонофора отмечается незначительная скорость набухания, которая, очевидно, лимитируется количеством ОН⁻ - в матриксе, и добавление разобщителя создает возможность преодоления этого лимита. Именно

поэтому изоосмотический раствор нитрата аммония используется для оценки протонной проницаемости внутренних мембран Мх, индуцированный соответствующими воздействиями в условиях *in vivo* или *in vitro*. Для исследования проницаемости внутренних мембран Мх для ряда катионов также были использованы растворы их нитратов.

Мх вносили в кювету до исходной оптической плотности 0,7 ед. при 520 нм. Скорость набухания, обусловленную состоянием проницаемости внутренней мембраны выражали в $DE_{520}/\text{мин}$ и ввиду малых значений получаемых величины DE_{520} умножали на 100.

2.5. Методы индукции ПОЛ и определения его продуктов по содержанию малонового диальдегида

Эндогенное ПОЛ гомогената печени крыс индуцировали в СИ, содержащей 145 мМКл, 25 мМ трис-НСл, рН 7,4. Содержание белка составляло 20 мг на 1 мл СИ (100мМ КСл, 10 мМ трис, рН 7,0). Реакцию останавливали 0,2 мл 70 % ТХУК, осадок удаляли центрифугированием в течение 15 минут при 6000-8000 об/мин.

Смешивали 2 мл над осадочной жидкости и 1 мл 0,7 % ТБК. Смесь нагревали при 100 °С в течение 15 минут. Интенсивность окраски измеряли спектрофотометрически при 535 нм. Количество образовавшихся ТБК – активных продуктов определяли пользуясь табличным значением коэффициента молярной экстинкции.

2.6. Определение количества белка

Содержание белка Мх определяли колориметрически по биуретовому методу [202; р. 77-83]. Для разрушения мембран Мх к 0,1 мл в суспензию Мх добавляли 0,9 мл 2 н КОН+10 мг дезоксихолата. После полного растворения белка Мх, добавляли 4 мл биуретового реактива и оставляли при комнатной температуре на 30 мин. Одновременно готовили контрольную пробу (1 мл 2 н КОН+10 мг дезоксихолата + 4 мл биуретового реактива), колориметрировали при 540 нм в кюветах толщиной 10 мм. Содержание

белка Мх определяли по калибровочной кривой, полученной калориметрированием стандартов бычьего сывороточного альбумина.

Таблица № 2.1

Распределение лабораторных животных в зависимости от содержания эксперимента

Название группы	Белые крысы-самцы линии Вистар								Общее число животных
	Группа I	Группа II		Группа III		Группа IV	Группа V	Группа VI	
		CdSO ₄	Pb (CH ₃ COO) ₂	бутилкаптакс	дропп				
Контрольная	6	-	-	-	-	-	-	-	6
Введение дефолианта бутылкаптакса	-	-	-	6	-	-	-	-	6
Введение дефолианта дропп	-	-	-	-	6	-	-	-	6
Введение соли кадмия	-	6	-	-	-	-	-	-	6
Введение соли свинца	-	-	6	-	-	-	-	-	6
Сочетанное введение солей свинца и кадмия	-	-	-	-	-	6	-	-	6
Сочетанное введение дроппа и соли свинца	-	-	-	-	-	-	6	-	6
Сочетанное введение бутылкаптакса и соли свинца	-	-	-	-	-	-	-	6	6
Выделение митохондрий	6	6	6	6	6	6	6	6	48
Методы индукции ПОЛ	6	6	6	6	6	6	6	6	48
Всего крыс-самцов линии Вистар	18	18	18	18	18	18	18	18	144

В работе были использованы соли тяжелых металлов (Н.Н.Степаниченко, лаб.химии природный соединений НУУ им. Мирзо Улугбека) и дефолианты (Г.Г.Галустьян, Институт химии растительных веществ АН РУ).

Все представленные в настоящей работе результаты, полученные на экспериментальных группах животных, обрабатывали статически по Фишеру – Стьюденту.

ГЛАВА 3. МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ СТРУКТУРНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ ПЕЧЕНИ В НОРМЕ, ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ СОЛЕЙ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ И ПЕСТИЦИДОВ.

3.1. Морфометрические параметры структурных элементов печени в норме

Масса крыс контрольной группы варьировалась от 120г до 139,5г, в среднем $-127,6 \pm 3,45$ г.

Масса печени контрольной группы крыс колеблется от 7,2г до 9,1г., в среднем $- 8,45 \pm 0,34$ г. Массовый коэффициент в среднем составляет $- 6,62 \pm 0,18\%$ (таб. №3.1).

Печень снаружи покрыта соединительнотканной капсулой, которая проникая в паренхиму печени, образует дольчатую и балочную структуру. Дольчатый вид хорошо различим, только в области порталных трактов. Как и у человека, у крыс дольки не разделены между собой фиброзными прослойками. Границами долек являются условные линии, проводимые между порталными трактами. В пределах долек относительно правильными рядами размещаются печеночные клетки, гепатоциты, формируя двухрядные радиальные печеночные пластинки. Поперечный размер гепатоцитов (расстояние от центра одного ядра гепатоцитов до центра ядра близлежащего ядра другого гепатоцита) варьируют от 20,0 до 27,0 мкм, в среднем $- 24,3 \pm 0,43$ мкм. Они имеют многоугольную форму с хорошо различимыми границами. Цитоплазма амфотильная, гранулярная. В перинуклеарной зоне и со стороны синусоидального полюса, на фоне сравнительно бледно окрашенной цитоплазмы имеются скопления мелкозернистого базофильного материала, соответствующего зернистой эндоплазматической сети.

Показатели средней площади сечения цитоплазмы гепатоцитов колеблются от $400,0 \text{ мкм}^2$ до $729,0 \text{ мкм}^2$, в среднем $- 590,5 \pm 20,4 \text{ мкм}^2$.

Ядра гепатоцитов расположены центрально, содержат одно или два хорошо различимых ядрышка, варьируют по величине и форме, чаще округлы. Расположены ядра обычно в центре печеночных клеток, но могут

быть смещены на их периферию. Подавляющее большинство гепатоцитов одноядерные, наряду с ними встречаются двуядерные гепатоциты. Перипортальные гепатоциты несколько меньше по размерам, ядра их гиперхромнее, а цитоплазма более базофильна. Количество двуядерных гепатоцитов на 100 гепатоцитов находится в пределах 8-20, в среднем $15,2 \pm 0,74$.

Показатели площади сечения ядер гепатоцитов контрольной группы крыс находятся в пределах от $100,0 \text{ мкм}^2$ до $141,0 \text{ мкм}^2$, в среднем – $118,6 \pm 2,54 \text{ мкм}^2$.

В центре печеночных долек расположены центральные вены, являющиеся начальным звеном печеночных вен (рис. 3.1). Диаметр центральных вен колеблется от $48,0$ до $76,0 \text{ мкм}$, в среднем – $60,55 \pm 1,74 \text{ мкм}$. По периферии долек локализуются портальные тракты, в состав которых входят артерия, вена и желчный проток (рис. 3.2.).

Междольковые вены имеют диаметр от $21,0$ до $35,0 \text{ мкм}$, в среднем – $29,12 \pm 0,868 \text{ мкм}$ (таб. №3.2.) Эти вены отдают множество меньших по диаметру ветвей, которые, в конечном счете, переходя в венулы, распадаются на сети синусоидных капилляров, образующих емкостное лабиринтоподобное микрососудистое русло печеночной дольки. Междольковые артерии большую часть своих ветвей отдают на кровоснабжение желчных протоков, участвуя в формировании перибилиарных сплетений, плотность которых увеличивается по мере возрастания диаметра желчных протоков.

Диаметр междольковых артерий колеблется от $9,8$ до $16,0 \text{ мкм}$, в среднем $13,88 \pm 0,38 \text{ мкм}$. Диаметр междольковых артерий (в 2 раза и более) меньше диаметра междольковых вен. Меньшая часть терминальных артерий, переходя в артериолы, принимает участие в формировании синусоидальных сосудов (капилляров). Они локализуются между печеночными балками (рис. 3.3).

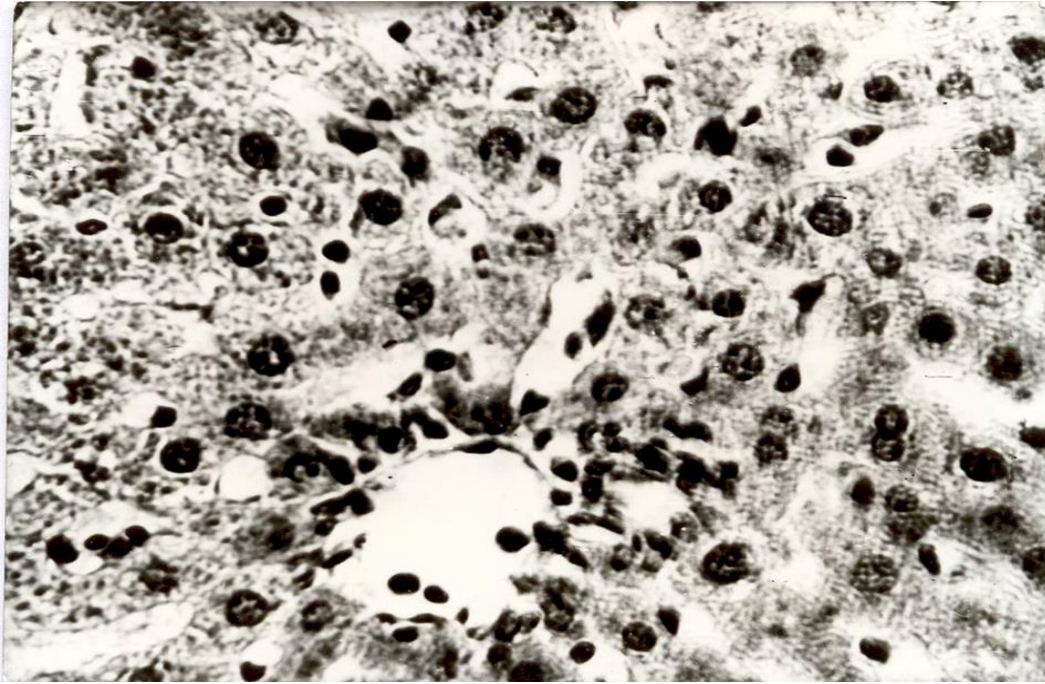


Рисунок 3.1. Ткань печени интактной крысы. Центральная вена печеночной дольки. Световая микроскопия (СМ). Ув.ок7хоб.90

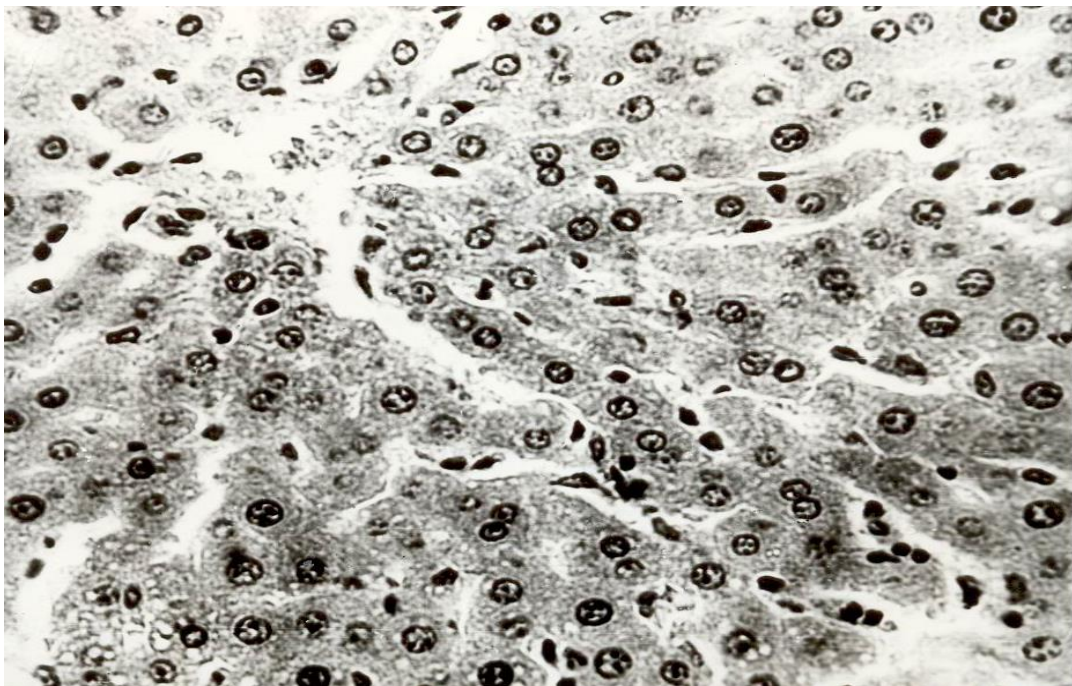


Рисунок 3.2. Ткань печени интактной крысы. Компоненты печеночной триады в портальном тракте. СМ. Ув.ок7х об.40

Синусоидные капилляры ориентированы преимущественно в радиальном направлении к центру долек, где впадают в центральные вены.

Эти гемокапилляры в поперечном сечении имеют размер от 8,0 до 12,0 мкм, в среднем – $10,5 \pm 0,25$ мкм. В балке одна сторона гепатоцита обращена к синусоиду (синусоидный полюс), другая сторона обращена к соседнему гепатоциту, между которыми формируются желчные капилляры (билиарный полюс).

Желчные протоки триады покрыты однослойным кубическим эпителием, высотой от 4 до 6 мкм, в среднем $4,77 \pm 0,17$ мкм. Размер желчных протоков колеблется от 16,0 до 35,0 мкм, в среднем – $22,5 \pm 1,18$ мкм. Паренхима между портальными трактами и центральными венами представлена балками, которые состоят из двух рядов печеночных клеток.



Рисунок 3.3. Ткань печени интактной крысы. Микроскопическое строение синусоидных гемокапилляров, расположенных между печеночными балками. СМ. Ув. ок7х об.40

3.2. Морфометрические параметры структурных элементов печени при воздействии кадмия

Кадмий используется в производстве защитных гальванических покрытий, в электротехнической и атомной промышленности. Соли кадмия в

некоторых странах используется как антигельминтные и антисептические препараты в ветеринарии.

Отравления кадмием в основном связаны с промышленными загрязнениями; накопление кадмий содержащих предметов (батареи, сплавы, краски) загрязняют питьевую воду и воздух. Промышленные фосфатные удобрения и навоз также содержат кадмий. Сигаретный дым – значительный источник загрязнения кадмием: в 20 сигаретах содержится 15-18 мкг кадмия. Еще один источник кадмиевой интоксикации – употребление в пищу продуктов моря.

Кадмий легко образует пары. По размеру иона и заряду кадмий подобен кальцию. Поскольку кадмий завершает ряд переходных элементов, то дополнение его внутренних орбиталей закончено. Число валентных электронов остается постоянным. Кадмий образует устойчивые катионные соли. Диаграмма «рН-потенциал» для кадмия напоминает таковую для цинка, но область устойчивости иона кадмия достигает физиологических значений рН. Кадмий проявляет амфотерность, образует кроме катионных солей еще и анионные кадматы. По своей электронной конфигурации и сродству к органическим лигандам кадмий напоминает цинк. Однако он обладает большим сродством к тиоловым группам и замещает цинк в некоторых металлоферментных комплексах. Желудочно-кишечная абсорбция кадмия низка: для человека она составляет 3-8 %. На нее влияют уровень потребления цинка и растворимость солей кадмия.

Абсорбция ионов кадмия из центров парентеральной инъекции в кровь происходит быстро и полно. В крови ионы кадмия входят в эритроциты и распределяются в плазме. Кадмий связывается с плазменными белками, особенно с альфа-глобулинами, и легко попадает в другие ткани в частности - печень.

При внутренних инъекциях солей кадмия наблюдается быстрое распределение его в тканях и медленное выведение. Абсорбция кадмия через кожу незначительна. После вдыхания кадмиевой пыли или аэрозоля, кадмий

быстро и полностью абсорбируется легкими. Подавляющее большинство промышленных отравлений в основном связано с абсорбцией соединений кадмия из легких у рабочих.

Вдыхание соли кадмия в зависимости от растворимости абсорбируется на 10-40 %. Задержка кадмия наблюдается во всех тканях животных, в наибольшем количестве в почках, печени, органах размножения и легких. В то же время кадмий не обнаружен в поджелудочной железе, аорте, пищеводе.

У млекопитающих экскреция кадмия осуществляется медленно в основном с фекалиями, но отмечается и незначительное выделение его почками. Не абсорбированный кадмий (80%) при пероральном введении, выделяется в течение 5 дней с фекалиями.

Выделение кадмия значительно возрастает при обработке различными хелатирующими агентами. Однако хелатотерапия эффективна лишь при немедленном применении. По различным данным, хелатотерапия эффективна в период от 30 минут до 2 часов. Липофильные агенты могут, увеличит продолжительность эффективного действия антидота до 3 часов после инъекции кадмия. При этом возрастает желчная экскреция кадмия.

Причиной неэффективности хелатирующих агентов через большой интервал времени после инъекции кадмия может быть образование прочных металлотионеиновых комплексов кадмия.

Кадмий имеет большое сродство к нуклеиновым кислотам, вызывая нарушение и метоболизм. Он ингибирует ДНК- полимеразы, нарушает синтез ДНК. Высокие дозы кадмия разобщают ОФ в Мх печени, ингибирует биотрансформацию ксенобиотиков. Патогенез отравления кадмием включает так же взаимодействие кадмия с высокомолекулярными белками, особенно тиолосодержащими ферментами. Острое отравление кадмием вызывает избыточное деление и пузырьчатое расширение гладкого эндоплазматического ретикулума, изменение в мембранах Мх, увеличение числа лизосом. По-видимому, высокая токсичность кадмия связана с аккумулярованием его в тканях млекопитающих в виду отсутствия

гомеостатического механизма регулирования содержания. Тем не менее имеются сведения и толерантности к кадмию.

Проведенное нами исследование морфологии ткани печени после введения животным соли кадмия через 3 часа общая структура ее не подвержена дисконформации.

Масса крыс колеблется от 120г до 140,0г, в среднем $128,0 \pm 3,54$ г.

Масса печени у лабораторных животных этой группы варьируется от 7,4г до 9,7г., в среднем – $8,90 \pm 0,41$ г. Массовый коэффициент в среднем составляет $6,95 \pm 0,27\%$.

Поперечный размер гепатоцитов (расстояние от центра одного ядра гепатоцитов до центра ядра близлежащего ядра другого гепатоцита) варьируется от 19,0 до 29,0 мкм, в среднем – $26,0 \pm 1,15$ мкм. Гепатоциты имеют многоугольную форму с хорошо различимыми границами. Цитоплазма амфифильная, гранулярная. В перинуклеарной зоне и со стороны синусоидального полюса на фоне сравнительно бледно окрашенной цитоплазмы имеются скопления мелкозернистого базофильного материала, соответствующего зернистой эндоплазматической сети. В основном встречаются одноядерные гепатоциты, наряду с ними встречаются двуядерные гепатоциты. Количество двуядерных гепатоцитов на 100 гепатоцитов находится в пределах 8-22, в среднем $16,1 \pm 0,87$.

Показатели средней площади сечения цитоплазмы гепатоцитов колеблется от $440,0 \text{ мкм}^2$ до $750,0 \text{ мкм}^2$, в среднем – $620,5 \pm 19,22 \text{ мкм}^2$.

Ядра гепатоцитов расположены обычно в центре печеночных клеток, но могут быть смещены на их периферию. Показатели площади сечения ядер гепатоцитов контрольной группы крыс находятся в пределах от $100,0 \text{ мкм}^2$ до $148,0 \text{ мкм}^2$, в среднем – $120,4 \pm 2,98 \text{ мкм}^2$.

В центре печеночных долек расположены центральные вены, являющиеся начальным звеном печеночных вен. Диаметр центральных вен колеблется от 48,0 до 80,0 мкм, в среднем – $64,1 \pm 1,98$ мкм. По периферии

печеночных долек располагается портальная триада, в состав которой входит артерия, вена и желчный проток.

Междольковые вены имеют диаметр от 21,0 до 35,0 мкм, в среднем – $28,5 \pm 0,87$ мкм (таб. №3.2). Эти вены разветвляются на множество меньших по диаметру ветвей, которые, в конечном счете, переходят на синусоидные капилляры. Междольковые артерии большую часть своих ветвей отдают на кровоснабжение желчных протоков, участвуя в формировании перибилиарных сплетений, плотность которых увеличивается по мере возрастания диаметра желчных протоков.

Диаметр междольковых артерий колеблется от 10,0 до 20,0 мкм, в среднем $14,1 \pm 0,62$ мкм. Меньшая часть терминальных артерий, переходя в артериолы, принимает участие в формировании синусоидальных капилляров.

Желчные протоки триады, как у печени интактных крыс, покрыты однослойным кубическим эпителием, высотой от 4 до 6 мкм, в среднем $4,65 \pm 0,16$ мкм. Размер желчных протоков колеблется от 16,0 до 36 мкм, в среднем- $23,2 \pm 1,24$ мкм.

Синусоидные капилляры ориентированы преимущественно в радиальном направлении к центру долек, где впадают в центральные вены. Синусоидные капилляры находятся в состоянии полнокровия. Диаметр этих гемокапилляров в поперечном сечении имеют размер от 8,0 до 16,0 мкм, в среднем – $12,4 \pm 0,49$ мкм(таб. №3.2).

При введения животным соли кадмия через 24 часа морфометрические параметры печеночных структур изменяются следующим образом:

Масса крыс варьируется от 120г до 138,0г, в среднем - $127,9 \pm 3,19$ г.

Масса печени у лабораторных животных этой группы колеблется от 7,1г до 9,4г., в среднем – $8,6 \pm 0,41$ г. Массовый коэффициент в среднем составляет $-6,72 \pm 0,27\%$.

Поперечный размер гепатоцитов варьируется от 19,0 до 28,0 мкм, в среднем - $25,4 \pm 0,56$ мкм. Гепатоциты имеют многоугольную форму с хорошо различимыми границами. В основном встречаются одноядерные гепатоциты,

наряду с ними встречаются двуядерные гепатоциты. Количество двуядерных гепатоцитов на 100 гепатоцитов находится в пределах 10-22, в среднем $16,4 \pm 0,74$.

Показатели средней площади сечения цитоплазмы гепатоцитов варьируются от $400,0 \text{ мкм}^2$ до $740,0 \text{ мкм}^2$, в среднем – $610,6 \pm 21,08 \text{ мкм}^2$.

Ядра гепатоцитов расположены обычно в центре печеночных клеток, но могут быть смещены на их периферию (рис.3.4.). Показатели площади сечения ядер гепатоцитов контрольной группы крыс находятся в пределах от $100,0 \text{ мкм}^2$ до $148,0 \text{ мкм}^2$, в среднем – $120,5 \pm 2,98 \text{ мкм}^2$ (таб. №3.1).

В центре печеночных долек расположены центральные вены, являющиеся начальным звеном печеночных вен. Диаметр центральных вен колеблется от 48,0 до 80,0 мкм, в среднем- $62,0 \pm 1,98$ мкм. По периферии печеночных долек располагается портальная триада, в состав которой входит артерия, вена и желчный проток.

Междольковые вены имеют диаметр от 21,0 до 33,0 мкм, в среднем – $28,6 \pm 0,74 \text{ мкм}$. Эти вены делятся на множество меньших по диаметру ветвей, которые, в конечном счете, переходят на синусоидные капилляры. Междольковые артерии большую часть своих ветвей отдают на кровоснабжение желчных протоков, участвуя в формировании перибилиарных сплетений, плотность которых увеличивается по мере возрастания диаметра желчных протоков.

Диаметр междольковых артерий колеблется от 10,0 до 20,0 мкм, в среднем $14,0 \pm 0,62$ мкм. Меньшая часть терминальных артерий, переходя в артериолы, принимает участие в формировании синусоидальных капилляров.

Желчные протоки триады, как у печени интактных крыс, покрыты однослойным кубическим эпителием, высотой от 4 до 6 мкм, в среднем $4,72 \pm 0,16$ мкм. Размер желчных протоков колеблется от 16,0 до 36 мкм, в среднем- $23,2 \pm 1,24 \text{ мкм}$.

Синусоидные капилляры ориентированы преимущественно в радиальном направлении к центру долек, где впадают в центральные вены. Синусоидные капилляры находятся в состоянии полнокровия. Диаметр этих гемокапилляров в поперечном сечении имеет размер от 8,0 до 16,0 мкм, в среднем – $12,1 \pm 0,49$ мкм.

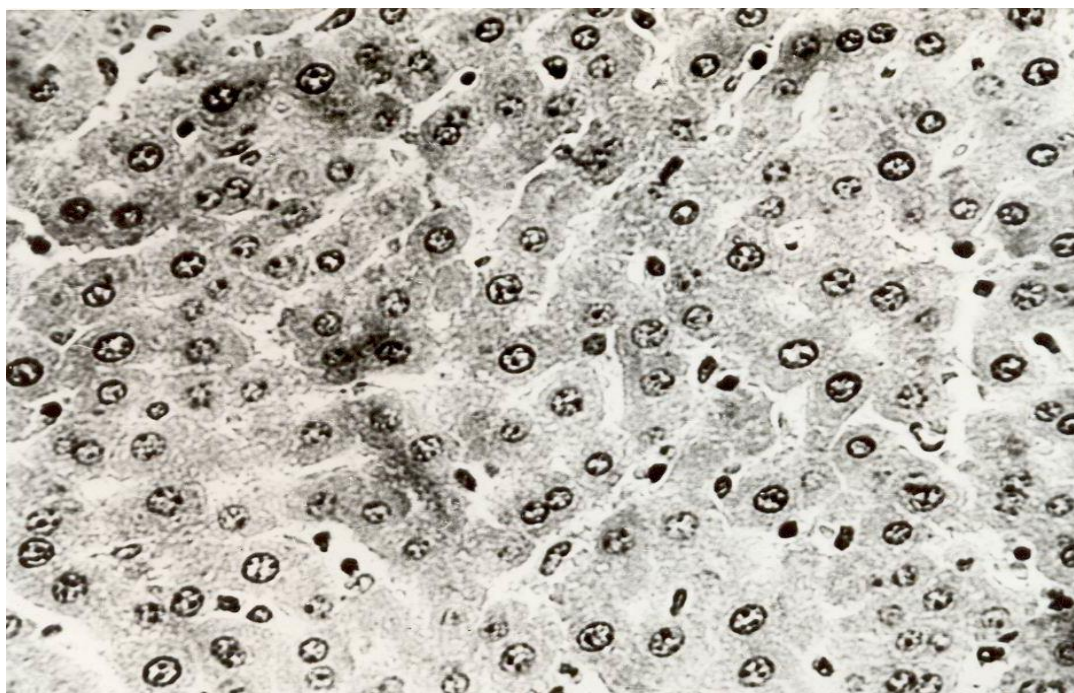


Рисунок 3.4 .Ткань печени крыс через 24 часа после введения соли кадмия. Архитектоника печеночных балок нормализована. СМ. Ув. ок7х об.40

Таким образом, при введении животным солей кадмия, печень отвечает с незначительными изменениями морфометрических параметров гепатоцитов, их ядер, а также размеров диаметра внутрипеченочных сосудов, особенно синусоидных гемокапилляров. В ранние сроки эксперимента (через 3 часа) реакция морфометрических параметров структурных элементов печени более выражена, по сравнению с поздним сроком, (24 часа), кроме увеличения числа двуядерных гепатоцитов.

3.3. Морфометрические параметры структурных элементов печени при введении соли свинца

Поступление свинца в организм с пищей составляет 200-300 мкг/сутки, оно зависит от возраста, поля, места проживания, профессии.

Всасывание этого металла происходит на всем дыхательном пути и, особенно эффективно, в бронхиолах и альвеолах. Элементарный свинец и его соединения попадают в организм обычно в виде пыли. На некоторых производствах в воздухе рабочей зоны могут присутствовать пары свинца. При охлаждении пары конденсируются, окисляются и превращаются в высокодисперсную пыль. Следовательно, в конечном счете, рабочий подвергается воздействию мельчайшей пыли твердого металла и его окиси.

При ингаляции паров свинца скорость его всасывания в кровь зависит от различных факторов. Особенно важны химическая форма соединений и размеры частиц, осевших в легких. Есть основания считать, что в легких свинец не накапливается. Соединения свинца всасывается в кровь или переносятся в желудочно-кишечный тракт с помощью эпителиального транспорта.

Большое значение, в промышленных условиях, имеет поступление свинца в организм человека, через пищеварительных тракт. Такое поступление может быть при заглатывании пыли во время приема пищи, при курении в цеху и тому подобное. При пероральном поступлении соединений свинца из желудочно – кишечного тракта всасывается около 10 % введенного свинца. Абсорбция свинца при поступлении нерастворимых солей – сульфатов, сульфитов, хроматов – очень мала. Несколько большее количество свинца всасывается при попадании в кишечник хорошо растворимых ацетата и нитрата. Желудочно-кишечная абсорбция свинца повышается при недостаточности содержания в пище кальция и железа, избытка витамина D. Существуют разные мнения на токсичность свинца через неповрежденную кожу. Однако этот вопрос представляет собой в

значительной степени теоретический интерес, т.к. в производстве данный путь интоксикации практически не встречается.

При парентеральной инъекции растворимых солей абсорбция свинца происходит не полностью, часть его задерживается в местах выведения. При внутривенном выведении свинца, вернее его соединений, большая часть его связывается с эритроцитами, около 5 % остается с белками и органическими кислотами.

Всосавшийся через эпителий дыхательных путей и легких свинец быстро попадает в общий ток крови, где циркулирует в виде альбуминатов и фосфатов как в одном, так и в коллоидальном растворе.

Физиологическая норма свинца в разных тканях и органах взрослого человека имеет следующие значения (в мкм/л): в легких-0,19, в печени – 0,84, в мышцах-0,29, в мозге 0,49, в почках – 0,52, в крови 1,3, в коже 1,5, в костях – 5. Концентрация свинца в костях на 1-2 порядка выше, чем в других органах, что указывает на остеотропность данного элемента.

Свинец обладает выраженным кумулятивным действием, циркулируя в организме он откладывается в виде нерастворимого трехосновного фосфорнокислого свинца, главным образом это происходит в трабекулах костей, печени, почках. В меньших количествах свинец депонируется в головном мозге, лимфатических узлах и других органах. В мышечные клетки свинец поступает в виде растворимого лактата, свинца, образующегося в результате соединения фосфата свинца с молочной кислотой, которая синтезируется в процессе работы мышц. В мышечной ткани лактат свинца присоединяется к фосфору и в таком виде накапливается. Поступая в кости свинец связывается с известковыми солями. Под влиянием тех или иных неблагоприятных факторов (алкоголизм, инфекция, травма) нерастворимое соединение может перейти в растворимую форму. При этом свинец вновь начинает поступать в кровь, вызывая тем самым, обострение процесса.

Выделение свинца из организма происходит постепенно, в течение нескольких месяцев, а то и лет. Свинец может выводиться через кишечник,

потовые железы, грудное молоко. Однако, основным путем выведения у человека является выведение через почки. Механизм почечной экскреции – клубочковая фильтрация.

При действии на организм свинец поражает нервную систему, органов кроветворения, печени, почки, сердечно-сосудистую систему, желудочно-кишечный тракт.

В механизме развития свинцового отравления главную роль играет центральная нервная система. Первыми клиническими признаками свинцовой интоксикации являются признаки поражения нервной системы – например, нарушение равновесия, нарушение нормального соотношения процессов возбуждения и торможения. В начале, в коре головного мозга преобладают процессы возбуждения, несколько позже торможения, которое носит охранительный характер. При дальнейшей интоксикации выявляется слабость нервной системы, возникает повышение истощения коры, и торможение распространяется на нижележащие отделы, в том числе вегетативные центры подкорковой области.

Патологическое действие свинца на организм связано с изменением обменных процессов. Развивается дефицит некоторых витаминов (С, В, никотиновой кислоты), нарушается белковый обмен. При этом начинают преобладать процессы диссимиляции над процессами ассимиляции, снижается количество серосодержащих аминокислот. В период свинцовой колики наблюдаются изменения углеводного и фосфорного обмена. При хроническом свинцовом отравлении нарушается иммунологическая активность организма. При экспериментальном свинцовом отравлении снижается фагоцитарная активность лейкоцитов.

В основе патологоанатомических изменений, наблюдаемых при экспериментальном свинцовом отравлении, лежат, в первую очередь поражения нервной ткани, кровеносных сосудов, костного мозга, клеток передних рогов спинного мозга.

В костном мозге происходит замещение жирового костного мозга. В ретикуло – эндотелиальных элементах костного мозга и селезенки отмечается отложение гемосидерина. В миокарде обнаруживаются мелкие кровоизлияния. В желудочно-кишечном тракте обнаруживаются выраженные катаральные изменения слизистых оболочек, иногда мелкие кровоизлияния и стазы.

Выведение свинца из организма имеет практически двухфазный характер. Время полувыведения из крови и мягких тканей составляет 20 дней, из скелета – 20 лет.

Токсико-метрические характеристики соединений свинца для человека мало изучены. При инъекции крысам раствора ацетата свинца, внутрижелудочные и внутривенные, среднетоксические дозы примерно одинаковы и равны 1,45 мг/кг, т.е. острая токсичность свинца велика. Однако эти данные, полученные на животных, не отражают нейротоксического действия свинца, а также влияния различных факторов. Механизмы токсичности свинца подробно исследованы на клеточном и субклеточном уровнях. Одним из известных симптомов хронического отравления свинцом является анемия. На ранних стадиях увеличивается доля молодых эритроцитов. Позже снижается содержания гемоглобина в крови. В крови повышается уровень порфиринов, особенно копропорфирина. Свинец ингибирует в костном мозге ряд ферментов, определяющих синтез гема. На молекулярном уровне ионы свинца связывают сульфидные группы, что приводит к инактивации серосодержащих ферментов, а также снижает концентрацию восстановленного глутатиона. Это, в свою очередь, приводит к различным аномалиям функционирования клеток.

На субклеточном уровне свинец индуцирует повреждения, степень которых определяется распределением их по различным органеллам. Согласно наиболее общепринятой модели, считается, что 85 % свинца связаны с митохондриями, 5 % находится в эндоплазматической сети, лизосомах и ядре, 8 % связан с цитозолем. Определенное его количество

содержится также в клеточной мембране. Он изменяет ее проницаемость, блокирует активные центры – насосы. Кроме этого, ионы свинца связываются с сульфгидрильными, фосфатными, карбоксильными группами мембран, увеличивают ее жесткость к осмотическому шоку.

Изучение эпителиальных клеток показало, что один из основных путей накопления свинца в клетки – образованные внутриядерных включений. Одной из функций этих структур является, по - видимому, защита чувствительных белков от токсического действия свинца. В цитозоле имеются белки, который инициируют образование включений свинца, конкурирующее с первичным эффектом, его воздействия на эпителиальные клетки. Связывание свинца митохондриальными мембранами зависит от дозы и приводит к деэнергизации.

Аналогичные аномальные изменения эпителиальных клеток желудочно-кишечного тракта, очевидно вызывают желудочно-кишечный синдром свинцовой интоксикации. Воздействие свинца на клетки костного мозга вызывает их морфологические изменения, в результате которых увеличивается продукция аномальных эритроцитов.

Депонирование свинца в костях зависит в значительной мере от функционирования клеток костной ткани – остеокластов и остеобластов. В связи с этим изучено воздействие соединений, меченных радиоактивным свинцом, на культуры этих клеток *in vitro*. Установлено, что при 6,5-65 мкмоль/л ацетата свинца остеокласты быстрее и в больших количествах, чем остеобласты, абсорбируют свинец из питательной среды. В течении 2 часов остеокласты высвобождают до 30 % свинца в среду. Интересно, что скорость абсорбции кальция остеокластами возрастает линейно с увеличением концентрации свинца в среде. Из этих данных можно сделать вывод, что остеокласты определяют взаимодействие свинца с костной тканью и могут в значительной степени влиять на метаболизм кальция в организм. В связи с вышеизложенным нами было исследовано влияние однократного выведения

животным соли свинца на морфологический статус гепатоцитов крыс через 3 и 24 часа после интоксикации.

Однократное введение крысам ацетата свинца – $Pb(CH_3COO)_2$ через 3 часа приводит к определенным патологическим изменениям в структуре органов.

Масса крыс варьировалась от 120г до 140,0г, в среднем $-127,9 \pm 3,54$ г.

Масса печени у лабораторных животных этой группы колеблется от 7,3г до 9,9г., в среднем $-9,1 \pm 0,49$ г. Массовый коэффициент в среднем составляет $-7,1 \pm 0,35\%$.

Поперечный размер гепатоцитов (расстояние от центра одного ядра гепатоцитов до центра ядра близлежащего ядра другого гепатоцита) варьирует от 21,0 до 29,0 мкм, в среднем $-26,5 \pm 0,49$ мкм. Гепатоциты имеют многоугольную форму с хорошо различимыми границами. Цитоплазма амфофильная, гранулярная. В основном встречаются одноядерные гепатоциты, наряду с ними встречаются двуядерные гепатоциты. Количество двуядерных гепатоцитов на 100 гепатоцитов находится в пределах 10-22, в среднем $16,4 \pm 0,74$.

Показатели средней площади сечения цитоплазмы гепатоцитов колеблются от $440,0 \text{ мкм}^2$ до $780,0 \text{ мкм}^2$, в среднем $-63,04 \pm 21,08 \text{ мкм}^2$.

Ядра гепатоцитов расположены обычно в центре печеночных клеток, но могут быть смещены на их периферию. Показатели площади сечения ядер гепатоцитов контрольной группы крыс находятся в пределах от $100,0 \text{ мкм}^2$ до $148,0 \text{ мкм}^2$, в среднем $-122,5 \pm 2,98 \text{ мкм}^2$.

В центре печеночных долек расположены центральные вены, являющиеся начальным звеном печеночных вен. Диаметр центральных вен колеблется от 48,0 до 84,0 мкм, в среднем $-68,1 \pm 2,23$ мкм. По периферии печеночных долек располагается портальная триада, в состав которой входит артерия, вена и желчный проток.

Междольковые вены имеют диаметр от 21,0 до 36,0 мкм, в среднем $-29,7 \pm 0,93$ мкм. Эти вены делятся на множество меньших по диаметру ветвей,

которые, в конечном счете, переходят на синусоидные капилляры. Междольковые артерии большую часть своих ветвей отдают на кровоснабжение желчных протоков, участвуя в формировании перибилиарных сплетений, плотность которых увеличивается по мере возрастания диаметра желчных протоков.

Диаметр междольковых артерий колеблется от 10,0 до 20,0 мкм, в среднем $14,3 \pm 0,62$ мкм. Меньшая часть терминальных артерий, переходя в артериолы, принимает участие в формировании синусоидальных капилляров.

Желчные протоки триады как у печени интактных крыс, покрыты однослойным кубическим эпителием, высотой от 4 до 6 мкм, в среднем $4,69 \pm 0,16$ мкм. Размер желчных протоков колеблется от 16,0 до 36 мкм, в среднем - $23,0 \pm 1,24$ мкм.

Синусоидные капилляры ориентированы преимущественно в радиальном направлении к центру долек, где впадают в центральные вены. Синусоидные капилляры находятся в состоянии полнокровия. Диаметр этих гемокапилляров в поперечном сечении имеет размер от 8,0 до 20,0 мкм, в среднем – $13,2 \pm 0,74$ мкм.

Светооптически балочное строение паренхимы сохранено. Размер гепатоцитов колеблется от 21 до 29 мкм, в среднем – $26,5 \pm 0,49$ мкм. Они имеют многоугольную форму с хорошо различимыми границами. Ядра гепатоцитов расположены центрально, но встречаются экстрокентрично расположенные ядра. В основном встречаются одноядерные и двуядерные гепатоциты. Количество двуядерных гепатоцитов на 100 гепатоцитов находится в пределах 10-22, в среднем $16,5 \pm 0,74$.

Диаметр центральных вен колеблется от 48,0 до 84,0 мкм, в среднем $68,1 \pm 2,23$ мкм. По периферии долек локализуются портальные тракты, в состав которых входит артерия, вена и желчный проток. Наблюдается умеренное полнокровие синусоидных капилляров, причем на всем протяжении от центральных вен до портальных трактов.

Междольковые вены имеют диаметр от 21,0 до 36,0 мкм, в среднем $29,7 \pm 0,93$ мкм. Эти вены делятся на множество меньших по диаметру ветвей, которые, в конечном счете, переходя в венулы, распадаются на сети синусоидных капилляров.

Диаметр междольковых артериол колеблется от 10 до 20 мкм, в среднем $14,3 \pm 0,62$ мкм. Меньшая часть терминальных артерий, переходя в артериолы, принимает участие в формировании синусоидальных капилляров.

Желчные протоки триады покрыты однослойным кубическим эпителием, высотой от 4 до 6 мкм, в среднем $4,7 \pm 0,15$ мкм. Размер желчных протоков колеблется от 16,0 до 36,0 мкм, в среднем - $23,0 \pm 1,24$ мкм.

Синусоидные капилляры ориентированы преимущественно в радиальном направлении к центру долек, где впадают в центральные вены. Синусоидные капилляры находятся в состоянии полнокровия. Диаметр этих гемокапилляров имеют размер от 8 до 20 мкм, в среднем – $13,2 \pm 0,74$ мкм.

При однократного введении крысам соли свинца внутрижелудочно, через 24 часа наблюдались следующие морфометрические изменения:

Масса крыс варьировалась от 120г до 140,0г, в среднем - $128,0 \pm 3,54$ г.

Масса печени у лабораторных животных этой группы колебалась от 7,2г до 9,9г., в среднем – $8,90 \pm 0,48$ г. Массовый коэффициент в среднем составлял - $6,95 \pm 0,35\%$.

Поперечный размер гепатоцитов (расстояние от центра одного ядра гепатоцитов до центра ядра близлежащего ядра другого гепатоцита) варьирует от 22,0 до 29,0 мкм, в среднем – $26,2 \pm 0,43$ мкм. Гепатоциты имеют многоугольную форму с хорошо различимыми границами. Цитоплазма амфофильная, гранулярная. В основном встречаются одноядерные гепатоциты, наряду с ними встречаются двуядерные гепатоциты. Количество двуядерных гепатоцитов на 100 гепатоцитов находится в пределах 10-24, в среднем $16,2 \pm 0,87$.

Показатели средней площади сечения цитоплазмы гепатоцитов колеблются от $440,0 \text{ мкм}^2$ до $780,0 \text{ мкм}^2$, в среднем – $627,2 \pm 21,08 \text{ мкм}^2$.

Ядра гепатоцитов расположены обычно в центре печеночных клеток, но могут быть смещены на их периферию. Показатели площади сечения ядер гепатоцитов контрольной группы крыс находятся в пределах от 100,0 мкм² до 148,0 мкм², в среднем – 120,7±2,98 мкм².

В центре печеночных долек расположены центральные вены, являющиеся начальным звеном печеночных вен. Диаметр центральных вен колеблется от 48,0 до 80,0 мкм, в среднем- 63,6±1,98 мкм (рис.3.6.).

По периферии печеночных долек располагается портальная триада, в состав которой входит артерия, вена и желчный проток.

Междольковые вены имеют диаметр от 21,0 до 33,0 мкм, в среднем – 28,9±0,74 мкм. Эти вены делятся на множество меньших по диаметру ветвей, которые, в конечном счете, переходят на синусоидные капилляры. Междольковые артерии большую часть своих ветвей отдают на кровоснабжение желчных протоков, участвуя в формировании перибилиарных сплетений, плотность которых увеличивается по мере возрастания диаметра желчных протоков.

Диаметр междольковых артерий колеблется от 10,0 до 20,0 мкм, в среднем 14,1±0,62 мкм. Меньшая часть терминальных артерий, переходя в артериолы, принимает участие в формировании синусоидальных капилляров(рис.3.5).

Желчные протоки триады как у печени интактных крыс, покрыты однослойным кубическим эпителием, высотой от 4 до 6 мкм, в среднем 4,71±0,16 мкм. Размер желчных протоков колеблется от 16,0 до 36 мкм, в среднем- 23,0±1,24 мкм.

Синусоидные капилляры ориентированы преимущественно в радиальном направлении к центру долек, где впадают в центральные вены. Синусоидные капилляры находятся в состоянии полнокровия (рис.3.7).

Диаметр этих гемокапилляров в поперечном сечении имеет размер от 8,0 до 20,0 мкм, в среднем – 13,0±0,74 мкм.

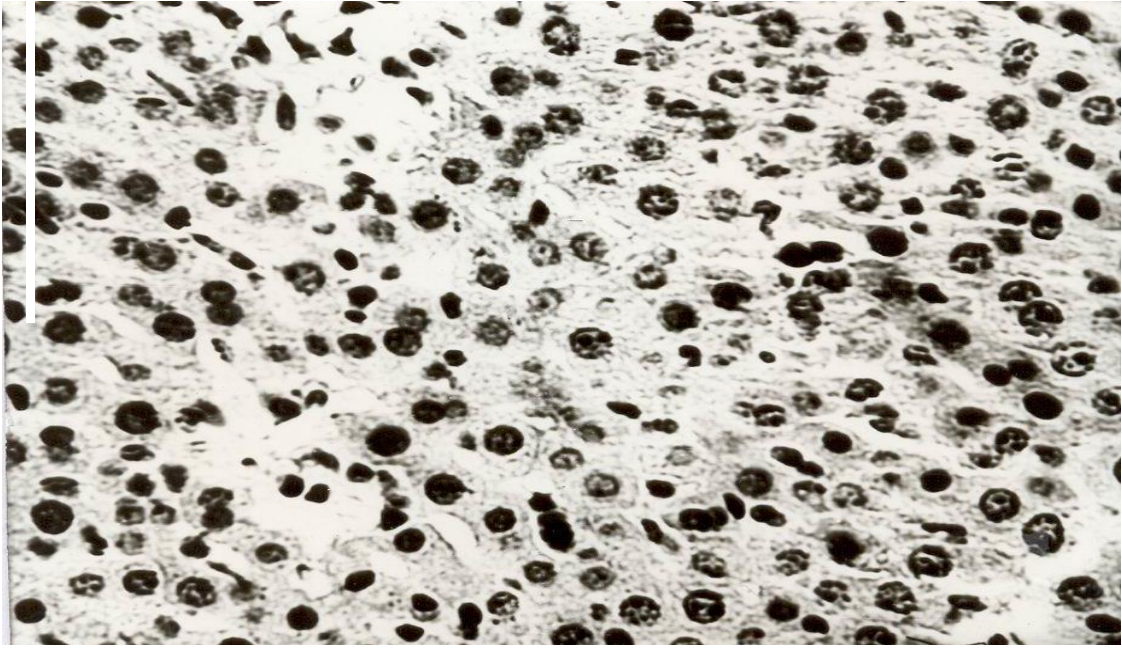


Рис. 3.5. Ткань печени крысы, получившей соль свинца. Гиперемия и отечность гемокапилляров печени. СМ. Ув. ок7х об.40

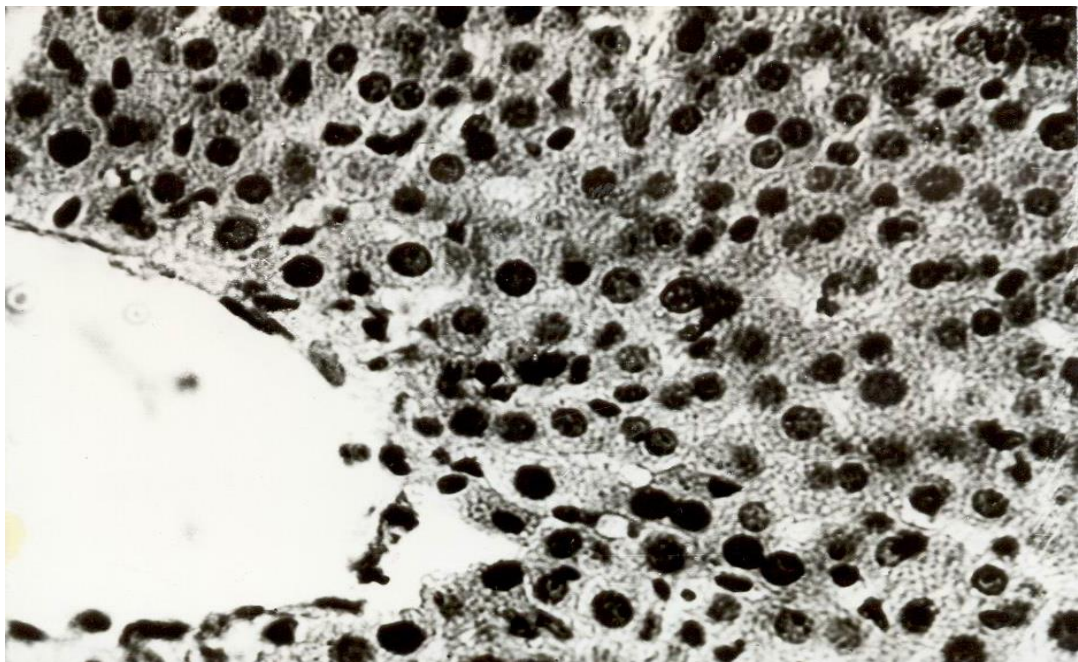


Рис. 3.6. Ткань печени крысы, получившей соль свинца, через 3 часа. Отек центральной вены печени. СМ. Ув. Ок10х об.40

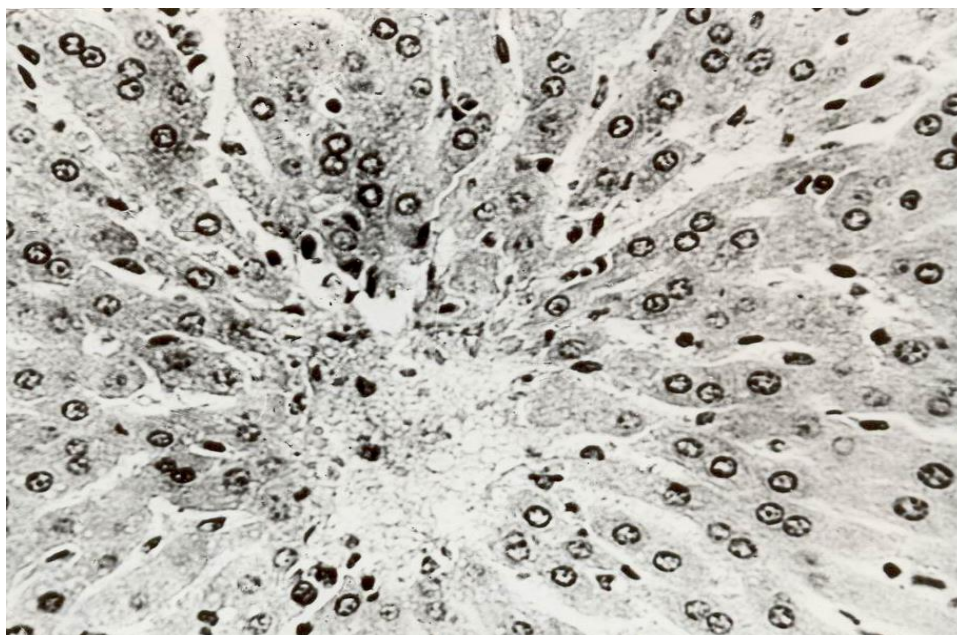


Рисунок 3.7. Ткань печени крысы через 24 часа после введения свинца. Умеренное полнокровие синусоидных гемокапилляров. СМ. Ув. ок7х об.40

Через 24 часа после введения свинца светооптически отмечаются изменения морфологического статуса гепатоцитов, которые можно квалифицировать как нормализацию структуры. В умеренной степени снижается уровень полнокровия синусоидных капилляров, центральных вен и сосудов портальных трактов (рис. 3.7). В цитоплазме гепатоцитов количественно меньше мелких вакуолей ядра мономорфны, при этом следует отметить некоторое увеличение их хромотропности. Нередко наблюдаются двудерные гепатоциты.

Исследованием установлено, что при введении животным солей свинца, печень отвечает более выраженными морфометрическими изменениями, чем при воздействии кадмия. Изменяются морфометрические параметры гепатоцитов, их ядер, а также размеров диаметра внутрипеченочных сосудов, особенно синусоидных гемокапилляров. В ранние сроки эксперимента (через 3 часа) реакция морфометрических параметров структурных элементов печени более выражена, чем при воздействии кадмия.

3.4. Морфологические изменения гепатоцитов при введении животным бутилкаптакса

Значительное количество соединений из группы тиазолов широко используется в качестве дефолиантов хлопчатника и других сельскохозяйственных культур. Наиболее активным и широко используемым среди них является бутилкаптакс – 2-бутилтиобенотиазол. Бутилкаптакс не оказывает негативного действия на урожайность хлопчатника, качество волокна и семян. Бутилкаптакс является дефолиантом мягкого действия в хлопководстве, особенно для тонковолокнистых, с широким диапазоном эффективных доз (5-15 кг\га).

Он может быть использован и при дефолиации плодовых деревьев и саженцев. Бутилкаптакс относится к малотоксичным пестицидам – LA_{50} для крыс составляет 1300 мг/кг. Обнаружено, что при интоксикации бутилкаптаксом нарушаются функции печени.

Однократное введение крысам бутилкаптакса внутрижелудочно, через 3 часа приводит к определенным патологическим изменениям в структуре печени.

Масса крыс варьировалась от 120г до 141,0г, в среднем - $128,7 \pm 3,72$ г.

Масса печени у лабораторных животных этой группы колеблется от 7,4г до 10 г., в среднем – $9,2 \pm 0,46$ г. Массовый коэффициент в среднем составляет – $7,15 \pm 0,27\%$ (таб. №3.1).

Поперечный размер гепатоцитов варьирует от 22,0 до 29,0 мкм, в среднем – $26,1 \pm 0,43$ мкм. Гепатоциты имеют многоугольную форму с хорошо различимыми границами. Цитоплазма амфотильная, гранулярная. В перинуклеарной зоне и со стороны синусоидального полюса на фоне сравнительно бледно окрашенной цитоплазмы имеются скопления мелкозернистого базофильного материала, соответствующего зернистой эндоплазматической сети. В основном встречаются одноядерные гепатоциты, наряду с ними встречаются двуядерные гепатоциты. Количество двуядерных

гепатоцитов на 100 гепатоцитов находится в пределах 10-24, в среднем $17,4 \pm 0,87$.

Показатели средней площади сечения цитоплазмы гепатоцитов колеблются от $440,0 \text{ мкм}^2$ до $800,0 \text{ мкм}^2$, в среднем – $636,0 \pm 22,32 \text{ мкм}^2$.

Ядра гепатоцитов расположены обычно в центре печеночных клеток, но могут быть смещены на их периферию. Показатели площади сечения ядер гепатоцитов контрольной группы крыс находятся в пределах от $100,0 \text{ мкм}^2$ до $152,0 \text{ мкм}^2$, в среднем – $126,2 \pm 3,22 \text{ мкм}^2$.

В центре печеночных долек расположены центральные вены, являющиеся начальным звеном печеночных вен. Диаметр центральных вен колеблется от $46,0$ до $88,0 \text{ мкм}$, в среднем – $66,2 \pm 2,6 \text{ мкм}$. По периферии печеночных долек располагается портальная триада, в состав которой входит артерия, вена и желчный проток.

Междольковые вены имеют диаметр от $24,0$ до $36,0 \text{ мкм}$, в среднем – $29,4 \pm 0,74 \text{ мкм}$. Эти вены делятся на множество меньших по диаметру ветвей, которые, в конечном счете, переходят на синусоидные капилляры. Междольковые артерии большую часть своих ветвей отдают на кровоснабжение желчных протоков, участвуя в формировании перибилиарных сплетений, плотность которых увеличивается по мере возрастания диаметра желчных протоков.

Диаметр междольковых артерий колеблется от $10,0$ до $20,0 \text{ мкм}$, в среднем – $14,6 \pm 0,62 \text{ мкм}$. Меньшая часть терминальных артерий, переходя в артериолы, принимает участие в формировании синусоидальных капилляров.

Желчные протоки триады, как у печени интактных крыс, покрыты однослойным кубическим эпителием, высотой от 4 до 6 мкм , в среднем – $4,67 \pm 0,15 \text{ мкм}$. Размер желчных протоков колеблется от $16,0$ до 36 мкм , в среднем – $24,1 \pm 1,24 \text{ мкм}$.

Синусоидные капилляры ориентированы преимущественно в радиальном направлении к центру долек, где впадают в центральные вены. Синусоидные капилляры находятся в состоянии полнокровия. Диаметр этих

гемокапилляров в поперечном сечении имеет размер от 8,0 до 20,0 мкм, в среднем – $14,2 \pm 0,74$ мкм.

При однократного введении крысам бутылкаптакса внутрижелудочно, через 24 часа наблюдались следующие морфометрические изменения:

Масса крыс варьировалась от 120г до 141,0г, в среднем - $128,6 \pm 3,72$ г.

Масса печени у лабораторных животных этой группы колебалась от 7,4г до 10,1 г., в среднем – $9,4 \pm 0,46$ г. Массовый коэффициент в среднем составлял – $7,3 \pm 0,35\%$.

Поперечный размер гепатоцитов (расстояние от центра одного ядра гепатоцитов до центра ядра близлежащего ядра другого гепатоцита) варьирует от 22,0 до 29,0 мкм, в среднем – $26,6 \pm 0,43$ мкм. Гепатоциты имеют многоугольную форму с хорошо различимыми границами. Цитоплазма амфотильная, гранулярная. В перинуклеарной зоне и со стороны синусоидального полюса на фоне сравнительно бледно окрашенной цитоплазмы имеются скопления мелкозернистого базофильного материала, соответствующего зернистой эндоплазматической сети. В основном встречаются одноядерные гепатоциты, наряду с ними встречаются двуядерные гепатоциты. Количество двуядерных гепатоцитов на 100 гепатоцитов находится в пределах 10-24, в среднем $15,1 \pm 0,87$.

Показатели средней площади сечения цитоплазмы гепатоцитов колеблются от $440,0 \text{ мкм}^2$ до $800,0 \text{ мкм}^2$, в среднем – $640,0 \pm 22,32 \text{ мкм}^2$.

Ядра гепатоцитов расположены обычно в центре печеночных клеток, но могут быть смещены на их периферию. Показатели площади сечения ядер гепатоцитов контрольной группы крыс находятся в пределах от $100,0 \text{ мкм}^2$ до $156,0 \text{ мкм}^2$, в среднем – $127,2 \pm 3,47 \text{ мкм}^2$ (таб. №3.1).

В центре печеночных долек расположены центральные вены, являющиеся начальным звеном печеночных вен. Диаметр центральных вен колеблется от 48,0 до 88,0 мкм, в среднем - $67,3 \pm 2,48$ мкм. По периферии печеночных долек располагается портальная триада, в состав которой входит артерия, вена и желчный проток.

Междольковые вены имеют диаметр от 24,0 до 38,0 мкм, в среднем – $31,4 \pm 0,87$ мкм (таб. №3.2). Эти вены делятся на множество меньших по диаметру ветвей, которые, в конечном счете, переходят на синусоидные капилляры. Междольковые артерии большую часть своих ветвей отдают на кровоснабжение желчных протоков, участвуя в формировании перибилиарных сплетений, плотность которых увеличивается по мере возрастания диаметра желчных протоков.

Диаметр междольковых артерий колеблется от 10,0 до 20,0 мкм, в среднем $15,1 \pm 0,62$ мкм (таб. №3.2). Меньшая часть терминальных артерий, переходя в артериолы, принимает участие в формировании синусоидальных капилляров.

Желчные протоки триады, как у печени интактных крыс, покрыты однослойным кубическим эпителием, высотой от 4 до 6 мкм, в среднем $4,69 \pm 0,15$ мкм. Размер желчных протоков колеблется от 16,0 до 36 мкм, в среднем – $24,6 \pm 1,24$ мкм.

Синусоидные капилляры ориентированы преимущественно в радиальном направлении к центру долек, где впадают в центральные вены. Синусоидные капилляры находятся в состоянии полнокровия. Диаметр этих гемокапилляров в поперечном сечении имеет размер от 8,0 до 20,0 мкм, в среднем – $14,8 \pm 0,74$ мкм.

Через 24 часа после введения бутылкаптакса светооптически отмечаются заметные изменения морфометрических параметров гепатоцитов, которые можно квалифицировать как реакция гепатоцитов на химический агент. Увеличивается уровень полнокровия синусоидных капилляров, центральных вен и сосудов порталных трактов. В цитоплазме гепатоцитов количественно меньше мелких вакуолей, ядра мономорфны, при этом следует отметить некоторое увеличение их хромотропности. Нередко наблюдаются двуядерные гепатоциты, число которых меньше по сравнению с гепатоцитами крыс через 3 часа после введения бутылкаптакса.

Исследованием установлено, что при введении животным бутилкаптакса, печень отвечает более выраженными морфометрическими изменениями, чем при воздействии на нее солями тяжелых металлов. Изменяются морфометрические параметры гепатоцитов, их ядер а также размеров диаметра внутрипеченочных сосудов, особенно синусоидных гемокапилляров. В ранние сроки эксперимента (через 3 часа), реакция морфометрических параметров структурных элементов печени менее выражена, по сравнению (через 24 часа после введения бутилкаптакса) с поздними сроками эксперимента.

3.5. Морфометрические параметры структурных элементов печени при воздействии дефолианта дроппа.

Через 3 часа после введения животным дефолианта дроппа балочное строение печени сохранено. Ядра гепатоцитов примерно одинаковых размеров, умеренно гипохромны. Наблюдается умеренное расширение просвета синусоидных капилляров. Пересинусовидные пространства не визуализируются. Среди элементов выстилки синусоидных капилляров нередко встречаются звездчатые ретикулоэндотелиоциты с увеличенными, гиперхромными ядрами. Цитоплазма гепатоцитов несколько просветлена, имеет слабую зернистость.

Ядра гепатоцитов, при электронномикроскопическом исследовании через 3 часа после введения дроппа, имеют ослабленную электронную плотность хроматина, особенно это касается его конденсированной части.

Ядрышки преимущественно мелкие, часть клеток содержит их по два. Масса крыс варьировалась от 122г до 142,0г, в среднем - $128,5 \pm 3,54$ г.

Масса печени у лабораторных животных этой группы колебалась от 7,5г до 10,0 г., в среднем – $9,1 \pm 0,44$ г. Массовый коэффициент в среднем составлял – $7,08 \pm 0,35\%$.

Поперечный размер гепатоцитов (расстояние от центра одного ядра гепатоцитов до центра ядра близлежащего ядра другого гепатоцита)

варьируется от 22,0 до 29,0 мкм, в среднем – $26,5 \pm 0,43$ мкм. Гепатоциты имеют многоугольную форму с хорошо различимыми границами.

В основном встречаются одноядерные гепатоциты, наряду с ними встречаются двуядерные гепатоциты. Количество двуядерных гепатоцитов на 100 гепатоцитов находится в пределах 10-24, в среднем $17,5 \pm 0,87$.

Показатели средней площади сечения цитоплазмы гепатоцитов колеблются от $440,0 \text{ мкм}^2$ до $800,0 \text{ мкм}^2$, в среднем – $638,0 \pm 22,32 \text{ мкм}^2$.

Ядра гепатоцитов расположены обычно в центре печеночных клеток, но могут быть смещены на их периферию. Показатели площади сечения ядер гепатоцитов контрольной группы крыс находятся в пределах от $100,0 \text{ мкм}^2$ до $156,0 \text{ мкм}^2$, в среднем – $126,9 \pm 3,47 \text{ мкм}^2$ (таб. №3.1).

В центре печеночных долек расположены центральные вены, являющиеся начальным звеном печеночных вен. Диаметр центральных вен колеблется от 44,0 до 84,0 мкм, в среднем – $67,3 \pm 2,48$ мкм. По периферии печеночных долек располагается портальная триада, в состав которой входит артерия, вена и желчный проток.

Междольковые вены имеют диаметр от 24,0 до 36,0 мкм, в среднем – $31,2 \pm 0,74$ мкм (таб. №3.2). Эти вены делятся на множество меньших по диаметру ветвей, которые, в конечном счете, переходят на синусоидные капилляры. Междольковые артерии большую часть своих ветвей отдают на кровоснабжение желчных протоков, участвуя в формировании перибилиарных сплетений, плотность которых увеличивается по мере возрастания диаметра желчных протоков.

Диаметр междольковых артерий колеблется от 10,0 до 20,0 мкм, в среднем – $15,1 \pm 0,62$ мкм. Меньшая часть терминальных артерий, переходя в артериолы, принимает участие в формировании синусоидальных капилляров.

Желчные протоки триады как у печени интактных крыс, покрыты однослойным кубическим эпителием, высотой от 4 до 6 мкм, в среднем $4,72 \pm 0,17$ мкм. Размер желчных протоков колеблется от 16,0 до 36 мкм, в среднем – $25,1 \pm 1,24$ мкм (таб. №3.2).

Синусоидные капилляры ориентированы преимущественно в радиальном направлении к центру долек, где впадают в центральные вены. Синусоидные капилляры находятся в состоянии полнокровия. Диаметр этих гемокапилляров в поперечном сечении имеет размер от 8,0 до 20,0 мкм, в среднем – $16,0 \pm 0,74$ мкм.

Печеночные клетки несколько уменьшены в размерах, расширены и отёчны межклеточные промежутки. Гепатоциты имеют мозаичность относительно степени пораженности: в одних выражена зернистость, а в других наблюдается выраженное просветление цитоплазмы.

При однократного введения крысам дроба внутривенно, через 24 часа наблюдались следующие морфометрические изменения:

Масса крыс варьировалась от 120г до 141,0г, в среднем - $128,3 \pm 3,54$ г.

Масса печени у лабораторных животных этой группы колебалась от 7,8г до 10,0 г., в среднем – $9,4 \pm 0,39$ г. Массовый коэффициент в среднем составлял – $7,35 \pm 0,35\%$.

Поперечный размер гепатоцитов (расстояние от центра одного ядра гепатоцитов до центра ядра близлежащего ядра другого гепатоцита) варьируется от 22,0 до 29,0 мкм, в среднем – $26,7 \pm 0,43$ мкм. Гепатоциты имеют многоугольную форму с хорошо различимыми границами. Цитоплазма амфотильная, гранулярная. В перинуклеарной зоне и со стороны синусоидального полюса на фоне сравнительно бледно окрашенной цитоплазмы имеются скопления мелкозернистого базофильного материала, соответствующего зернистой эндоплазматической сети. В основном встречаются одноядерные гепатоциты, наряду с ними встречаются двуядерные гепатоциты. Количество двуядерных гепатоцитов на 100 гепатоцитов находится в пределах 10-26, в среднем $17,0 \pm 0,99$.

Показатели средней площади сечения цитоплазмы гепатоцитов колеблется от $440,0 \text{ мкм}^2$ до $800,0 \text{ мкм}^2$, в среднем – $648,0 \pm 22,32 \text{ мкм}^2$.

Ядра гепатоцитов расположены обычно в центре печеночных клеток, но могут быть смещены на их периферию. Показатели площади сечения ядер

гепатоцитов контрольной группы крыс находятся в пределах от 100,0 мкм² до 156,0 мкм², в среднем – 130,2±3,47 мкм².

В центре печеночных долек расположены центральные вены, являющиеся начальным звеном печеночных вен. Диаметр центральных вен колеблется от 44,0 до 88,0 мкм, в среднем- 69,1±2,73 мкм. По периферии печеночных долек располагается портальная триада, в состав которой входит артерия, вена и желчный проток.

Междольковые вены имеют диаметр от 24,0 до 38,0 мкм, в среднем – 32,3±0,87 мкм. Эти вены делятся на множество меньших по диаметру ветвей, которые, в конечном счете, переходят на синусоидные капилляры. Междольковые артерии большую часть своих ветвей отдают на кровоснабжение желчных протоков, участвуя в формировании перибилиарных сплетений, плотность которых увеличивается по мере возрастания диаметра желчных протоков.

Диаметр междольковых артерий колеблется от 10,0 до 20,0 мкм, в среднем 15,4±0,62 мкм. Меньшая часть терминальных артерий, переходя в артериолы, принимает участие в формировании синусоидальных капилляров.

Желчные протоки триады как у печени интактных крыс, покрыты однослойным кубическим эпителием, высотой от 4 до 6 мкм, в среднем 4,68±0,15 мкм. Размер желчных протоков колеблется от 16,0 до 36 мкм, в среднем- 24,5±1,24 мкм.

Синусоидные капилляры ориентированы преимущественно в радиальном направлении к центру долек, где впадают в центральные вены. Синусоидные капилляры находятся в состоянии полнокровия. Диаметр этих гемокапилляров в поперечном сечении имеет размер от 8,0 до 20,0 мкм, в среднем – 116,0±0,74 мкм.

Печеночные клетки несколько уменьшены в размерах, расширены и отёчны межклеточные промежутки.

Таким образом, сравнительно с 3 часовым интервалом, после введения животным дефолианта дропп, через сутки наблюдаются более обширные и

выраженные изменения в структурном статусе гепатоцитов, свидетельствующие о существенном поражении энергетических биосинтетических и секреторных процессов.

3.6. Морфологические параметры при сочетанном введении солей свинца и кадмия

Сочетанное введение препаратов свинца и кадмия приводит к изменениям в структуре гепатоцитов, которые характерны для каждого отдельно, но вместе с тем имеют новые признаки.

Светооптически отмечается значительное полнокровие центральных вен, синусоидных капилляров и сосудов портальных трактов. В цитоплазме определяется выраженная вакуольная дистрофия, ядра печеночных клеток полиморфны по размерам и хромотропности.

Масса крыс варьировалась от 120г до 141,0г, в среднем - $128,0 \pm 3,54$ г.

Масса печени у лабораторных животных этой группы колебалась от 7,3г до 9,9 г., в среднем – $8,9 \pm 0,46$ г. Массовый коэффициент в среднем составлял – $6,95 \pm 0,35\%$ (таб. №3.3).

Поперечный размер гепатоцитов (расстояние от центра одного ядра гепатоцитов до центра ядра близлежащего ядра другого гепатоцита) варьируется от 20,0 до 29,0 мкм, в среднем – $25,5 \pm 0,56$ мкм. Гепатоциты имеют многоугольную форму с хорошо различимыми границами. Цитоплазма амфофильная, гранулярная. В основном встречаются одноядерные гепатоциты, наряду с ними встречаются двуядерные гепатоциты. Количество двуядерных гепатоцитов на 100 гепатоцитов находится в пределах 10-26, в среднем $16,5 \pm 0,99$.

Показатели средней площади сечения цитоплазмы гепатоцитов колеблются от $440,0 \text{ мкм}^2$ до $780,0 \text{ мкм}^2$, в среднем – $632,0 \pm 21,08 \text{ мкм}^2$.

Ядра гепатоцитов расположены обычно в центре печеночных клеток, но могут быть смещены на их периферию. Показатели площади сечения ядер гепатоцитов контрольной группы крыс находятся в пределах от $100,0 \text{ мкм}^2$ до $152,0 \text{ мкм}^2$, в среднем – $124,1 \pm 3,22 \text{ мкм}^2$.

В центре печеночных долек расположены центральные вены, являющиеся начальным звеном печеночных вен. Диаметр центральных вен колеблется от 48,0 до 84,0 мкм, в среднем- $68,0 \pm 2,23$ мкм. По периферии печеночных долек располагается портальная триада, в состав которой входит артерия, вена и желчный проток.

Междольковые вены имеют диаметр от 24,0 до 36,0 мкм, в среднем – $29,4 \pm 0,74$ мкм. Эти вены делятся на множество меньших по диаметру ветвей, которые, в конечном счете, переходят на синусоидные капилляры. Междольковые артерии большую часть своих ветвей отдают на кровоснабжение желчных протоков, участвуя в формировании перибилиарных сплетений, плотность которых увеличивается по мере возрастания диаметра желчных протоков.

Диаметр междольковых артерий колеблется от 10,0 до 20,0 мкм, в среднем $14,5 \pm 0,62$ мкм. Меньшая часть терминальных артерий, переходя в артериолы, принимает участие в формировании синусоидальных капилляров.

Желчные протоки триады как у печени интактных крыс, покрыты однослойным кубическим эпителием, высотой от 4 до 6 мкм, в среднем $4,68 \pm 0,16$ мкм. Размер желчных протоков колеблется от 16,0 до 36 мкм, в среднем- $23,5 \pm 1,24$ мкм.

Синусоидные капилляры ориентированы преимущественно в радиальном направлении к центру долек, где впадают в центральные вены. Синусоидные капилляры находятся в состоянии полнокровия. Диаметр этих гемокапилляров в поперечном сечении имеет размер от 8,0 до 20,0 мкм, в среднем – $14,0 \pm 0,74$ мкм (таб. №3.4) .

Печеночные клетки несколько уменьшены в размерах, расширены и отёчны межклеточные промежутки. Гепатоциты имеют мозаичность относительно степени пораженности: в одних выражена зернистость, а в других наблюдается выраженное просветление цитоплазмы.

Таким образом, сравнительно с 3 часовым интервалом, после введения животным дефолианта дропп, через сутки наблюдаются более обширные и

выраженные изменения в структурном статусе гепатоцитов, свидетельствующие о существенном поражении энергетических биосинтетических и секреторных процессов.

При однократного введении крысам солей свинца и кадмия, внутрижелудочно, через 24 часа наблюдались следующие морфометрические изменения:

Масса крыс варьировалась от 120г до 140,0г, в среднем $-128,0 \pm 3,54$ г.

Масса печени у лабораторных животных этой группы колебалась от 7,3г до 9,9 г., в среднем $- 8,9 \pm 0,46$ г. Массовый коэффициент в среднем составлял $- 6,95 \pm 0,35\%$.

Поперечный размер гепатоцитов (расстояние от центра одного ядра гепатоцитов до центра ядра близлежащего ядра другого гепатоцита) варьирует от 20,0 до 29,0 мкм, в среднем $- 25,5 \pm 0,56$ мкм. Гепатоциты имеют многоугольную форму с хорошо различимыми границами. В основном встречаются одноядерные гепатоциты, наряду с ними встречаются двуядерные гепатоциты. Количество двуядерных гепатоцитов на 100 гепатоцитов находится в пределах 10-26, в среднем $16,1 \pm 0,99$.

Показатели средней площади сечения цитоплазмы гепатоцитов колеблются от $440,0 \text{ мкм}^2$ до $780,0 \text{ мкм}^2$, в среднем $- 632,0 \pm 21,08 \text{ мкм}^2$.

Ядра гепатоцитов расположены обычно в центре печеночных клеток, но могут быть смещены на их периферию. Показатели площади сечения ядер гепатоцитов контрольной группы крыс находятся в пределах от $100,0 \text{ мкм}^2$ до $152,0 \text{ мкм}^2$, в среднем $- 124,1 \pm 3,22 \text{ мкм}^2$ (рис.3.8.).

В центре печеночных долек расположены центральные вены, являющиеся начальным звеном печеночных вен. Диаметр центральных вен колеблется от 48,0 до 84,0 мкм, в среднем $- 65,0 \pm 2,23$ мкм. По периферии печеночных долек располагается портальная триада, в состав которой входит артерия, вена и желчный проток.

Междольковые вены имеют диаметр от 24,0 до 36,0 мкм, в среднем $- 29,0 \pm 0,74 \text{ мкм}$ Эти вены делятся на множество меньших по диаметру ветвей,

которые, в конечном счете, переходят на синусоидные капилляры. Междольковые артерии большую часть своих ветвей отдают на кровоснабжение желчных протоков, участвуя в формировании перибилиарных сплетений, плотность которых увеличивается по мере возрастания диаметра желчных протоков.

Диаметр междольковых артерий колеблется от 10,0 до 20,0 мкм, в среднем $14,3 \pm 0,62$ мкм (таб. №3.4). Меньшая часть терминальных артерий, переходя в артериолы, принимает участие в формировании синусоидальных капилляров.

Желчные протоки триады как у печени интактных крыс, покрыты однослойным кубическим эпителием, высотой от 4 до 6 мкм, в среднем $4,72 \pm 0,16$ мкм. Размер желчных протоков колеблется от 16,0 до 36 мкм, в среднем - $23,4 \pm 1,24$ мкм.

Синусоидные капилляры ориентированы преимущественно в радиальном направлении к центру долек, где впадают в центральные вены. Синусоидные капилляры находятся в состоянии полнокровия. Диаметр этих гемокапилляров в поперечном сечении имеет размер от 8,0 до 20,0 мкм, в среднем – $14,6 \pm 0,74$ мкм.

Печеночные клетки несколько набухшие в размерах, расширены и отёчны межклеточные промежутки.

Таким образом, сочетанное введение данных солей приводит к их взаимнопотенцирующему эффекту, вызывая патологические нарушения в ультраструктуре гепатоцитов, и прежде всего - в тех компонентах, которые ответственны за осуществление биоэнергетических и биосинтетических функций.

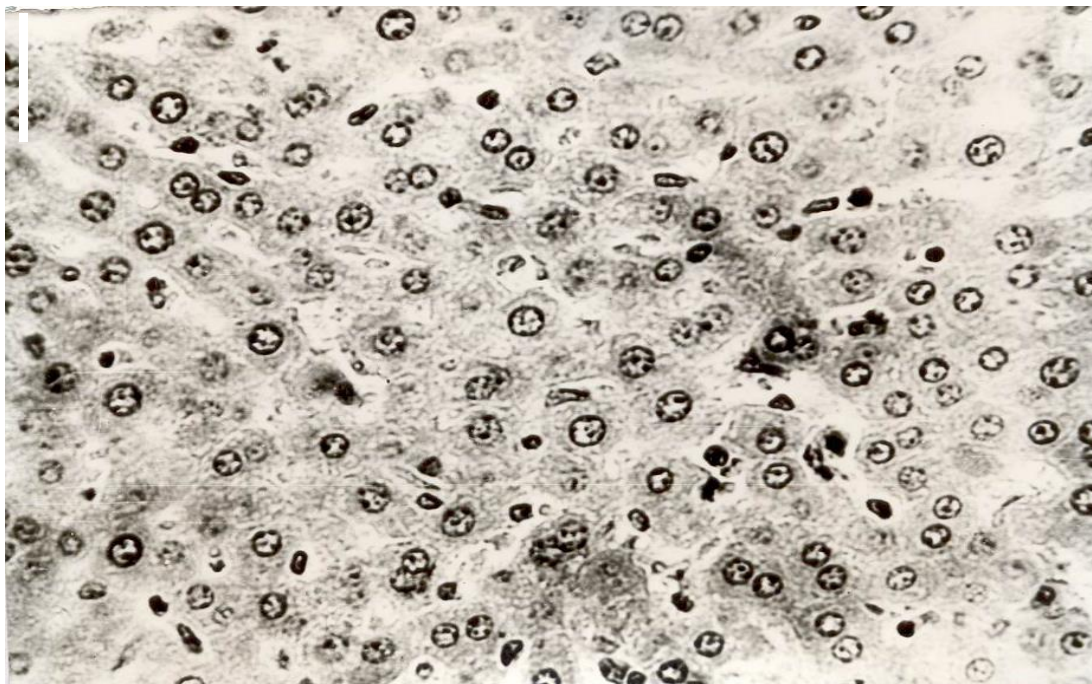


Рисунок 3.8. Печень крысы, получавшей перорально совместно соли свинца и кадмия. Активированные звездчатые макрофаги (клетки Купфера) печени. СМ. Ув. Ок10х об.40

3.7. Морфометрические параметры структурных элементов печени при совместном введении животным дроппа и свинца.

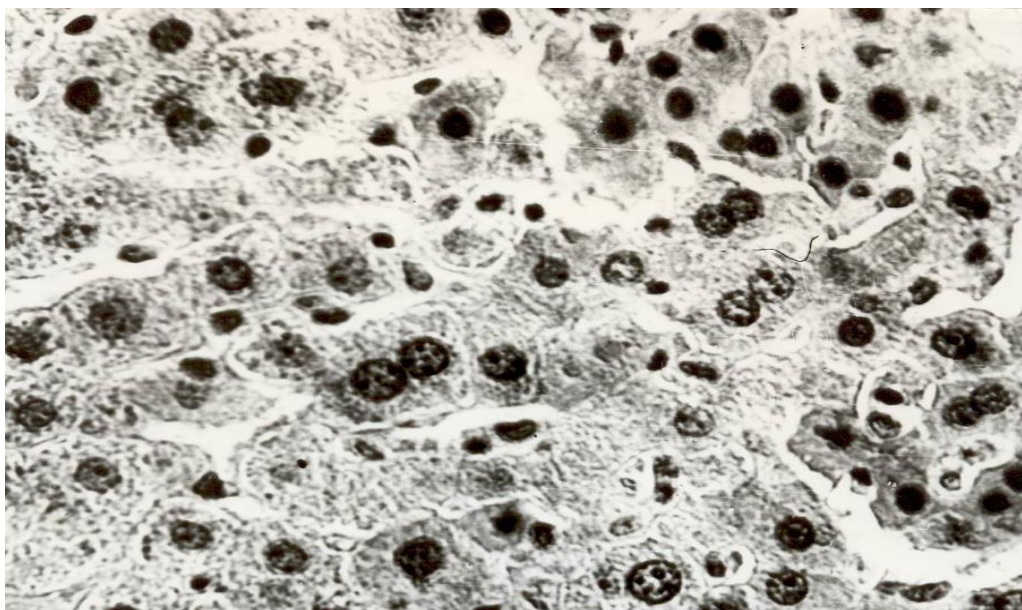
Как уже отмечалось, совместное введение двух токсикантов (соли кадмия и свинца) приводит к их взаимно потенцирующему эффекту в отношении поражения структурных компонентов печени. В связи с этим представляло определенный интерес дальнейшее исследование данного взаимовлияния на примере совместного введения животным дроппа и соли свинца. Последний в экологическом отношении является довольно распространенным загрязнителем, в том числе и в зонах хлопководства, где может применяться в качестве дефолианта дроппа. Влияние свинца на ультраструктуру гепатоцитов в условиях раздельного введения животным описано ранее. Через 3 часа после сочетанного введения животным дроппа и свинца, светооптически в печени наблюдалась сохранность балочного строения паренхимы, а также умеренно полнокровные сосуды портальных трактов, синусоидные капилляры и центральные вены. Характерным признаком при такой постановке экспериментов, является появление слабых

лимфоидноклеточных инфильтратов портальных трактов, местами – с проникновением в паренхиму (рис. 3.9. и рис. 3.10).

В инфильтратах нередко к основным клеточным элементам – лимфоцитам примешиваются сегментоядерные нейтрофилы. Ядра гепатоцитов с очень слабым полиморфизмом, цитоплазма местами содержит слабую зернистость на фоне общего просветления цитоплазмы (рис. 3.10).

Митохондрия гепатоцитов через 3 часа после сочетанного введения животным препаратов дроппа и свинца имеет преимущественно уменьшенный диаметр, смешанную форму (круглые и палочковидные). Матрикс их умеренно уплотнен, кристы практически не определяются.

Зернистая эндоплазматическая сеть количественно сокращена, частично фрагментирована и вакуолизирована. Аналогичным изменениям подвержена и гладкая эндоплазматическая сеть. Значительно снижено количество гликогена.



**Рисунок 3.9. Ткань печени крыс при совместном введении дроппа и свинца. Лимфоцитарная инфильтрация печени. СМ. Ув. ок7х
об.90**

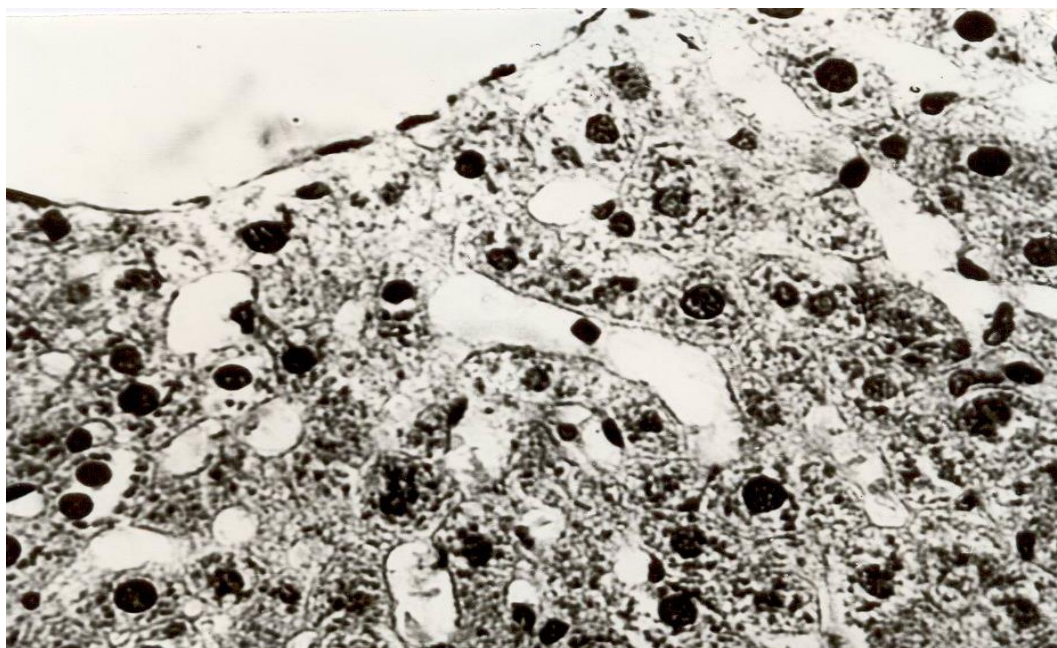


Рисунок 3.10. Ткань печени крыс при совместном введении дроппа и свинца. Некоторая отечность синусоидных гемокапилляров печени и лимфоидная инфильтрация. СМ. Ув. ок7х об.90

Масса крыс варьируется от 120г до 140,0г, в среднем - $128,4 \pm 3,54$ г.

Масса печени у лабораторных животных этой группы колеблется от 7,5г до 10 г., в среднем – $9,1 \pm 0,44$ г. Массовый коэффициент в среднем составляет – $7,09 \pm 0,35\%$.

Поперечный размер гепатоцитов (расстояние от центра одного ядра гепатоцитов до центра ядра близлежащего ядра другого гепатоцита) варьируются от 20,0 до 32,0 мкм, в среднем – $27,1 \pm 0,74$ мкм. Гепатоциты имеют многоугольную форму с хорошо различимыми границами. Цитоплазма амфотильная, гранулярная. В перинуклеарной зоне и со стороны синусоидального полюса на фоне сравнительно бледно окрашенной цитоплазмы имеются скопления мелкозернистого базофильного материала, соответствующего зернистой эндоплазматической сети. В основном встречаются одноядерные гепатоциты, наряду с ними встречаются двуядерные гепатоциты. Количество двуядерных гепатоцитов на 100 гепатоцитов находится в пределах 12-28, в среднем $18,1 \pm 0,99$.

Показатели средней площади сечения цитоплазмы гепатоцитов колеблются от $440,0\text{мкм}^2$ до $880,0\text{мкм}^2$, в среднем – $681,0\pm 27,28\text{мкм}^2$.

Ядра гепатоцитов расположены обычно в центре печеночных клеток, но могут быть смещены на их периферию. Показатели площади сечения ядер гепатоцитов контрольной группы крыс находятся в пределах от $100,0\text{мкм}^2$ до $160,0\text{мкм}^2$, в среднем – $128,4\pm 3,72\text{мкм}^2$.

В центре печеночных долек расположены центральные вены, являющиеся начальным звеном печеночных вен. Диаметр центральных вен колеблется от $44,0$ до $88,0\text{мкм}$, в среднем – $701\pm 2,73\text{мкм}$. По периферии печеночных долек располагается портальная триада, в состав которой входит артерия, вена и желчный проток.

Междольковые вены имеют диаметр от $24,0$ до $40,0\text{мкм}$, в среднем – $33,2\pm 0,99\text{мкм}$. Эти вены делятся на множество меньших по диаметру ветвей, которые, в конечном счете, переходят на синусоидные капилляры. Междольковые артерии большую часть своих ветвей отдают на кровоснабжение желчных протоков, участвуя в формировании перибилиарных сплетений, плотность которых увеличивается по мере возрастания диаметра желчных протоков.

Диаметр междольковых артерий колеблется от $10,0$ до $20,0\text{мкм}$, в среднем – $15,5\pm 0,62\text{мкм}$. Меньшая часть терминальных артерий, переходя в артериолы, принимает участие в формировании синусоидальных капилляров.

Желчные протоки триады как у печени интактных крыс, покрыты однослойным кубическим эпителием, высотой от 4 до 6мкм , в среднем – $4,71\pm 0,17\text{мкм}$. Размер желчных протоков колеблется от $16,0$ до 36мкм , в среднем – $24,4\pm 1,24\text{мкм}$.

Синусоидные капилляры ориентированы преимущественно в радиальном направлении к центру долек, где впадают в центральные вены. Синусоидные капилляры находятся в состоянии полнокровия. Диаметр этих гемокапилляров в поперечном сечении имеет размер от $10,0$ до $24,0\text{мкм}$, в среднем – $16,8\pm 0,87\text{мкм}$.

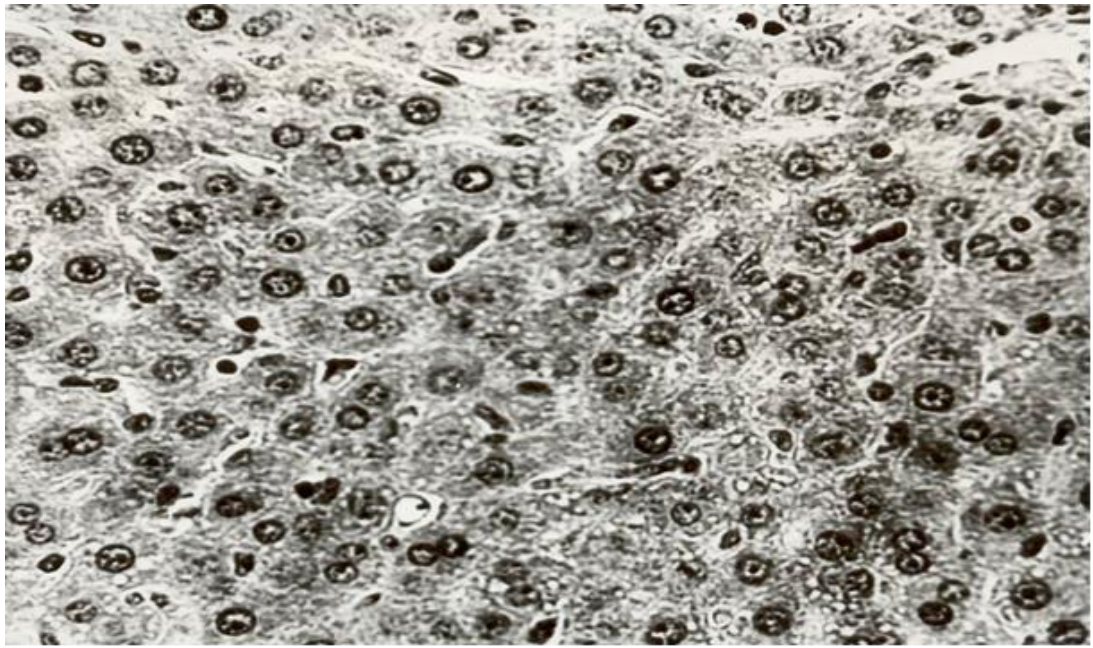


Рисунок 3.11. Ткань печени крыс после 3 часов совместного введения дроппа и свинца. Лейкоцитарная инфильтрация портального тракта и печеночных балок. СМ. Ув. Ок10х об.40

При однократном введении крысам солей свинца и дроппа внутрижелудочно, через 24 часа наблюдаются следующие морфометрические изменения:

Масса крыс варьируется от 122г до 140,0г, в среднем - $128,3 \pm 3,19$ г.

Масса печени у лабораторных животных этой группы колеблется от 7,5г до 10,1 г., в среднем – $9,2 \pm 0,46$ г. Массовый коэффициент в среднем составляет – $7,17 \pm 0,35\%$ (таб. №3.3).

Поперечный размер гепатоцитов варьируется от 19 до 30 мкм, в среднем – $25,4 \pm 0,68$ мкм. Гепатоциты имеют многоугольную форму с хорошо различимыми границами. Цитоплазма амфотильная, гранулярная. В перинуклеарной зоне и со стороны синусоидального полюса на фоне сравнительно бледно окрашенной цитоплазмы имеются скопления мелкозернистого базофильного материала, соответствующего зернистой эндоплазматической сети. В основном встречаются одноядерные гепатоциты, наряду с ними встречаются двуядерные гепатоциты. Количество двуядерных

гепатоцитов на 100 гепатоцитов находится в пределах 12-28, в среднем $18,7 \pm 0,99$.

Показатели средней площади сечения цитоплазмы гепатоцитов колеблются от $440,0 \text{ мкм}^2$ до $880,0 \text{ мкм}^2$, в среднем – $660,5 \pm 27,28 \text{ мкм}^2$.

Ядра гепатоцитов расположены обычно в центре печеночных клеток, но могут быть смещены на их периферию. Показатели площади сечения ядер гепатоцитов контрольной группы крыс находятся в пределах от $100,0 \text{ мкм}^2$ до $160,0 \text{ мкм}^2$, в среднем – $128,4 \pm 3,72 \text{ мкм}^2$.

В центре печеночных долек расположены центральные вены, являющиеся начальным звеном печеночных вен. Диаметр центральных вен колеблется от $48,0$ до $88,0 \text{ мкм}$, в среднем- $72,5 \pm 2,48 \text{ мкм}$. По периферии печеночных долек располагается портальная триада, в состав которой входит артерия, вена и желчный проток.

Междольковые вены имеют диаметр от $28,0$ до $40,0 \text{ мкм}$, в среднем – $34,1 \pm 0,74 \text{ мкм}$ Эти вены делятся на множество меньших по диаметру ветвей, которые, в конечном счете, переходят на синусоидные капилляры. Междольковые артерии большую часть своих ветвей отдают на кровоснабжение желчных протоков, участвуя в формировании перибилиарных сплетений, плотность которых увеличивается по мере возрастания диаметра желчных протоков.

Диаметр междольковых артерий колеблется от $10,0$ до $20,0 \text{ мкм}$, в среднем $15,9 \pm 0,62 \text{ мкм}$. Меньшая часть терминальных артерий, переходя в артериолы, принимает участие в формировании синусоидальных капилляров.

Желчные протоки триады как у печени интактных крыс, покрыты однослойным кубическим эпителием, высотой от 4 до 6 мкм , в среднем $4,70 \pm 0,17 \text{ мкм}$. Размер желчных протоков колеблется от $16,0$ до 36 мкм , в среднем- $27,4 \pm 1,24 \text{ мкм}$.

Синусоидные капилляры ориентированы преимущественно в радиальном направлении к центру долек, где впадают в центральные вены. Синусоидные капилляры находятся в состоянии полнокровия. Диаметр этих

гемокапилляров в поперечном сечении имеет размер от 10,0 до 24,0 мкм, в среднем – $17,8 \pm 0,87$ мкм.

Структура балочного строения гепатоцитов через 24 часа после сочетанного введения животным препаратов дроппа и свинца не претерпевает значительных изменений. По сравнению с группой, где в аналогичный срок изучалось действие только препарата дропп, в данной группе наблюдения, уменьшена степень наполнения центральных вен и синусоидных капилляров, снизился уровень внутриклеточного отёка, с некоторым увеличением зернистости цитоплазмы. Перипортальные тракты слабо инфильтрированы лимфоцитами с примесью сегментоядерных нейтрофилов (рис. 3.10).

Ядра гепатоцитов незначительно отличаются друг от друга по диаметру и хромотропности.

Несколько расширены желчные капилляры. В цитоплазме очень мало лизосом, еще меньше аутофагасов. Синусоидные капилляры неравномерной величины, перисинусоидные пространства расширены и заполнены редкими, короткими микроворсинками (рис. 3.11).

3.8. Структура гепатоцитов при совместном введении животным бутылкаптакса и свинца

Как ранее отмечалось, введение животным солей свинца вызывает значительные перестройки морфологического статуса гепатоцитов. Прежде всего, это незначительное просветление цитоплазмы, следствие наличия в последней слабо выраженной мелковакуольной дистрофии. Наиболее выражена она в центральных отделах печеночных долек и практически не определяется в перипортальных зонах.

Просветы синусоидных капилляров расширены, заполнены форменными элементами крови. Перисинусоидные пространства (Диссе) узкие, в их просвете видны короткие, тонкие микроворсинки. Ядра звездчатых ретикулоэндотелиоцитов с крупными элементами, с усилением электронной плотности конденсированного хроматина.

При однократного введении крысам солей свинца и бутилкаптакса внутрижелудочно, через 3 часа, наблюдаются следующие морфометрические изменения:

Масса крыс варьируется от 122г до 142,0г, в среднем $-128,4 \pm 3,54$ г.

Масса печени у лабораторных животных этой группы колеблется от 7,4г до 10,0 г., в среднем $- 9,4 \pm 0,46$ г. Массовый коэффициент в среднем составляет $- 7,25 \pm 0,35\%$ (таб. №3.3).

Поперечный размер гепатоцитов (расстояние от центра одного ядра гепатоцитов до центра ядра близлежащего ядра другого гепатоцита) варьирует от 20,0 до 30,0 мкм, в среднем $- 26,9 \pm 0,62$ мкм. Гепатоциты имеют многоугольную форму с хорошо различимыми границами. Цитоплазма амфотильная, гранулярная.

В основном встречаются одноядерные гепатоциты, наряду с ними встречаются двуядерные гепатоциты. Количество двуядерных гепатоцитов на 100 гепатоцитов находится в пределах 10-26, в среднем $17,1 \pm 0,99$.

Показатели средней площади сечения цитоплазмы гепатоцитов колеблются от $440,0 \text{ мкм}^2$ до $880,0 \text{ мкм}^2$, в среднем $- 650,1 \pm 27,28 \text{ мкм}^2$.

Ядра гепатоцитов расположены обычно в центре печеночных клеток, но могут быть смещены на их периферию. Показатели площади сечения ядер гепатоцитов контрольной группы крыс находятся в пределах от $100,0 \text{ мкм}^2$ до $160,0 \text{ мкм}^2$, в среднем $- 124,4 \pm 3,72 \text{ мкм}^2$.

В центре печеночных долек расположены центральные вены, являющиеся начальным звеном печеночных вен. Диаметр центральных вен колеблется от 48,0 до 84,0 мкм, в среднем $- 67,1 \pm 2,23$ мкм (таб. №3.4). По периферии печеночных долек располагается портальная триада, в состав которой входит артерия, вена и желчный проток.

Междольковые вены имеют диаметр от 24,0 до 36,0 мкм, в среднем $- 31,6 \pm 0,74 \text{ мкм}$ Эти вены делятся на множество меньших по диаметру ветвей, которые, в конечном счете, переходят на синусоидные капилляры. Междольковые артерии большую часть своих ветвей отдают на

кровообращение желчных протоков, участвуя в формировании перибиллиарных сплетений, плотность которых увеличивается по мере возрастания диаметра желчных протоков.

Диаметр междольковых артерий колеблется от 10,0 до 20,0 мкм, в среднем $15,3 \pm 0,62$ мкм. Меньшая часть терминальных артерий, переходя в артериолы, принимает участие в формировании синусоидальных капилляров.

Желчные протоки триады как у печени интактных крыс, покрыты однослойным кубическим эпителием, высотой от 4 до 6 мкм, в среднем $4,74 \pm 0,17$ мкм. Размер желчных протоков колеблется от 16,0 до 36 мкм, в среднем - $25,1 \pm 1,24$ мкм.

Синусоидные капилляры ориентированы преимущественно в радиальном направлении к центру долек, где впадают в центральные вены. Синусоидные капилляры находятся в состоянии полнокровия. Диаметр этих гемокапилляров в поперечном сечении имеют размер от 10,0 до 24,0 мкм, в среднем – $16,2 \pm 0,87$ мкм.

При однократного введении крысам солей свинца и бутилкаптакса внутрижелудочно, через 24 часа наблюдаются следующие морфометрические изменения:

Масса крыс варьируется от 121г до 141,0г, в среднем - $128,5 \pm 3,54$ г.

Масса печени у лабораторных животных этой группы колеблется от 7,2г до 10,0 г., в среднем – $9,2 \pm 0,49$ г. Массовый коэффициент в среднем составляет – $7,16 \pm 0,35\%$ (таб. №3.3).

Поперечный размер гепатоцитов (расстояние от центра одного ядра гепатоцитов до центра ядра близлежащего ядра другого гепатоцита) варьируется от 20,0 до 30,0 мкм, в среднем – $26,8 \pm 0,62$ мкм. Гепатоциты имеют многоугольную форму с хорошо различимыми границами. Цитоплазма амфофильная, гранулярная. В основном встречаются одноядерные гепатоциты, наряду с ними встречаются двуядерные гепатоциты. Количество двуядерных гепатоцитов на 100 гепатоцитов находится в пределах 10-26, в среднем $17,2 \pm 0,99$.

Показатели средней площади сечения цитоплазмы гепатоцитов колеблются от $440,0\text{мкм}^2$ до $880,0\text{мкм}^2$, в среднем – $650,5\pm 27,28\text{мкм}^2$.

Ядра гепатоцитов расположены обычно в центре печеночных клеток, но могут быть смещены на их периферию. Показатели площади сечения ядер гепатоцитов контрольной группы крыс находится в пределах от $100,0\text{ мкм}^2$ до $156,0\text{мкм}^2$, в среднем – $124,0\pm 3,47\text{ мкм}^2$.

В центре печеночных долек расположены центральные вены, являющиеся начальным звеном печеночных вен. Диаметр центральных вен колеблется от $44,0$ до $88,0\text{ мкм}$, в среднем- $68,2\pm 2,73\text{ мкм}$. По периферии печеночных долек располагается портальная триада, в состав которой входит артерия, вена и желчный проток.

Междольковые вены имеют диаметр от $28,0$ до $40,0\text{ мкм}$, в среднем – $33,1\pm 0,74\text{мкм}$ (таб. №3.4). Эти вены делятся на множество меньших по диаметру ветвей, которые, в конечном счете, переходят на синусоидные капилляры. Междольковые артерии большую часть своих ветвей отдают на кровоснабжение желчных протоков, участвуя в формировании перибилиарных сплетений, плотность которых увеличивается по мере возрастания диаметра желчных протоков.

Диаметр междольковых артерий колеблется от $10,0$ до $20,0\text{ мкм}$, в среднем $15,5\pm 0,62\text{ мкм}$. Меньшая часть терминальных артерий, переходя в артериолы, принимает участие в формировании синусоидальных капилляров.

Желчные протоки триады как у печени интактных крыс, покрыты однослойным кубическим эпителием, высотой от 4 до 6 мкм , в среднем $4,71\pm 0,16\text{ мкм}$. Размер желчных протоков колеблется от $16,0$ до 36 мкм , в среднем- $26,1\pm 1,24\text{мкм}$.

Синусоидные капилляры ориентированы преимущественно в радиальном направлении к центру долек, где впадают в центральные вены. Синусоидные капилляры находятся в состоянии полнокровия. Диаметр этих гемокапилляров в поперечном сечении имеет размер от $10,0$ до $24,0\text{ мкм}$, в среднем – $16,8\pm 0,87\text{мкм}$.

Таким образом, при исследовании ткани печени в световом микроскопе, через 3 часа после сочетанного введения животным бутилкаптакса и свинца, общий план балочного строения сохранен. Гепатоциты несколько отличаются размерами и диаметрами ядер. Последние преимущественно незначительно уменьшены в размерах и гипохромны. В цитоплазме гепатоцитов обнаруживается мелкая зернистость и вакуолизация. Синусоидные капилляры неравномерно расширены, в просветах наблюдаются звездчатые ретикулоэндотелиоциты с крупными, гиперхромными ядрами.

В цитоплазме печеночных клеток, через 3 часа после сочетанного введения животным бутилкаптакса и свинца, практически не определяются зерна гликогена, тогда как при введении животным только бутилкаптакса в аналогичный срок наблюдения, количество его было лишь умеренно снижено.

Умеренно расширены желчные капилляры, в просвете видно большое количество коротких тонких микроворсинок. Межклеточные пространства расширены, иногда в них встречаются лимфоциты и сегментоядерные нейтрофилы.

Среди клеток эндотелиальной выстилки выделяются звездчатые макрофаги (клетки Купфера). Ядра их увеличены в размерах, гиперхромны, с изрезанными краями. В цитоплазме усиливается пиноцитозная активность, с увеличением количества микроворсинок, расположенных в перисинусоидных пространствах. Здесь же встречаются продукты биодegradации гепатоцитов.

Синусоидные капилляры в ткани печени, через 3 часа после сочетанного введения животным бутилкаптакса и свинца, широкие, в аналогичном состоянии и перисинусоидные пространства.

Отмеченные нарушения в структуре гепатоцитов усиливаются через 24 часа после сочетанного введения животным бутилкаптакса и свинца. Следует отметить, что при этом общая структура печени сохранена, наблюдается

умеренное полнокровие сосудов портальных трактов. Вокруг последней нередко можно наблюдать слабые лимфоидноклеточные инфильтраты. Отмечается неравномерное расширение просветов центральных вен и прилегающих участков синусоидных капилляров. Гепатоциты полиморфны, часть их небольшого размера, с умеренным уплотнением цитоплазмы, другая часть увеличена в размерах, цитоплазма просветлена за счет наличия в ней вакуолей различного диаметра и зернистости. Наиболее выражены эти явления в центральных отделах печеночных долек. Следует особо заметить, что данные изменения носят мозаичный характер по площади гистологического среза.

Таким образом, сочетанное введение животным бутылкапакса и свинца приводит к более тяжким патологическим изменениям структурного статуса гепатоцитов, чем раздельное введение. Кроме того, следует отметить, что наблюдающиеся изменения ультраструктуры гепатоцитов через 24 часа после сочетанного введения животным бутылкапакса и свинца носят более выраженный и глубокий характер, нежели в случае сочетания свинца с другим дефолиантом, дроппом.

Таблица № 3.1.

**Сравнительная характеристика морфометрических параметров печени, гепатоцитов в норме, при отдельном
воздействии солей тяжелых металлов и дефолеантов**

	Контроль ая группа	Соли кадмия через 3 ч	Соли кадмия через 24 ч	Соли свинца через 3 ч	Соли свинца через 24 ч	Бутилкапт акс через 3 ч	Бутилкапт акс через 24ч	Дефолиант а дроппа через 3 ч	Дефолиант а дроппа через 24 ч
Масс крыс	127,6±3,45	128,0±3,54	127,9±3,19	127,9±3,54	128,0±3,54	128,7±3,72	128,6±3,72	128,5±3,54	128,3±3,54
Масса печени	8,45±0,34	8,90±0,41	8,6±0,41	9,1±0,46	8,9±0,48	9,2±0,46	9,4±0,46	9,1±0,44	9,4±0,39
Массовый коэффициент	6,62±0,18	6,95±0,27	6,72±0,27	7,1±0,35	6,95±0,35	7,15±0,27	7,3±0,35	7,08±0,35	7,35±0,35
Размер гепатоцитов	24,3±0,43	26,0±1,15	25,4±0,56	26,5±0,49**	26,2±0,43**	26,1±0,43**	26,6±0,43**	26,5±0,43**	26,7±0,43***
Площади сечения цитоплазмы	590,5±20,4	620,5±19,22	610,6±21,08	630,4±21,08	627,2±21,08	636,0±22,32	640±22,32	638±22,32	648±22,32
Площади сечения ядер	118,6±2,54	120,4±2,98	120,5±2,98	122,2±2,98	120,7±2,98	126,2±3,22	127,2±3,47*	126,9±3,47	130,2±3,47*
Ядерно – цитоплаз матическое отношение	20,1±0,25	19,4±0,19*	19,7±0,19	19,4±0,19*	19,2±0,19	19,8±0,19	19,9±0,25	19,9±0,25	20,1±0,12

Количество двухядерных гепатоцитов на 100 клеток	15,2±0,74	16,1±0,87	16,4±0,74	16,5±0,74	16,2±0,87	17,4±0,87	15,1±0,87	17,5±0,87*	17,0±0,99
---	-----------	-----------	-----------	-----------	-----------	-----------	-----------	------------	-----------

Примечание: * P<0,05, ** P<0,01, *** P<0,001. Достоверность различия по сравнению с контрольной группой

Таблица № 3.2.

Морфометрическая характеристика диаметров внутрипечёночных сосудов в норме, при отдельном воздействии солей тяжёлых металлов и дефолеантов

	d-центральной вены	d-меж дольковых вен	d-меж долько-вых артерий	d-меж дольковых желчных протоков	Поперечный размер синусоидальных капилляров
Контрольная группа	60,55±1,74	29,12±0,868	13,9±0,38	22,5±1,18	10,5±0,25
Соли кадмия через 3 ч	64,1±1,98	28,5±0,87	14,1±0,62	23,2±1,24	12,4±0,49**
Соли кадмия через 24 ч	62,0±1,98	28,6±0,74	14,0±0,62	23,1±1,24	12,1±0,49**
Соли свинца через 3 ч	68,1±2,23*	29,7±0,93	14,3±0,62	23,0±1,24	13,2±0,74**

Соли свинца через 24 ч	63,6±1,98	28,9±0,74	14,0±0,62	23,0±1,24	13,0±0,74**
Бутилкаптакс через 3 ч	66,2±2,60	29,4±0,74	14,6±0,62	24,1±1,24	14,2±0,74***
Бутилкаптакс через 24 ч	67,3±2,48*	31,4±0,87	15,1±0,62	24,6±1,24	14,8±0,74***
Дефолианта дроппа через 3 ч	67,2±2,48*	31,2±0,74	15,1±,62	25,1±1,24	14,7±0,74***
Дефолианта дроппа через 24 ч	69,1±2,73*	29,4±0,74	14,5±0,62	23,5±1,24	14,0±0,74***

Примечание: * P<0,05, ** P<0,01, * P<0,001.**

Достоверность различия по сравнению с контрольной группой .

Таблица № 3.3.

Сравнительная характеристика морфометрических параметров печени, гепатоцитов в норме, при сочетанном введении солей тяжелых металлов и дефолеантов

	Контрольная группа	Соли кадмия и соли свинца через 3 ч	Соли кадмия и соли свинца через 24 ч	Дропп и соли свинца через 3 ч	Дропп и соли свинца через 24 ч	Бутилкаптакс и соли свинца через 3 ч	Бутилкаптакс и соли свинца через 24 ч
Масс крыс	127,6±3,45	127,9±3,54	128,0±3,54	128,4±3,54	128,4±3,54	128,4±3,54	128,5±3,54
Масса печени	8,45±0,34	9,1±0,46	8,9±0,46	9,1±0,44	9,1±0,44	9,3±0,46	9,2±0,49
Массовый коэффициент	6,62±0,18	7,1±0,35	6,95±0,35	7,09±0,35	7,09±0,35	7,25±0,35	7,16±0,35
Размер гепатоцитов	24,3±0,43	26,4±0,49**	25,5±0,56	27,1±0,74**	27,1±0,74**	26,9±0,62**	26,8±0,62**
Площади сечения цитоплазмы	590,5±20,4	632±21,08	628,1±21,08	681,4±27,28*	681,4±27,28*	650,1±27,28	650,5±27,28
Площади сечения ядер	118,6±2,54	124,1±3,22	125,4±3,47	128,4±3,72*	128,4±3,72*	124,4±3,72	124,0±3,47
Ядерно –	20,1±0,25	19,6±0,19	20,0±0,25	18,8±20***	18,8±0,19***	19,1±0,19**	19,1±0,19**

цитоплазматическое отношения							
Количество двух ядерных гепатоцитов на 100 клеток	15,2±0,74	16,5±0,99	16,1±0,99	18,1±0,99*	18,7±0,99**	17,1±0,99	

Примечание: * P<0,05, ** P<0,01, *** P<0,001. Достоверность различия по сравнению с контрольной группой.

Таблица № 3.4.

Морфометрическая характеристика диаметров внутрипечёночных сосудов в норме, при сочетанном введении солей тяжёлых металлов и дефолеантов

	d-центральной вены	d-меж дольковых вен	d-меж дольковых артерий	d-меж дольковых желчных протоков	Поперечный размер синусоидальных капилляров
Контрольная группа	60,55±1,74	29,12±0,868	13,9±0,38	22,5±1,18	10,5±0,25
Соли кадмия и соли свинца через 3 ч	68,0±2,23*	29,4±,74	14,5±0,6	23,4±1,24	14,6±0,74***
Соли кадмия и соли свинца через 24 ч	65,0±2,23	29,0±0,74	14,3±0,62	23,4±1,24	16,1±0,99***
Дефолианта дроппа и соли свинца через 3 ч	68,2±2,73*	33,1±0,74**	15,5±0,62*	26,4±1,24*	16,8±,087***
Дефолианта дроппа и соли свинца через 24 ч	70,1±2,73**	33,2±0,99**	15,5±0,62*	26,1±1,24*	17,1±0,87***
Бутилкаптакс с и соли свинца через 3 ч	67,1±2,23*	31,6±0,74**	15,3±0,62	25,1±1,24	16,2±0,87***
Бутилкаптакс и соли свинца через 24 ч	68,2±2,73*	33,1±0,74**	15,5±0,62*	26,4±1,24*	16,8±0,87***

Примечание: * P<0,05, ** P<0,01, *** P<0,001. Достоверность различия по сравнению с контрольной группой.

ГЛАВА 4. УЛЬТРАСТРУКТУРА ГЕПАТОЦИТОВ И КЛЕТОЧНЫХ СТРУКТУР В НОРМЕ И ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ СОЛЕЙ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ

4.1 Ультраструктура клеток печени в норме

Паренхима печени имеет дольчатое строение. В центре печеночных долек расположены центральные вены, являющиеся начальным звеном печеночных вен. По периферии долек локализуются портальные тракты, в состав которых входит артерия, вена и желчный проток. Паренхима между портальными трактами и центральными венами представлена балками, которые состоят из двух рядов печеночных клеток. Между печеночными балками локализуются синусоидные гемокапилляры. В балке одна сторона гепатоцита обращена к синусоиду (синусоидный полюс), другая сторона обращена к соседнему гепатоциту, между которыми формируются желчные капилляры (билиарный полюс).

При ультрамикроскопическом исследовании у гепатоцитов выявляется неправильная форма, чаще в виде четырехугольника, либо многоугольника (рис. 4.1).

Ядра печеночных клеток округлой формы, располагаются центрально в цитоплазме. Конденсированный хроматин с хорошо выраженной электронной плотностью формирует 1-2 ядрышка. Наиболее многочисленными органеллами в цитоплазме гепатоцитов являются Мх. Они имеют преимущественно округлую форму, умеренную плотность матрикса и небольшое количество короткого криста.

В гепатоцитах представлена хорошо развитая зернистая (ЗЭС) и гладкая (ГЭС) эндоплазматическая сеть. Первая присутствует в виде равномерных профилей, расположенных диффузно по цитоплазме. На наружных мембранах содержатся связанные рибосомы (рис.4.2.). Гладкая эндоплазматическая сеть, в виде микротрубочек, располагается преимущественно в зонах скопления зерен гликогена.

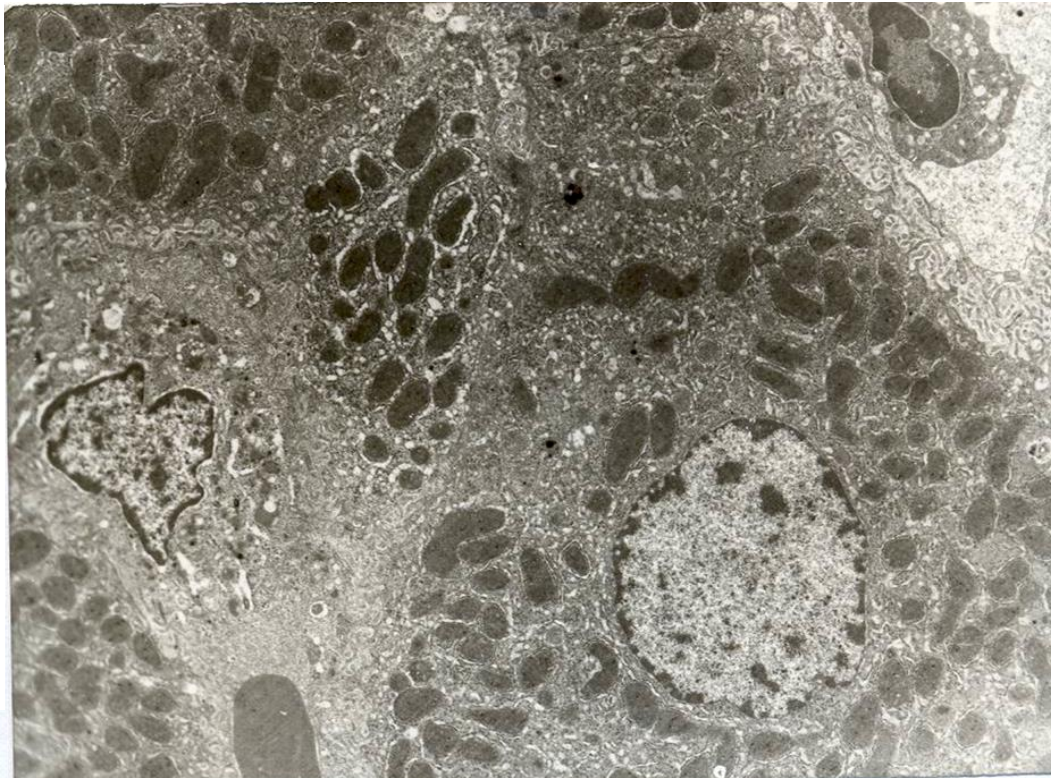


Рис. 4.1. Ткань печени интактной крысы. Ультраструктура гепатоцита многоугольной формы. Трансмиссионная электронная микроскопия (ТЭМ). Ув.х 5000

Аппарат Гольджи представлен двумя компонентами: пластинчатым и везикулярным. Данные структурные образования локализуются в биллиарных полюсах гепатоцитов, вблизи желчных капилляров.

Гепатоциты богаты лизосомами – аутофагосомами. Нередко эти структуры содержат липофусцин. Полюса печеночных клеток, обращенные к синусоидным капиллярам, содержат микроворсинки (рис. 4.3).

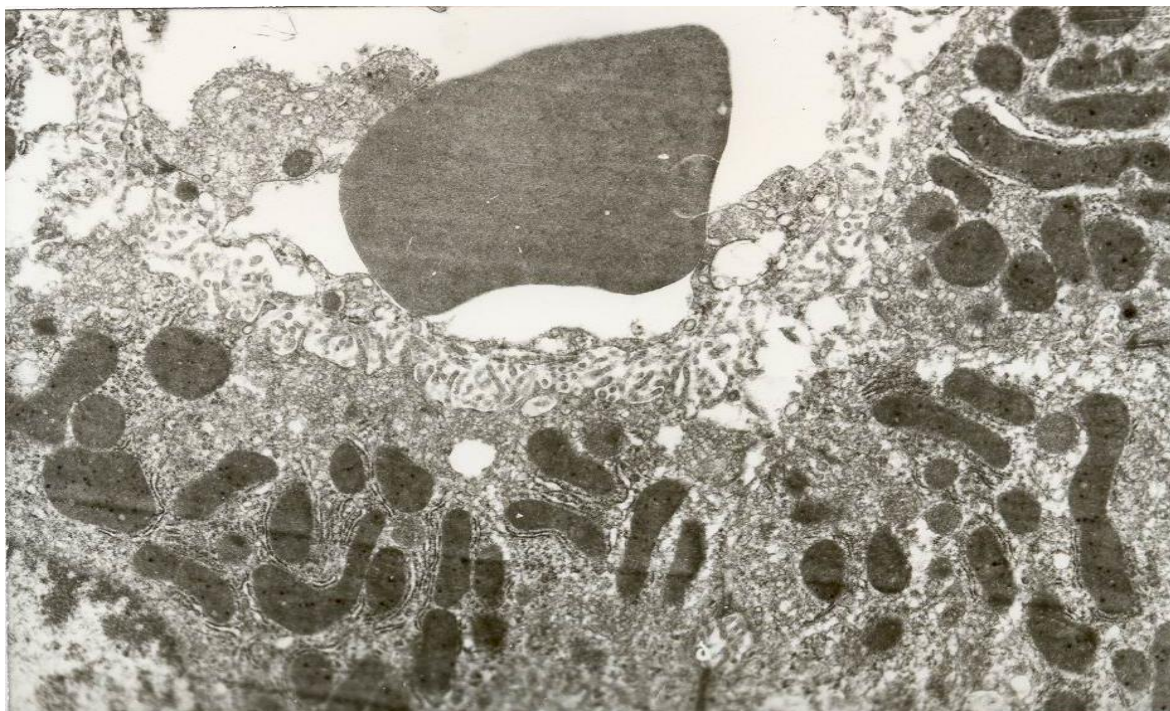


Рис. 4.2. Ткань печени intactной крысы. Ультраструктура митохондрий и зернистой эндоплазматической сети гепатоцитов. ТЭМ. Ув.х 10 000

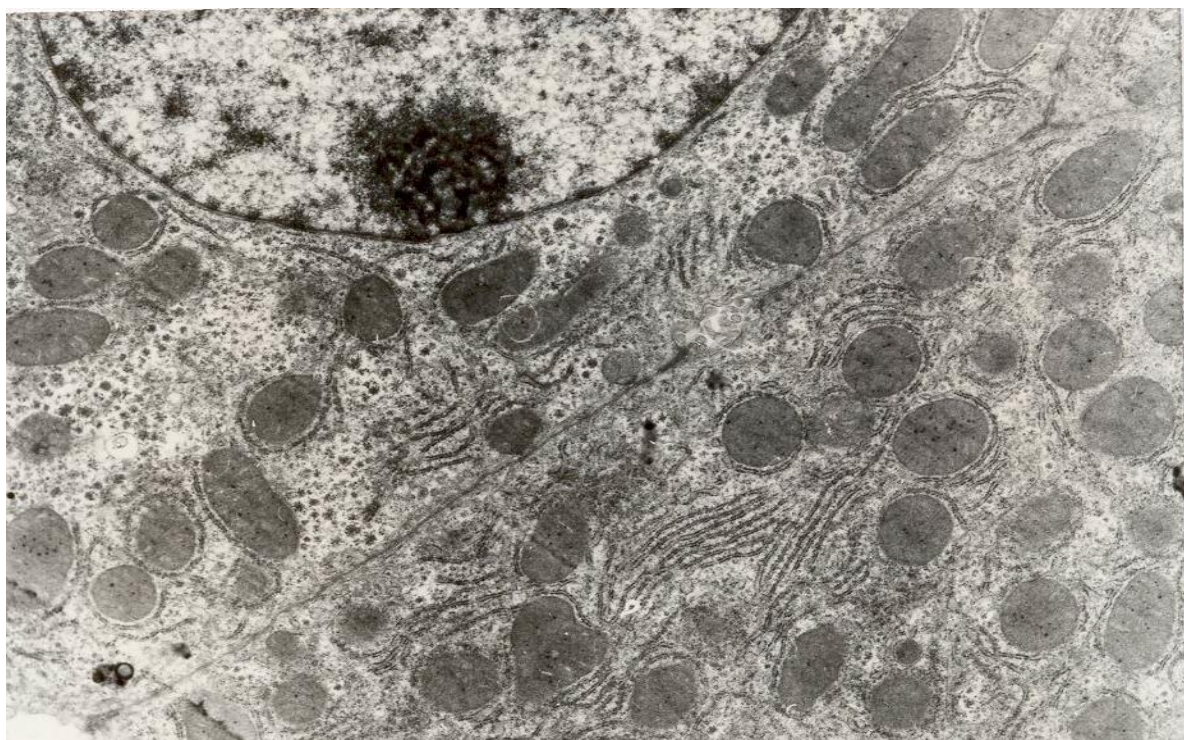


Рисунок 4.3. Ткань печени intactной крысы. Микроворсинки у васкулярного полюса гепатоцита. ТЭМ. Ув.х 10 000

4.2 Влияние тяжелых металлов на ультраструктуру печени.

4.2.1. Ультраструктура гепатоцитов и клеточных структур при воздействии соли кадмия

Проведенное нами исследование морфологии ткани печени после введения животным соли кадмия, через 3 часа показало, что общая структура ее не подвержена дисконкомплексации. Наблюдается умеренное полнокровие синусоидных капилляров, причем на всем протяжении от центральных вен до портальных трактов. Цитоплазма гепатоцитов светлая (рис.4.5.), ядра обычной формы и размеров

При ультраструктурном исследовании ткани печени, в ядрах отмечалось умеренное уменьшение количества конденсированного хроматина, часть ядер не содержало ядрышек, некоторые ядра были неправильной формы (рис. 4.4.).

Количество Мх незначительно уменьшилось, форма его округлая, размеры практически одинаковы. Характерным явилось увеличение электронной плотности матрикса и умеренная гиперплазия крист в части Мх.

Значительно сократилось, в результате действия солей кадмия, количество профилей гранулярной эндоплазматической сети (рис. 4.6), местами она подверглась вакуолизации и фрагментации. В аналогичном состоянии находилась и гладкая эндоплазматическая сеть. Это отразилось на состоянии гликогена в гепатоцитах, количество которого значительно снизилось, отсутствует розеткообразование.

Умеренно расширились просветы желчных протоков. В цитоплазме наблюдались диффузные скопления конгломератов желчи и липофусцина. Синусоидные капилляры находились в состоянии полнокровия.

В целом следует отметить, что при введении животным солей кадмия в большой степени поражаются структуры, ответственные за гетеросинтез.

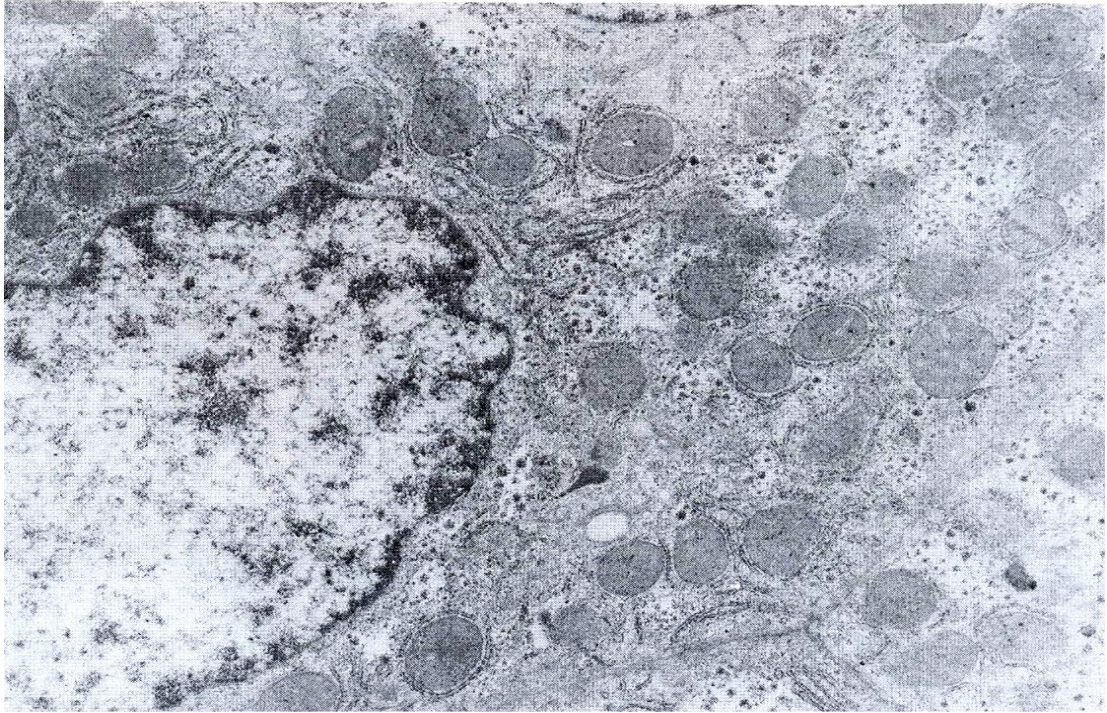


Рисунок. 4.4. Ткань печени крысы, получавшей соль кадмия. Умеренное уплотнение матрикса митохондрий, снижение количество зерен гликогена, появление в цитоплазме конгломератов желчи и липофусцина. ТЭМ. Ув.х 5000



Рисунок 4.5. Ткань печени крысы, получавшей соль кадмия. Гепатоцит со светлым ядром с небольшим удельным весом конденсированного хроматина. ТЭМ. Ув.х 10 000

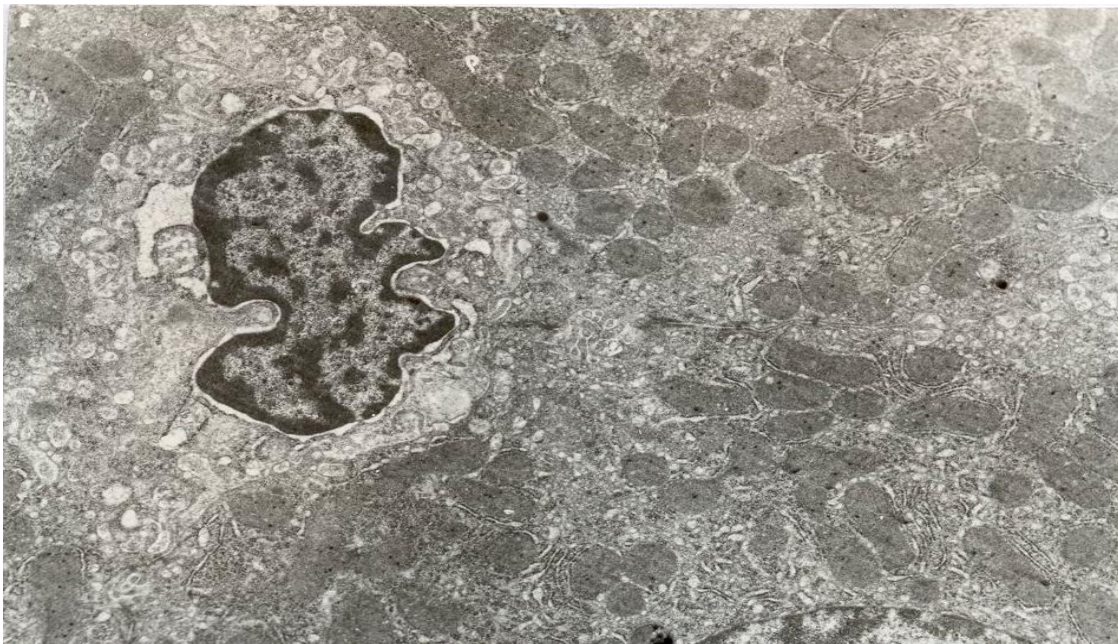


Рисунок 4.6. Ткань печени крысы, получавшей соль кадмия.

**Отек и вакуолизация компонентов эндоплазматической сети. ТЭМ. Ув.х
10 000**

Через 24 часа после введения соли кадмия, в цитоплазме гепатоцитов уменьшилось число мелких вакуолей, ядра мономорфны, при этом следует отметить некоторое увеличение их хромотропности. Нередко наблюдались двоядерные гепатоциты. Ядра примерно одинаковых размеров, усилилась электронная плотность хроматина, особенно это касалось его конденсированного компонента. В значительной части ядер визуализировались ядрышки в количестве 1-2.

Эндоплазматическая сеть имеет много вакуол (рис. 4.7), но в количественном отношении значительно меньше, чем в 3 часовой срок. Это касается и гладкой эндоплазматической сети. Следствием нормализации этой внутриклеточной мембранной структуры является некоторое увеличение содержания зерен гликогена в цитоплазме. Снизилось содержание в клетках конгломератов липофусцина и компонентов желчи.

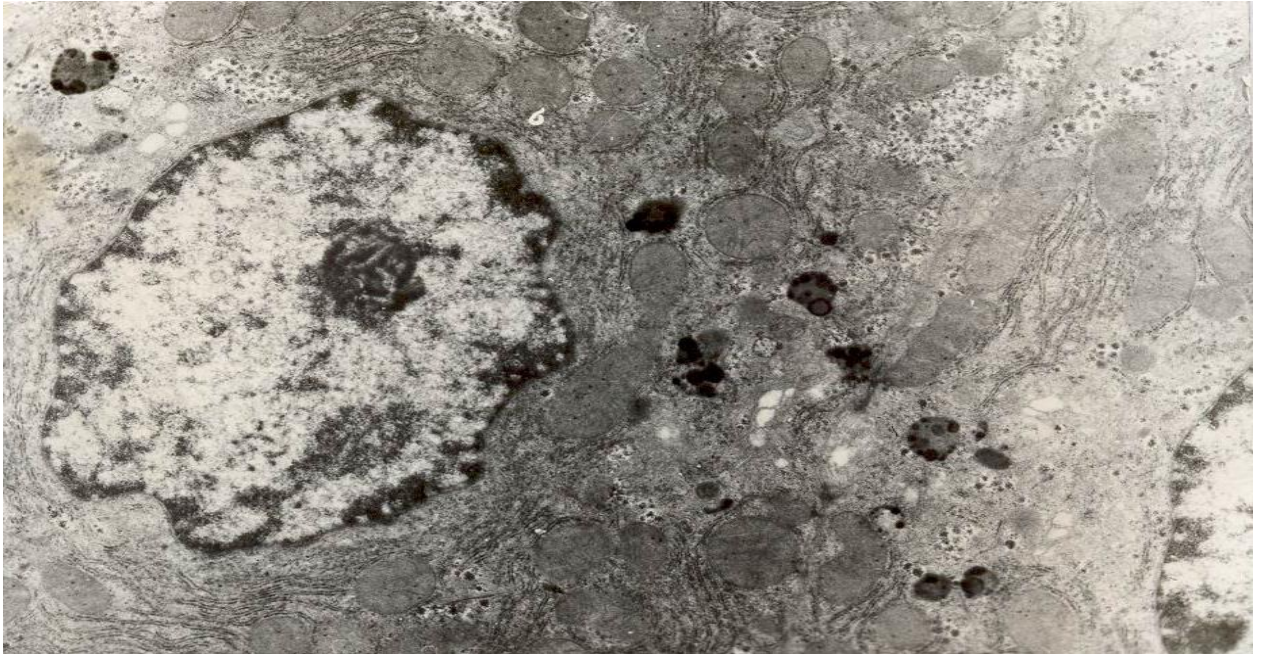


Рисунок 4.7. Ткань печени крыс через 24 часа после введения соли кадмия. Гепатоциты с хорошо развитыми митохондриями, компонентами зернистой эндоплазматической сети и комплекса Гольджи. ТЭМ. Ув. x 12 000



Рисунок 4.8. Ткань печени крыс через 24 часа после введения соли кадмия. Гепатоцит со стабильными внутриклеточными органоидами и гликогеновыми включениями. ТЭМ. Ув. x 12 000

Mx одинакового диаметра, округлой формы. Матрикс умеренно просветлен, однако признаки деструкции Mx и их компонентов не обнаружались.

В гепатоцитах данной группы экспериментальных животных увеличена длина профилей зернистой эндоплазматической сети, умеренно расширены профили везикулярного компонента комплекса Гольджи (рисунок 4.7.), с концентрацией в биллиарном полюсе компонентов желчи и липофусцина. Увеличено содержание в цитоплазме зерен гликогена (рисунок 4.8).

Таким образом, после введения в организм соли кадмия, через сутки в гепатоцитах обнаруживаются признаки более высоких темпов восстановления внутриклеточных ультраструктур, что косвенно свидетельствует об этом.

4.2.2. Ультраструктура гепатоцитов и клеточных структур при воздействии соли свинца

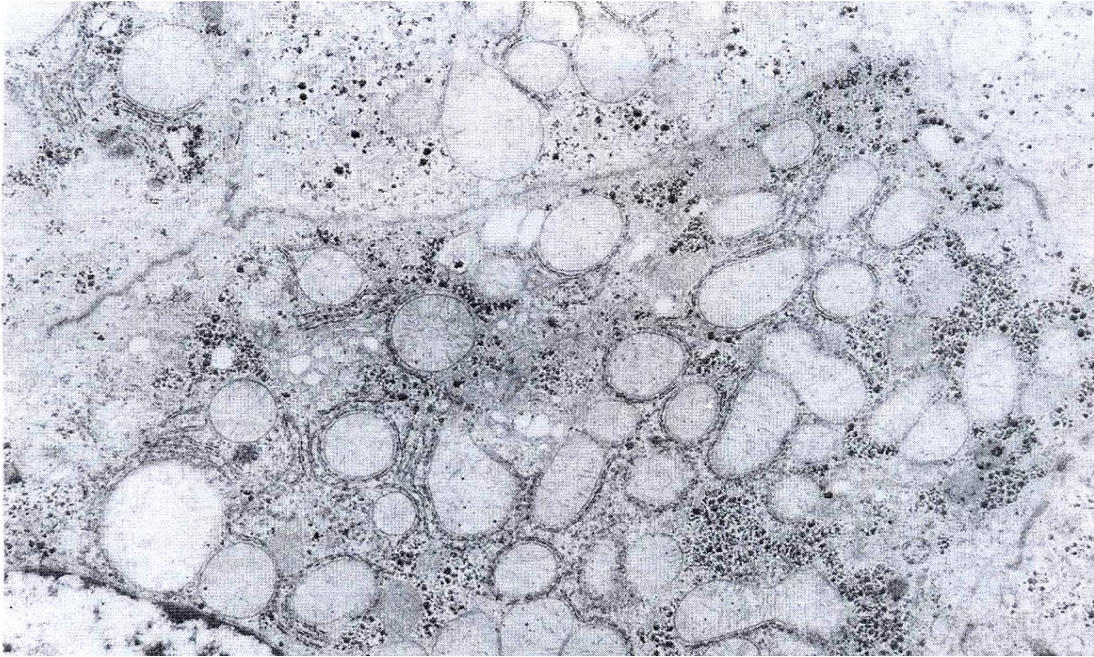
Депонирование свинца в костях зависит в значительной мере от функционирования клеток костной ткани – остеокластов и остеобластов. В связи с этим изучено воздействие соединений, меченных радиоактивным свинцом, на культуры этих клеток *in vitro*. Установлено, что при 6,5-65 мкмоль/л ацетата свинца остеокласты быстрее и в больших количествах, чем остеобласты, абсорбируют свинец из питательной среды. В течении 2 часов остеокласты высвобождают до 30 % свинца в среду. Интересно, что скорость абсорбции кальция остеокластами возрастает линейно с увеличением концентрации свинца в среде. Из этих данных можно сделать вывод, что остеокласты определяют взаимодействие свинца с костной тканью и могут в значительной степени влиять на метаболизм кальция в организме. В связи с вышеизложенным нами было исследовано влияние однократного выведения животным соли свинца на морфологический статус гепатоцитов крыс через 3 и 24 часа после интоксикации.

Однократное введение крысам ацетата свинца – $Pb(CH_3COO)_2$ через 3 часа приводит к определенным патологическим изменениям в структуре

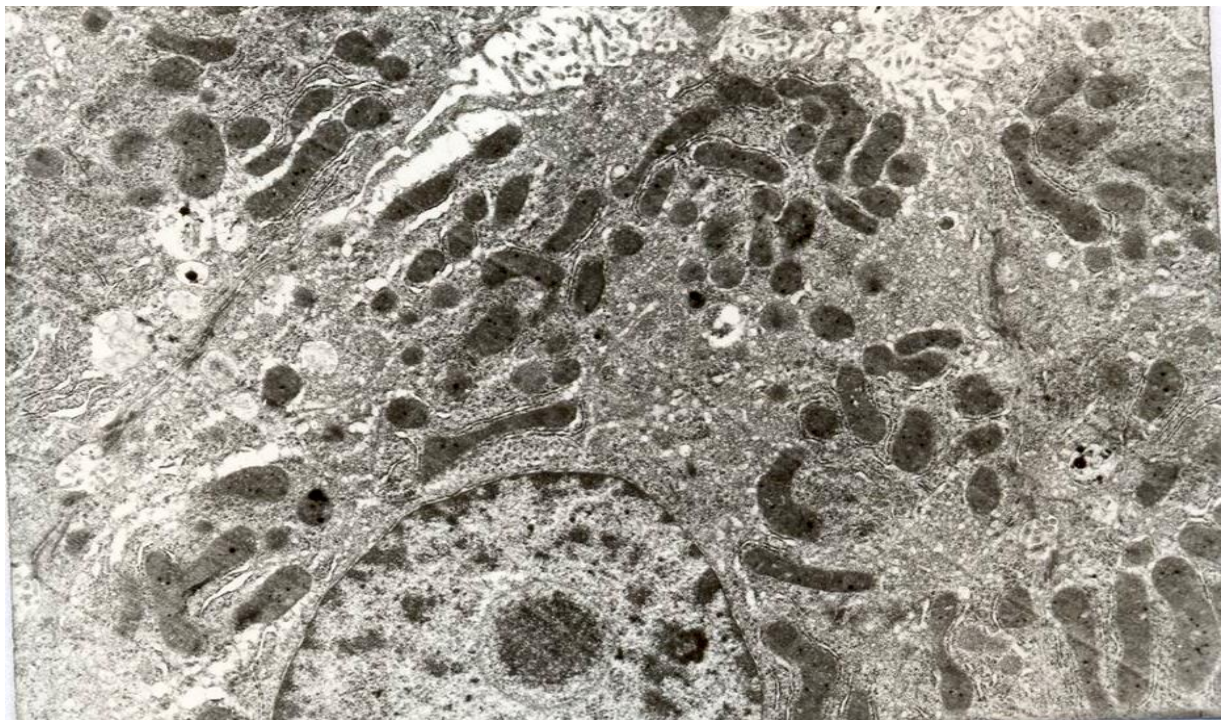
органов. Наиболее выраженные изменения выявлены при исследовании ткани методом трансмиссионной электронной микроскопии.

Балочное строение паренхимы сохранено, отмечается умеренное полнокровие центральных вен и прилегающих синусоидных капилляров. Имеет место незначительное просветление цитоплазмы, следствием наличия в последней слабо выраженной мелко вакуольной дистрофии. При этом следует отметить, что наиболее выражено оно в центральных отделах печеночных долек и практически не определяется в перипортальных зонах. Ядра примерно одинаковых размеров, у части наблюдается слабая гипохромия, нередко встречаются и двуядерные гепатоциты.

Ядра гепатоцитов умеренно полиморфны, отмечается некоторое снижение электронной плотности хроматина. Часть ядер содержит по 2 ядрышка. Наиболее выражены патологические изменения в Мх. Практически во всех печеночных клетках наблюдается умеренная отёчность Мх, которая проявляется в незначительном просветлении матрикса, в увеличении его размеров (рис. 4.9). Снижается их количественное содержание, форма часто в виде неправильного овала. Кристи либо исчезают, либо фрагментированы. Весьма редко встречаются внутримитохондриальные гранулы (рис 4.10 и рис. 4.11). Единичные Мх подвергаются деструкции с нарушением целостности их мембран.



**Рисунок 4.9. Ткань печени крысы, получавшей соль свинца.
Отёк митохондрий, вакуолизация зернистой эндоплазматической сети,
снижение количества зерен гликогена. ТЭМ. Ув.х 5000**



**Рисунок 4.10. Ткань печени крысы, получавшей соль свинца.
Отёк митохондрий, появление в них гранул различной
электронной плотности. ТЭМ. Ув.х 10 000**

В гранулярной эндоплазматической сети гепатоцитов отмечалось количественное сокращение профилей. Местами последние были вакуолярно

расширены. Преимущественная локализация ГЭС – вокруг Мх. Количество ассоциированных с мембранами рибосом было уменьшено.

Гладкая эндоплазматическая сеть также подвергалась очаговой редукции, оставшиеся профили нередко были подвержены вакуолярному расширению. При этом в цитоплазме отмечалось снижение содержания зерен гликогена.

В цитоплазме гепатоцитов можно было наблюдать единичные, диффузно расположенные мелкие липидные вакуоли, сосредоточенные в билиарных полюсах. Просветы синусоидных капилляров были расширены, заполнены форменными элементами крови. Пересинусоидные пространства (Диссе) узкие, в их просвете выступали короткие, тонкие микроворсинки.

Ядра звездчатых ретикулоэндотелиоцитов с крупными ядрами, с усилением электронной плотности конденцированного хроматина (рис.4.12).



**Рисунок 4.11. Ткань печени крысы, получавшей соль свинца.
Отёк митохондрий, появление в них гранул различной электронной
плотности. ТЭМ. Ув.х 10 000**

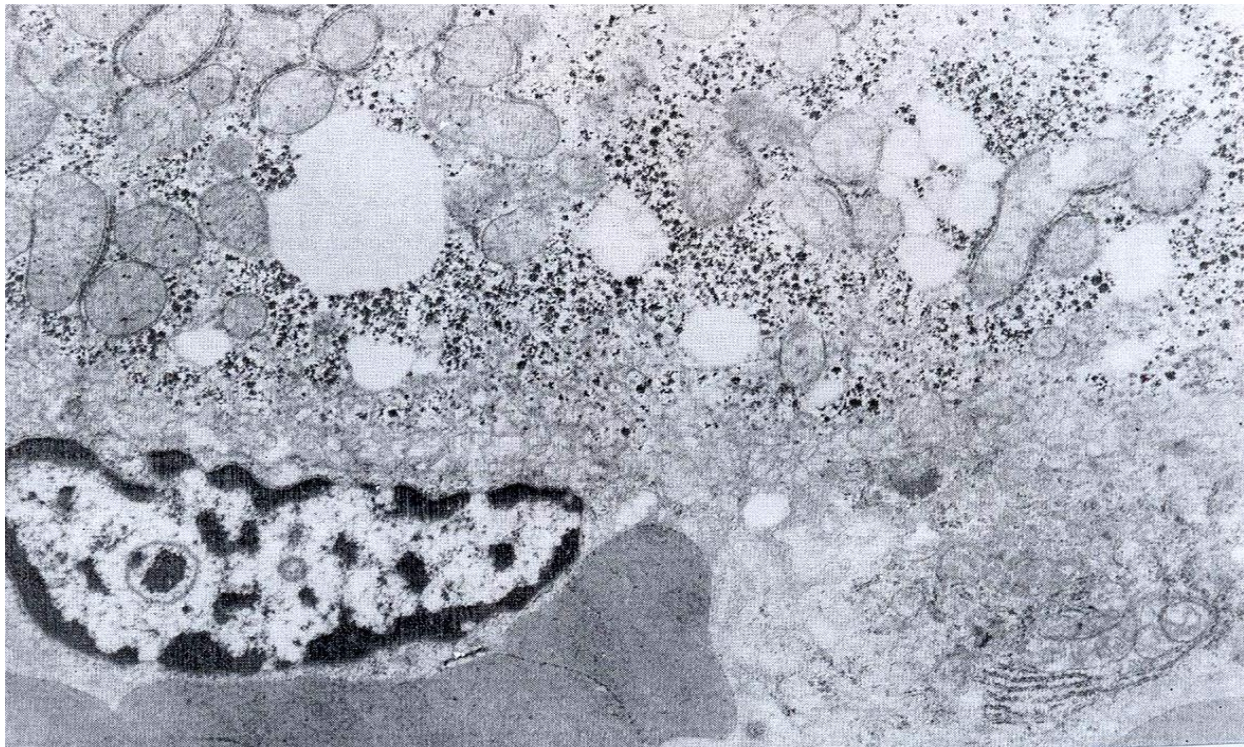


Рисунок 4.12. Ткань печени крысы, получавшей соль свинца. Выраженное полнокровие синусоидного капилляра, активация звёздчатого эндотелиоцита (клетки Купфера) ТЭМ. Ув.х 5000

Через 24 часа после введения свинца, в цитоплазме гепатоцитов стало количественно меньше мелких вакуолей, ядра мноморфны, при этом следует отметить некоторое увеличение их хроматропности. Нередко наблюдались двуядерные гепатоциты. Наиболее демонстративно указанные изменения проявлялись при электронномикроскопическом исследовании. Ядра примерно одинаковых размеров, усилилась электронная плотность хроматина, особенно это касается его конденсированного компонента. В значительной части ядер визуализировались ядрышки в количестве 1-2.

Часть профилей зернистой эндоплазматической сети осталась в состоянии вакуолизации (рис. 4.13), но в количественном отношении значительно меньшем, чем в 3 часовой срок. Это касается и гладкой эндоплазматической сети. Следствием нормализации этой внутриклеточной мембранной структуры явилось некоторое увеличение содержания зерен

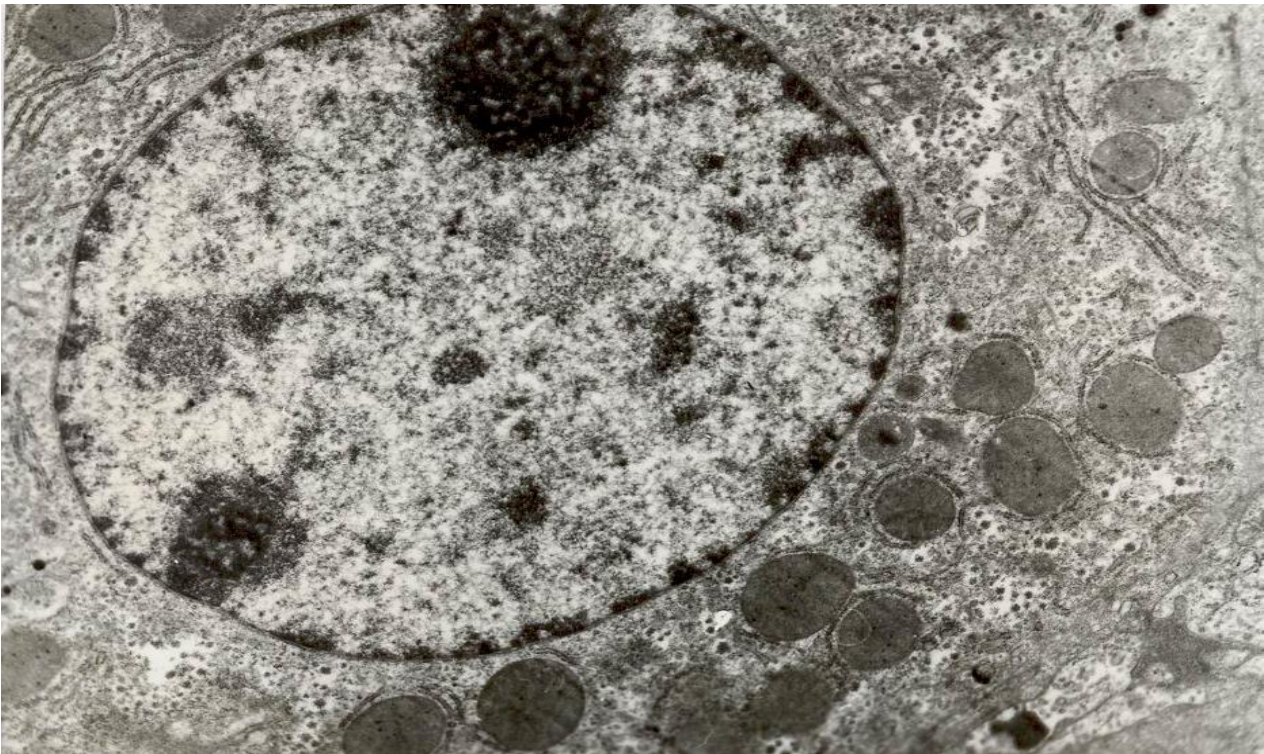
гликогена в цитоплазме. Снизилось содержание в клетках конгломератов липофусцина и компонентов желчи.



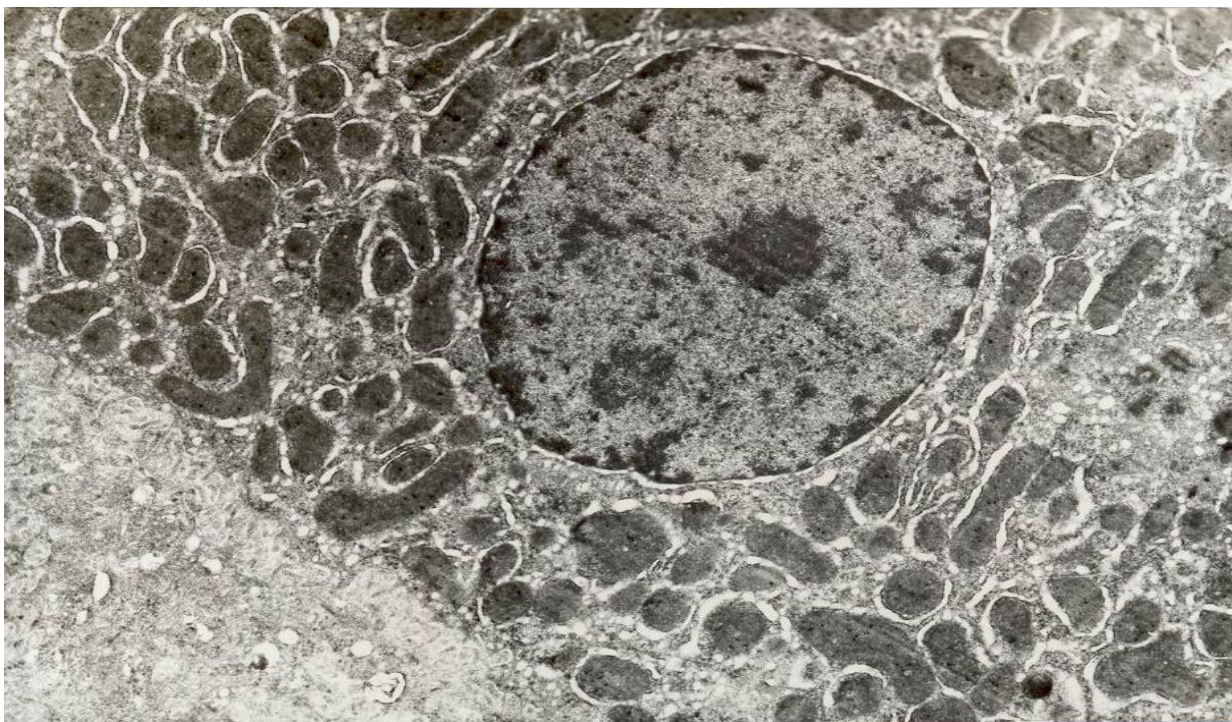
Рисунок 4.13. Ткань печени крысы через 24 часа после введения свинца. Гепатоциты с хорошо визуализированными ядрышками. ТЭМ. Ув.х 10 000

Мх одинакового диаметра, округлой формы. Матрикс умеренно просветлен, однако признаки деструкции Мх и их компонентов не обнаружались. Матрикс, с наличием тонких длинных крист. Не было признаков их деструкции и миелиновой дегенерации (рис. 4.14, 4.15).

Таким образом, наиболее уязвимыми ультраструктурами при свинцовой интоксикации в ранние сроки, являются Мх. Последние подвержены количественному уменьшению и деструкции различной степени выраженности.



**Рисунок 4.14. Ткань печени крысы через 24 часа после введения свинца.
Гепатоцит с двумя хорошо визуализированными ядрышками.
Митохондрии отёчны. ТЭМ. Ув.х 12 000**



**Рисунок 4.15. Ткань печени крысы через 24 часа после введения свинца.
Часть митохондрий и компонентов эндоплазматической сети
вакуолизированы. ТЭМ. Ув.х 10 000**

4.2.3. Ультраструктура гепатоцитов и клеточных структур при сочетанном введении солей свинца и кадмия.

Сочетанное введение препаратов свинца и кадмия приводит к изменениям в структуре гепатоцитов, которые характерны для каждого отдельно, но вместе с тем имеют новые признаки.

При ультрамикроскопическом исследовании отмечается выраженное снижение электронной плотности хроматина ядер, с уменьшением его конденсированного компонента (рис. 4.16). Мх увеличены в размерах, матрикс их несколько просветлен, значительно возрастает количество крист (рис. 4.17).

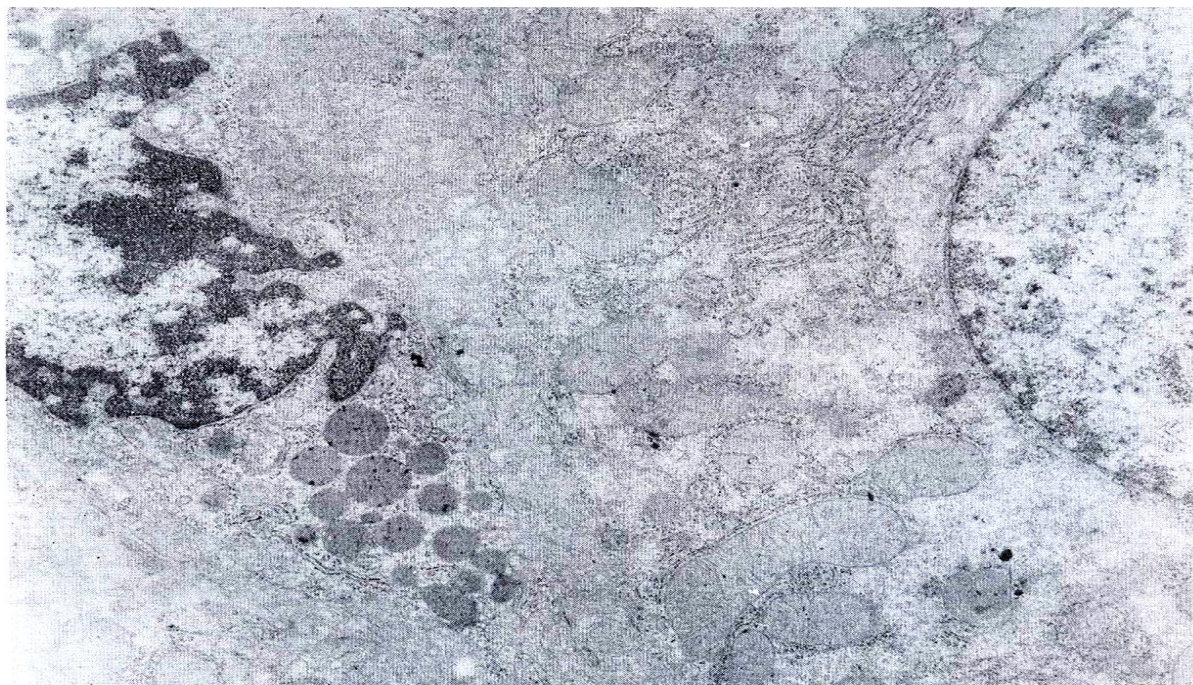


Рис 4.16. Печень крысы, получавшей перорально совместно соли свинца и кадмия. Выраженная гиперплазия крист митохондрии, отсутствие зерен гликогена, в околядерной зоне нежнохлопьевидные массы. Удельная часть конденсированного хроматина в ядре невелика. ТЭМ.

Ув.х 5000



Рисунок 4.17. Печень крысы, получавшей перорально совместно соли свинца и кадмия. Митохондрии гепатоцита со значительным числом крист. ТЭМ. Ув.х 10 000

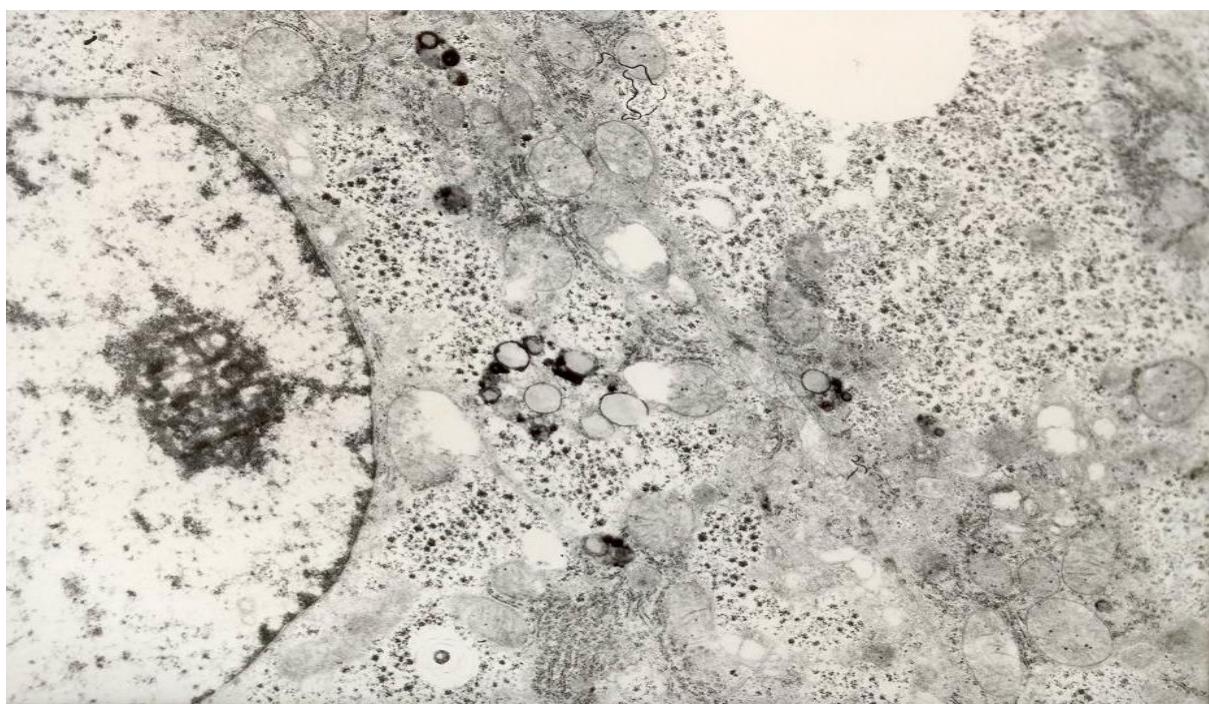


Рисунок 4.18. Печень крысы, получавшей перорально совместно соли свинца и кадмия. Гепатоцит нежнохлопьевидными слабоэлектронноплотными массами. ТЭМ. Ув.х 12 000

Сокращается протяженность профилей гладкой и гранулярной эндоплазматических сетей, в цитоплазме практически отсутствуют зерна гликогена. В цитоплазме появляются участки, заполненные нежнохлопьевидными, слабоэлектронноплотными массами (рис.4.18). Синусоидные капилляры полнокровны, звездчатые макрофаги в состоянии активации.

Таким образом, сочетанное введение данных солей приводит к их взаимнопотенцирующему эффекту, вызывая патологические нарушения в ультраструктуре гепатоцитов, и прежде всего - в тех компонентах, которые ответственны за осуществление биоэнергетических и биосинтетических функций.

ГЛАВА 5. УЛЬТРАСТРУКТУРА ГЕПАТОЦИТОВ И КЛЕТОЧНЫХ СТРУКТУР ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ПЕСТИЦИДОВ И ПРИ СОВМЕСТНОМ ВВЕДЕНИИ СОЛЕЙ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ

5.1. Морфологические изменения гепатоцитов при введении животным бутилкаптакса

Значительное количество соединений из группы тиазолов широко используется в качестве дефолиантов хлопчатника и других сельскохозяйственных культур. Наиболее активным и широко используемым среди них является бутилкаптакс – 2-бутилтиобенотиазол. Бутилкаптакс не оказывает негативного действия на урожайность хлопчатника, качество волокна и семян. Бутилкаптакс является дефолиантом мягкого действия в хлопководстве, особенно для тонковолокнистых, с широким диапазоном эффективных доз (5-15 кг\га).

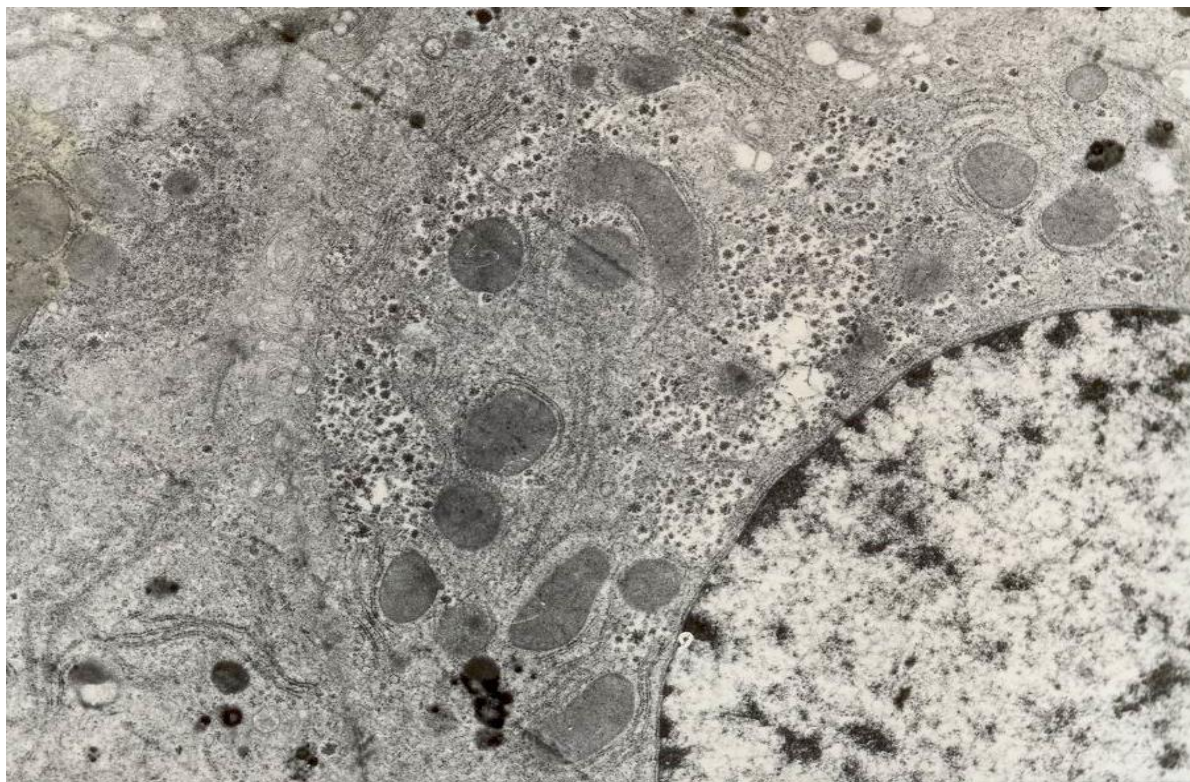
Он может быть использован и при дефолиации плодовых деревьев и саженцев. Бутилкаптакс относится к малотоксичным пестицидам – ЛА₅₀ для крыс составляет 1300 мг/кг. Обнаружено, что при интоксикации бутилкаптаксом нарушаются функции Мх печени.

При введении бутилкаптакса крысам, через 3 часа патологические изменения в структуре печени были мало выражены и заключались в умеренном полнокровии синусоидных капилляров и центральных вен. Преимущественно в центральных долек, в цитоплазме гепатоцитов наблюдалась мельковакуолярная дистрофия. В данной группе животных также отмечалась активация элементов ретикулоэндотелиальной системы печени.

В ядрах гепатоцитов, через 3 часа после введения животным бутилкаптакса, снижалось содержание хроматина, с умеренной тенденцией его к маргинации. Перинуклеарные пространства и ядерные поры узкие, размеры ядер варьировались. Основные изменения патологического характера касались Мх и эндоплазматической сети. Мх были различной величины, в них превалировала палочковидная форма, несколько

увеличенная в размерах. Матрикс был значительно просветлен, в части Мх просматривались кристы, притом в состоянии гиперплазии, гликогеновых включениях в цитоплазме (рис. 5.1).

Гранулярная эндоплазматическая сеть, через 3 часа после введения животным бутылкаптакса, стала значительно редуцирована количественно, частично фрагментирована, наблюдалось сниженное содержание ассоциированных с мембранами рибоса. Гладкая эндоплазматическая сеть локальна с расширением профилей. В цитоплазме было умеренно снижено содержание гликогена, имеющегося в наличии, расположенного равномерно на площади среза клетки.



**Рисунок 5.1. Ткань печени крыс при введении бутылкаптакса.
Митохондрии гепатоцита с различной электронной плотностью.
Включения гликогена в цитоплазме. ТЭМ. Ув. x 14 000**

Нередко в билиарных полюсах печеночных клеток можно наблюдать скопления липофусцина и компонентов желчи.

Отмеченное выше изменение морфологического статуса гепатоцитов продолжает развиваться и по истечении 24 часов после введения бутилкаптакса. В частности, светооптически общее, характерное для печени строение паренхимы сохранено, ядра гепатоцитов незначительно отличаются в диаметре. Для микроциркуляторного русла печени, в данной экспериментальной группе, характерно неравномерное полнокровие синусоидных капилляров. Для цитоплазмы гепатоцитов через 24 часа после введения животным бутилкаптакса характерна зернистость различной степени выраженности, местами мелкая вакуолизация. В перипортальных зонах наблюдается слабо выраженный отёк.

При ультраструктурном исследовании гепатоцитов, через 24 часа после введения животным бутилкаптакса, выявляются ядра со сниженным количеством хроматина, особенно его конденсированной части. Ядра содержат 1-2 ядрышка, размеры которых уменьшены. Единичные печеночные клетки содержат ядра в состоянии пикноза (рис. 5.2).



Рисунок 5.2. Ткань печени крыс при введении бутилкаптакса.

Превалирование эухроматина в ядрах гепатоцитов. ТЭМ. Ув. x 10 000

Мх количественно уменьшены, преимущественно палочковидной формы. В части гепатоцитов наблюдается значительная плотность матрикса, в другой части – умеренное увеличение электронной плотности. Однако ни в одном, ни в другом случае кристы не выявляются.

Зернистая эндоплазматическая сеть подвержена сокращению, со снижением количества связанных с мембранами рибосом. Профили гладкой эндоплазматической сети расширены. Гликогена в цитоплазме очень мало.

Синусоидные капилляры неравномерно расширены, перисинусоидные пространства также различной величины.

5.2. Структура гепатоцитов после введения дефолианта дроппа.

Через 3 часа после введения животными дефолианта дроппа, балочное строение печени сохранено. Ядра гепатоцитов примерно одинаковых размеров, умеренно гипохромны. Наблюдается умеренное расширение просвета синусоидных капилляров. Пересинусоидные пространства не визуализируются. Среди элементов выстилки синусоидных капилляров нередко встречаются звездчатые ретикулоэндотелиоциты с увеличенными, гиперхромными ядрами. Цитоплазма гепатоцитов несколько просветлена, имеет слабую зернистость.

Ядра гепатоцитов, при электронномикроскопическом исследовании через 3 часа после введения дроппа, имеют ослабленную электронную плотность хроматина, особенно это касается его конденсированной части.

Ядрышки преимущественно мелкие, часть клеток содержит их по два. Имеются мелкие внутриядерные включения, локализованные вблизи ядерной оболочки (рис. 5.3). Основная масса Мх небольших размеров, чаще палочковидной формы, с выраженным электронным уплотнением матрикса. Кристы в них визуализируются редко (рис. 5.4- 5.5).

Зернистая эндоплазматическая сеть гепатоцитов через 3 часа после введения животным дроппа подвержена редукции, вакуольному расширению и фрагментации. В аналогичном состоянии находятся и профили ГЭС. В цитоплазме гепатоцитов практически отсутствуют зерна гликогена.



Рисунок 5.3. Ткань печени крыс при введении дефолианта дроппа. Васкулярный полюс гепатоцита с хорошо развитыми ядрышками, матриксами митохондрий и эндоплазматической сети. ТЭМ. Ув. x 12 000



Рисунок 5.4. Ткань печени крыс при введении дефолианта дроппа. Гепатоцит с палочкообразными митохондриями с электронно-плотными матриксами. ТЭМ. Ув. x 12 000

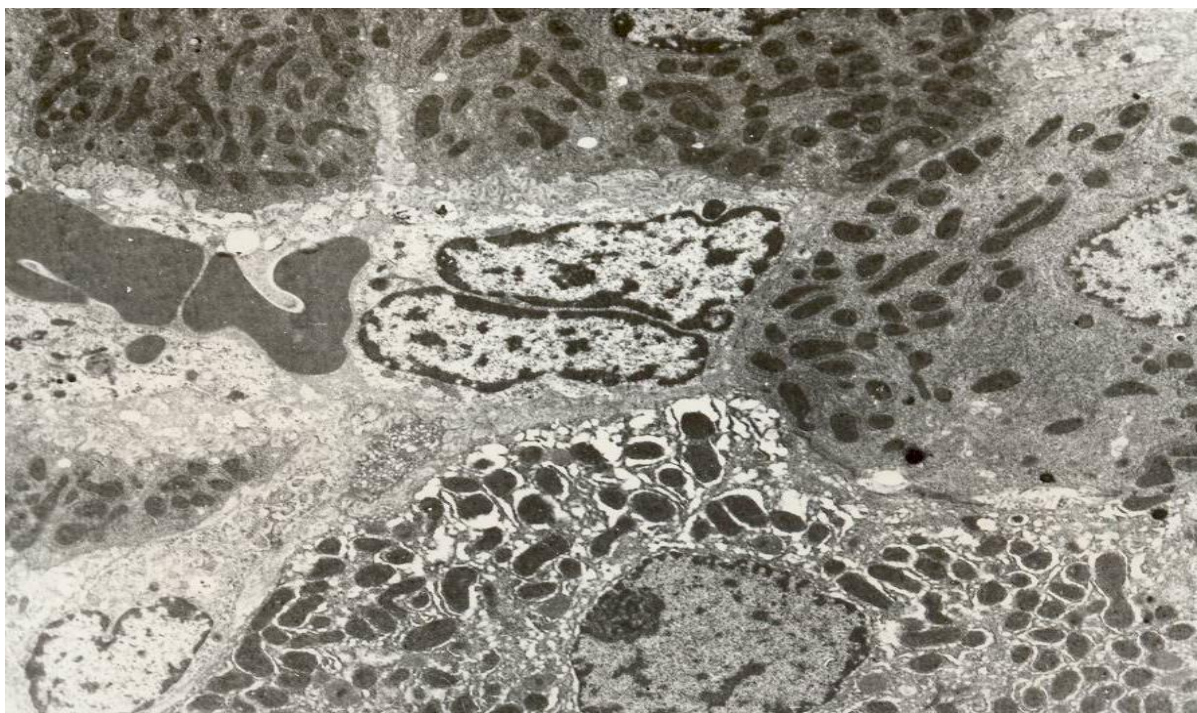


Рисунок 5.5. Ткань печени крыс через 3 часа после введения дефолианта дроппа. Гепатоциты многоугольной формы с электронно-плотными митохондриями. ТЭМ. Ув. x 5 000

Расширению подвержены и профили везикулярного компонента пластинчатого комплекса (рис. 5.6). Цитоплазматический матрикс клеток, через 3 часа после введения животным дроппа, несколько разрыхлен. Мало лизосом как первичных, так и аутофагосом.

Умеренно расширены просветы синусоидных капилляров и пересинусоидных пространств, которые заполнены тонкими длинными микроворсинками. Ядра купферовских клеток увеличены с усилением плотности хроматина (рис. 5.7. и рис. 5.8.).

Основными признаками патологии, определяемые светооптически, через 24 часа после введения животным дефолианта дроппа, являются: полнокровие центральных вен и синусоидных капилляров, очистки сосудов портальных трактов, а также дистрофические изменения в гепатоцитах.



Рисунок 5.6. Ткань печени крыс через 3 часа после введения дефолианта дроппа. Гепатоцит с вакуольной дистрофией эндоплазматической сети и отсутствием включений гликогена. ТЭМ.

Ув. x 10 000

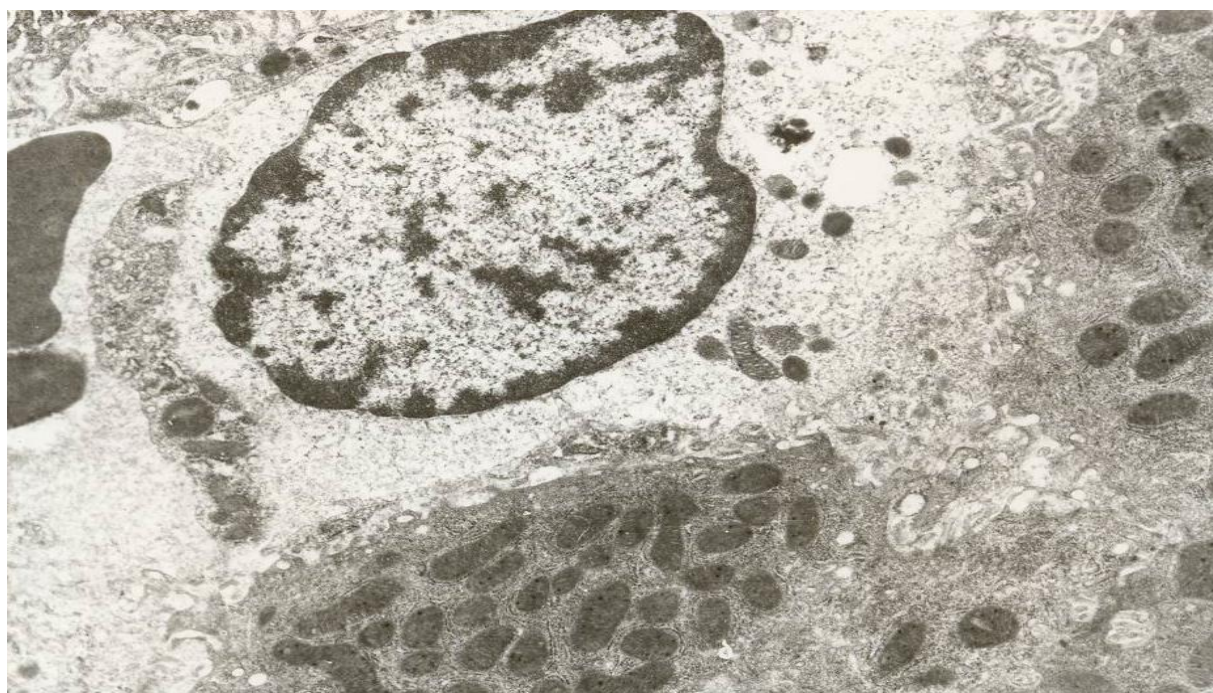


Рисунок 5.7. Ткань печени крыс через 3 часа после введения дефолианта дроппа. Ультраструктура Купферовской клетки печени, между нею и гепатоцитом некоторая отёчность, хорошо развиты микроворсинки гепатоцитов. ТЭМ. Ув. x 10 000



Рисунок 5.8. Ткань печени крыс через 3 часа после введения дефолианта дроппа. Звездчатая Купферовская клетка с хорошо развитыми лизосомами. ТЭМ. Ув. x 10 000

Печеночные клетки несколько уменьшены в размерах, расширены и отечны межклеточные промежутки. Гепатоциты имеют мозаичность относительно степени пораженности: в одних выражена зернистость, а в других наблюдается выраженное просветление цитоплазмы.

Электронномикроскопически, через 24 часа после введения животным препарата дропп, в гепатоцитах наблюдаются ядра с различными размерами, со снижением электронной плотности. У большинства ядер края изрезаны, хроматин расположен по периферии (рис. 5.9.).

Мх у части гепатоцитов значительно уменьшены в размерах, с выраженным уплотнением матрикса без визуализации крист. В единичных печеночных клетках вокруг Мх формируются вакуоли. В другой части клеток Мх увеличены в размерах, с просветлением матрикса и единичными кристами. Количество сокращено. В обоих типах гепатоцитов уменьшено содержание профилей ЗЗС и ГЗС, обе эндоплазматические сети подвержены вакуолизации. Практически отсутствует гликоген.

Желчные капилляры расширены, в просветах присутствуют тонкие микроворсинки. Нередки в цитоплазме скопления липофусцина и компонентов желчи. Первый локализуется диффузно в цитоплазме, второй – в билиарной зоне.

Таким образом, сравнительно с 3 часовым интервалом после введения животным дефолианта дроппа, через сутки наблюдаются более обширные и выраженные изменения в структурном статусе гепатоцитов, свидетельствующие о существенном поражении энергетических биосинтетических и секреторных процессов.

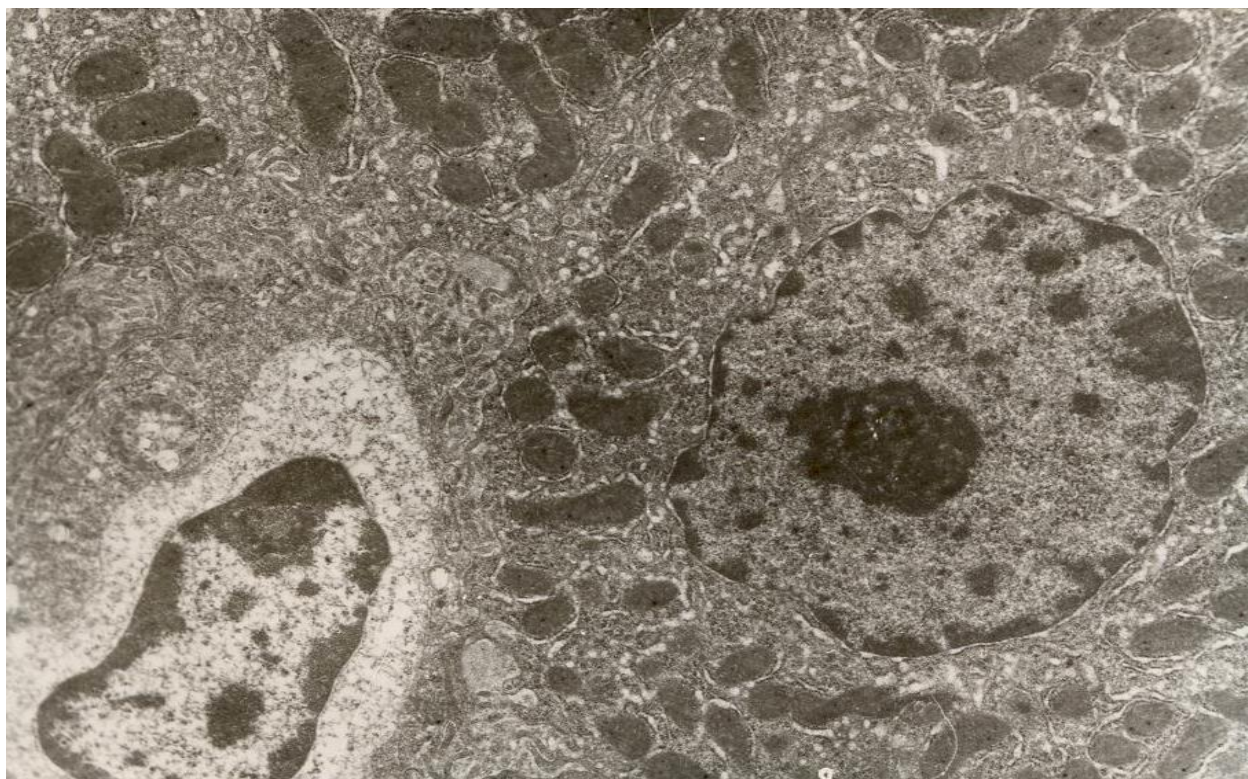


Рисунок 5.9. Ткань печени крыс через 24 часа после введения дефолианта дроппа. Ядро гепатоцита с конденсированным хроматином у кариолеммы, хорошо развиты ядрышки. ТЭМ. Ув. x 10 000

5.3. Структурный статус гепатоцитов при совместном введении животным дроппа и свинца

Как уже отмечалось, совместное введение двух токсикантов (соли кадмия и свинца) приводит к их взаимно потенцирующему эффекту в

отношении поражения структурных компонентов печени. В связи с этим представляло определенный интерес дальнейшее исследование данного взаимовлияния на примере совместного введения животным дроппа и соли свинца. Последний, в экологическом отношении, является довольно распространенным загрязнителем, в том числе и в зонах хлопководства, где может применяться в качестве дефолианта дроппа. Влияние свинца на ультраструктуру гепатоцитов в условиях отдельного введения животным описано ранее. Через 3 часа, после сочетанного введения животным дроппа и свинца, светооптически в печени наблюдается сохранность балочного строения паренхимы. Умеренно полнокровны сосуды портальных трактов, синусоидные капилляры, а также центральные вены. Характерным признаком при такой постановке экспериментов, является появление слабых лимфоидноклеточных инфильтратов портальных трактов, местами – с проникновением в паренхиму.

В инфильтратах нередко к основным клеточным элементам – лимфоцитам примешиваются сегментоядерные нейтрофилы. Ядра гепатоцитов с очень слабым полиморфизмом, цитоплазма местами содержит слабую зернистость на фоне общего просветления цитоплазмы (рис. 5.10).

Митохондрия гепатоцитов, через 3 часа после сочетанного введения животным препаратов дроппа и свинца, имеют преимущественно уменьшенный диаметр, смешанную форму (круглые и палочковидные). Матрикс их умеренно уплотнен, кристы практически не определяются.

Зернистая эндоплазматическая сеть количественно сокращена, частично фрагментирована и вакуолизирована. Аналогичным изменениям подвержена и гладкая эндоплазматическая сеть (рис. 5.11). Значительно снижено количество гликогена.

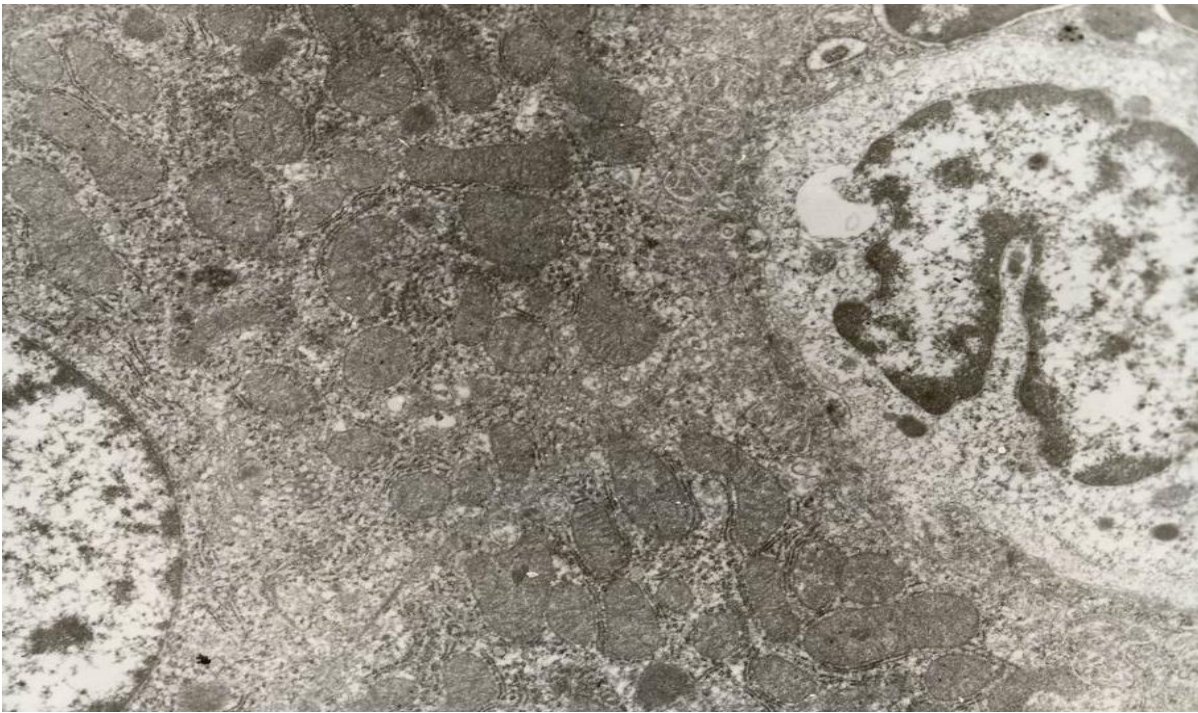


Рисунок 5.10. Ткань печени крыс при совместном введении дроппа и свинца. Ультраструктурный полиморфизм гепатоцитов ТЭМ. Ув. x 10 000

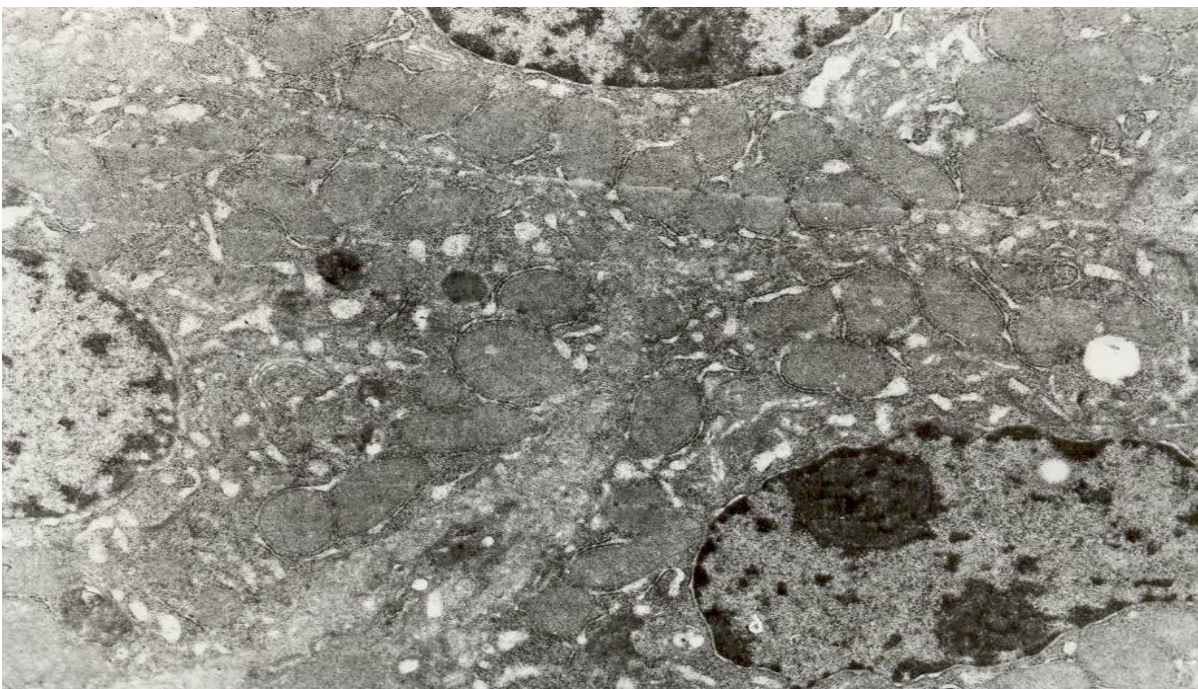


Рисунок 5.11. Ткань печени крыс при совместном введении дроппа и свинца. Некоторая ваколизация и дефрагментация митохондрий в эндоплазматической сети гепатоцитов. ТЭМ. Ув. x 10 000

В межклеточных пространствах наблюдаются сегменто-ядерные нейтрофилы (рис.5.12). Синусоидные капилляры расширены, перисинусоидные пространства узкие, содержат короткие микроворсинки

Структура балочного строения гепатоцитов, через 24 часа после сочетанного введения животным препаратов дроппа и свинца, не претерпевает значительных изменений по сравнению с группой, где в аналогичный срок изучалось действие только препарата дропп. В данном наблюдении уменьшена степень наполнения центральных вен и синусоидных капилляров, снизился уровень внутриклеточного отёка, с некоторым увеличением зернистости цитоплазмы. Перипортальные тракты слабо инфильтрированы лимфоцитами с примесью сегментоядерных нейтрофилов.



Рисунок 5.12. Ткань печени крыс после 3 часа после совместного введения дроппа и свинца. Ультраструктура нейтрофильного гранулоцита, мигрирующего между гепатоцитами.ТЭМ. Ув. x 10 000

Ядра гепатоцитов незначительно отличаются друг от друга по диаметру и хромotropности. В синусоидных капиллярах обнаруживаются звездчатые ретикулоэндотелиоциты с признаками активации.

При ультраструктурном анализе гепатоцитов, через 24 часа после сочетанного введения животным препаратов свинца и дроппа, выявляются ядра округлой формы, которые бедны хроматином и содержат преимущественно по одному ядрышку.

Количество Мх несколько снижено, они уменьшенного размера, преобладают палочковидные формы. Матрикс Мх значительно уплотнен, кристы не визуализируются. Часто наблюдается расширение перимитохондриальных пространств. Признаков нарушения целостности мембран данных органелл не обнаруживается.

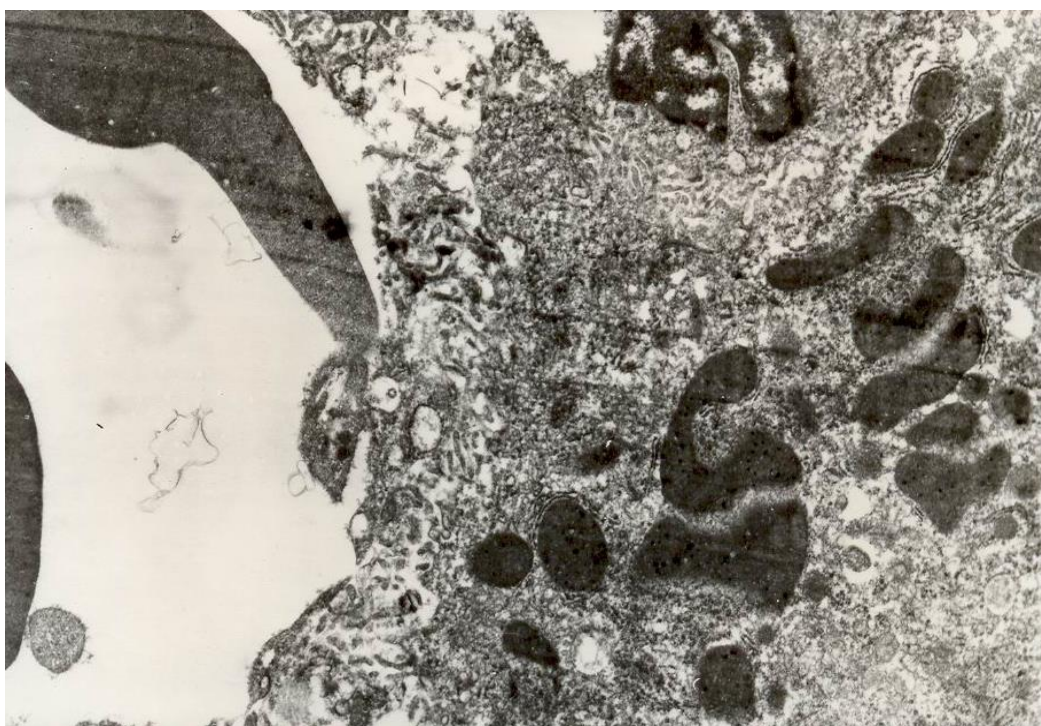


Рисунок 5.13. Ткань печени крыс после 24 часа после совместного введения дроппа и свинца. Отечность перисинусоидного пространства, разрыхленность микроворсинок гепатоцита. ТЭМ. Ув. x 14 000

Количество профилей зернистой эндоплазматической сети в гепатоцитах, через 24 часа после сочетанного введения животным препаратов свинца и дроппа, уменьшено. Профили неравномерно расширены, местами – с образованием цистерн. Снижено и содержание профилей гладкой эндоплазматической сети, значительная часть их подвержена дилатации. На всех исследованных препаратах выявляется

резкое уменьшение зерен гликогена, вплоть до его полного исчезновения в цитоплазме гепатоцитов. Несколько расширены желчные капилляры. В цитоплазме очень мало лизосом, еще меньше аутофагосом. Синусоидные капилляры неравномерной величины, перисинусоидные пространства расширены и заполнены редкими, короткими микроворсинками (рис. 5.13).

5.4. Структура гепатоцитов при совместном введении животным бутылкаптакса и свинца

Как ранее отмечалось, введение животным солей свинца вызывает значительные перестройки морфологического статуса гепатоцитов. Прежде всего, это незначительное просветление цитоплазмы, вследствие наличия в последней слабо выраженной мелковакуольной дистрофии. Наиболее выражена она в центральных отделах печеночных долек и практически не определяется в перипортальных зонах. Отмечаются существенные патологические изменения в Мх. Практически во всех печеночных клетках наблюдается умеренная отёчность Мх, которая проявляется в незначительном просветлении матрикса, в увеличении его размеров. Снижается их количественное содержание, форма часто в виде неправильного овала. Кристы либо исчезают, либо фрагментированы. Весьма редко встречаются внутримитохондриальные гранулы. Единичные Мх подвергаются деструкции с нарушением целостности их мембран. В цитоплазме гепатоцитов можно наблюдать единичные, диффузно расположенные мелкие липидные вакуоли, сосредоточенные в билиарных полюсах. Просветы синусоидных капилляров расширены, заполнены форменными элементами крови. Перисинусоидные пространства (Диссе) узкие, в их просвете выступают короткие, тонкие микроворсинки. Ядра звездчатых ретикулоэндотелиоцитов с крупными элементами, с усилением электронной плотности конденсированного хроматина.

Таким образом, наиболее уязвимыми ультраструктурами гепатоцитов при свинцовой интоксикации в ранние сроки, являются Мх. Последние

подвержены количественному уменьшению и деструкции различной степени выраженности.

При исследовании ткани печени в световом микроскопе, через 3 часа после сочетанного введения животным бутылкаптакса и свинца, общий план балочного строения сохранен. Гепатоциты несколько отличаются размерами и диаметрами ядер. Последние преимущественно незначительно уменьшены в размерах и гипохромны. В цитоплазме гепатоцитов обнаруживается мелкая зернистость и вакуолизация. Синусоидные капилляры неравномерно расширены, в просветах наблюдаются звездчатые ретикулоэндотелиоциты с крупными, гиперхромными ядрами.

Ультрамикроскопически в значительной части гепатоцитов, через 3 часа после сочетанного введения животным бутылкаптакса и свинца, ядра либо не содержат ядрышки, либо последние малых размеров. Снижена электронная плотность хроматина.

ЗЭС и ГЭС гепатоцитов данной группы животных имеют количественно уменьшенную протяженность их профилей. Часто наблюдаются вакуолярные расширения, снижение содержания связанных с мембранами рибосом. Вакуольной трансформации подвержены оба компонента комплекса Гольджи. В цитоплазме печеночных клеток, через 3 часа после сочетанного введения животным бутылкаптакса и свинца, практически не определяются зерна гликогена, тогда как при введении животным только бутылкаптакса, в аналогичный срок наблюдения, количество его лишь умеренно понижено.

Умеренно расширены желчные капилляры, в просвете наблюдается большое количество коротких тонких микроворсинок. Межклеточные пространства расширены, иногда в них встречаются лимфоциты и сегментоядерные нейтрофилы.

Среди клеток эндотелиальной выстилки выделяются звездчатые макрофаги (клетки Купфера). Ядра их увеличены в размерах, гиперхромны, с изрезанными краями. В цитоплазме усиливается пиноцитозная активность, с

увеличением количества микроворсинок, расположенных в перисинусоидных пространствах. Здесь же встречаются продукты биодegradации гепатоцитов.

Синусоидные капилляры в ткани печени, через 3 часа после сочетанного введения животным бутылкапакса и свинца, широкие. В аналогичном состоянии и перисинусоидные пространства.

Отмеченные нарушения в ультраструктуре гепатоцитов усиливаются через 24 часа после сочетанного введения животным бутылкапакса и свинца. Следует отметить, что при этом общая структура печени сохранена, наблюдается умеренное полнокровие сосудов портальных трактов. Вокруг последней нередко можно наблюдать слабые лимфоодноклеточные инфильтраты. Отмечается неравномерное расширение просветов центральных вен и прилегающих участков синусоидных капилляров. Гепатоциты полиморфны, часть их небольшого размера, с умеренным уплотнением цитоплазмы, другая часть увеличена в размерах, цитоплазма просветлена за счет наличия в ней вакуолей различного диаметра и зернистости. Наиболее выражены эти явления в центральных отделах печеночных долек. Следует особо заметить, что данные изменения носят мозаичный характер по площади гистологического среза.

Методом трансмиссионной электронной микроскопии также наблюдаются выраженные полиморфизмы в патологической картине интоксикационных изменений в печени, через 24 часа после сочетанного введения животным бутылкапакса и свинца.

Ядра печеночных клеток в основной массе несколько уменьшены в размерах, со сниженным количеством хроматина. Преимущественно снижение хроматина идет за счет его конденсированной части, наблюдаемые ядрышки имеют слабую электронную плотность.

Мх количественно сохранились в прежнем числе, однако размеры их значительно варьируются, причем преобладают органеллы, в редких случаях наблюдаются мелкие внутримитохондриальные включения.

Зернистая эндоплазматическая сеть значительно редуцирована, наблюдаются только ее фрагменты. Сказанное относится и к гладкой эндоплазматической сети, профили которой определяются локально. Соответственно, как и в предыдущий срок наблюдения, из цитоплазмы исчезает гликоген. В билиарных полюсах клеток, через 24 часа после сочетанного введения животным бутылкапакса и свинца, наблюдаются скопления липофусцина в виде мелких электронноплотных гранул. Синусоидные капилляры имеют различную ширину, просвет их заполнен продуктами биодеградации гепатоцитов (миелиновые структуры), остатками органелл, встречаются редкие зерна гликогена, липидные вакуоли, сегментоядерные нейтрофилы. Перисинусоидные пространства визуализируются плохо, заполнены редкими отечными микроворсинками.

Таким образом, сочетанное введение животным бутылкапакса и свинца приводит к более тяжким патологическим изменениям структурного статуса гепатоцитов, чем раздельное введение. Кроме того, следует отметить, что наблюдающиеся изменения ультраструктуры гепатоцитов, через 24 часа после сочетанного введения животным бутылкапакса и свинца, носят более выраженный и глубокий характер, нежели в случае сочетания свинца с другим дефолиантом дроппом.

Важным моментом, вытекающим из проведенных нами исследований, является обнаружение особой специфики изменений ультраструктуры гепатоцитов при сочетанном введении дефолиантов и соли свинца, как правило, не повторяющей ту перестройку, которую индуцирует раздельное введение токсикантов. Иными словами, здесь, как и в случае сочетанного введения препаратов свинца и кадмия, видимо реализуется взаимный синергизм токсикантов. Основными структурами, наиболее подверженными морфофункциональными перестройками как при сочетанном, так и при раздельном введении тяжелых металлов и дефолиантов, являются те, которые обеспечивают протекание энергетического обмена, биосинтетических процессов.

Следует также отметить, что выраженные изменения в ультраструктуре гепатоцитов удается наблюдать уже через 3 часа после введения животным препаратов дефолиантов. Эти изменения, в зависимости от условий постановки эксперимента, либо значительно прогрессируют (сочетанное введение с солями свинца), либо даже несколько ослабевают к 24 часам. Наблюдения свидетельствуют о протекании репарационных процессов. В целом, полученные данные позволяют говорить о прямом взаимодействии исследованных дефолиантов с субклеточными структурами гепатоцитов, и позволяют исключить, по крайней мере – на первых этапах, предположение об опосредованном механизме действия дефолиантов (влияние продуктов деградации пестицидов, срабатывание усилительных механизмов, модуляции активности эндогенных фосфолипаз, протеаз и.т.д.). Однако более однозначные доказательства прямого действия, очевидно, могли бы быть получены в экспериментах с мечеными пестицидами.

ГЛАВА 6. ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ПЕСТИЦИДОВ С МЕМБРАННЫМИ СТРУКТУРАМИ ГЕПАТОЦИТОВ

Среди разнообразных подходов, используемых для расшифровки механизма токсического действия пестицидов, важное место занимают физиолого-биохимические исследования, которые могут проводиться на различных уровнях структурной организации: организменном, тканевом, клеточном, субклеточном и молекулярном. Последние 2-3 подхода представляются на сегодняшний день наиболее перспективными, поскольку дают возможность изучить влияние того или иного пестицида, изолированного на конкретном морфо-функциональном уровне или определенных субклеточных структурах. Этот момент особенно важен для выявления первичных стадий взаимодействия чужеродного вещества с компонентами клетки.

Между тем как отмечалось в «Обзоре литературе», влияние пестицидов на структурно-функциональные состояния различных биологических мембран и мембранных образований изучено недостаточно.

Механизм действия различных пестицидов и, следовательно, коррекция вызываемых ими нарушений метаболических процессов, определяется в первую очередь компартиментализацией этих соединений. Данная литература по этому вопросу весьма многочисленна, поскольку значение внутриклеточного распределения пестицидов позволяет не только объяснить, но в известной мере прогнозировать возможные биохимические сдвиги, наступающие в организме при введении пестицидов.

Многочисленными исследованиями установлено, что пестициды проникают внутрь клетки, аккумулируются в ней и оказывают свой эффект путем изменения действия определенных ферментов [2; с.19, 35; с. 48-50].

Инсектициды, фунгициды и гербициды взаимодействуют с биологическими мембранами. При этом происходит адсорбция пестицида на поверхности мембраны. Характер взаимодействия пестицида с липидной частью мембран зависит от размера, формы, дипольного момента и

липофильности молекулы токсиканта. Молекулы пестицидов с липофильными свойствами встраиваются в углеводородную часть липидного бислоя.

Таким образом, действие пестицидов может проявляться на различных уровнях организации живого организма, и имея в качестве начального этапа проникновение пестицида в ткани и клетки, взаимодействие с внутриклеточными органеллами может реализоваться в изменении различных сторон метаболизма в клетке, в частности, нарушение структуры внутриклеточных компонентов, регуляции обмена веществ, нарушение проницаемости внутриклеточных мембран. Все это в совокупности приводит к глубоким изменениям клеточного метаболизма в целом.

В случае исследованных нами дефолиантов одним из невыясненных моментов стал вопрос об интенсивности их накопления в различных тканях и субклеточных органеллах, в том числе в одной из основных мишеней - Мх. Для решения этого вопроса нами были проведены эксперименты с использованием меченых пестицидов. Кроме того, в отдельных экспериментах были применены спин-меченые зонды.

6.1. Тканевое и субклеточное распределение некоторых пестицидов в организме животных

Радиоактивность образцов устанавливали на сцинтиляционном счетчике «Racketa 1217», фирмы LKB, Швеция.

Исследования, по изучению проникновения дроппа в ткани и внутриклеточные структуры, проводились на крысах Вистар, которым внутрижелудочно зондом вводили меченый дропп в дозе $1/5$ ЛД₅₀ с активностью 100 мкКц/100 грамм массы. Результаты по изучению проникновения меченого дроппа в различные органы показали (рис.6.1.), что через 60-90 мин. после введения радиоактивного пестицида значительная активность его обнаруживается в легких, печени и почках крыс (823, 217 и 688 имп./мин. Мг белка), несколько меньшее накопление ³Н-дроппа отмечается в головном мозге крыс (149 имп./мин.мг белка).

Изучение внутриклеточного распределения дроппа выявило, что он может проникать в цитоплазму, в ядро, в Мх и микросом всех исследованных нами тканей. Особенно значительное его количество ассоциировано с ядрами, Мх и цитозолем легких и печени крыс.

В субклеточных фракциях легких значительное количество меченого дроппа ассоциировано с ядрами и цитозолем клеток (425-228 имп./мин.мг белка), несколько меньшее количество пестицида отмечается в Мх легких (118 имп./мин.мг белка).

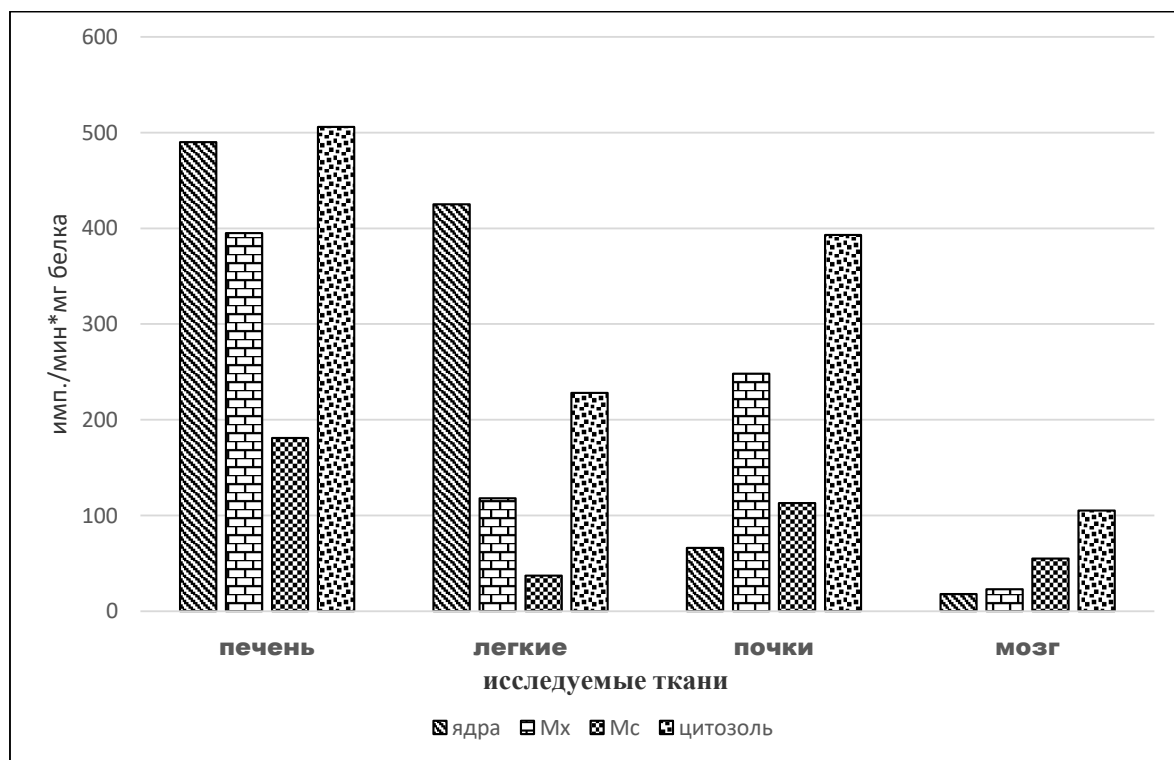


Рисунок. 6.1. Распределение (³н)-дроппа по органам и субклеточным фракциям организма крыс (имп./мин*мг белка)

Аналогичное распределение меченого дроппа отмечается в печени крыс. Значительное количество дроппа отмечается в ядрах, цитозоле и Мх печени (соответственно 490, 506 и 395 имп./мин.мг белка), микросомах печени (181 имп./мин.мг белка).

В почечной ткани значительная активность отмечается в цитоплазматической фракции (393 имп./мин.мг белка) клеток, несколько меньшее количество пестицида ассоциировано с митохондриями и

микросомами клеток почек (248 и 113 имп./мин.мг белка). Значительное количество дроппа отмечается в ядерной фракции почек (66 имп./мин.мг белка). Из данных рис. 6.1 следует, что в головном мозге крыс отмечается лишь незначительное количество этого пестицида.

Аналогичные данные были получены и в исследованиях других авторов [32; с. 54-59]. В этих экспериментах было показано, что пестицид метилфуран накапливается в печени и легких крыс, причем степень связывания метилфурана с белками была аналогичной его распределению по этим органам.

В следующей серии экспериментов нами было выявлено распределение пестицида бутилкаптакса по органам крыс. Результаты исследований показали, что максимальное количество метки в крови регистрируется через 20 минут после введения меченого пестицида. Как следует из данных, представленных на рис. 5.2. через 60 мин после введения радиоактивного пестицида значительная активность обнаруживается в печени, легких и почке. Наименьшее накопление наблюдается в головном мозге крыс.

Исследование внутриклеточного распределения меченого бутилкаптакса выявило, что пестицид проникает в цитоплазму, в ядро, Мх и микросомальную фракцию клеток различных тканей. Значительное количество меченого пестицида ассоциировано с цитозолем и митохондриями печени, легких и почек.

Таким образом, обнаружение радиоактивной метки в разных клеточных фракциях может свидетельствовать о способности этого препарата взаимодействовать с компонентами внутриклеточных структур и нарушать метаболизм в разных компонентах клетки.

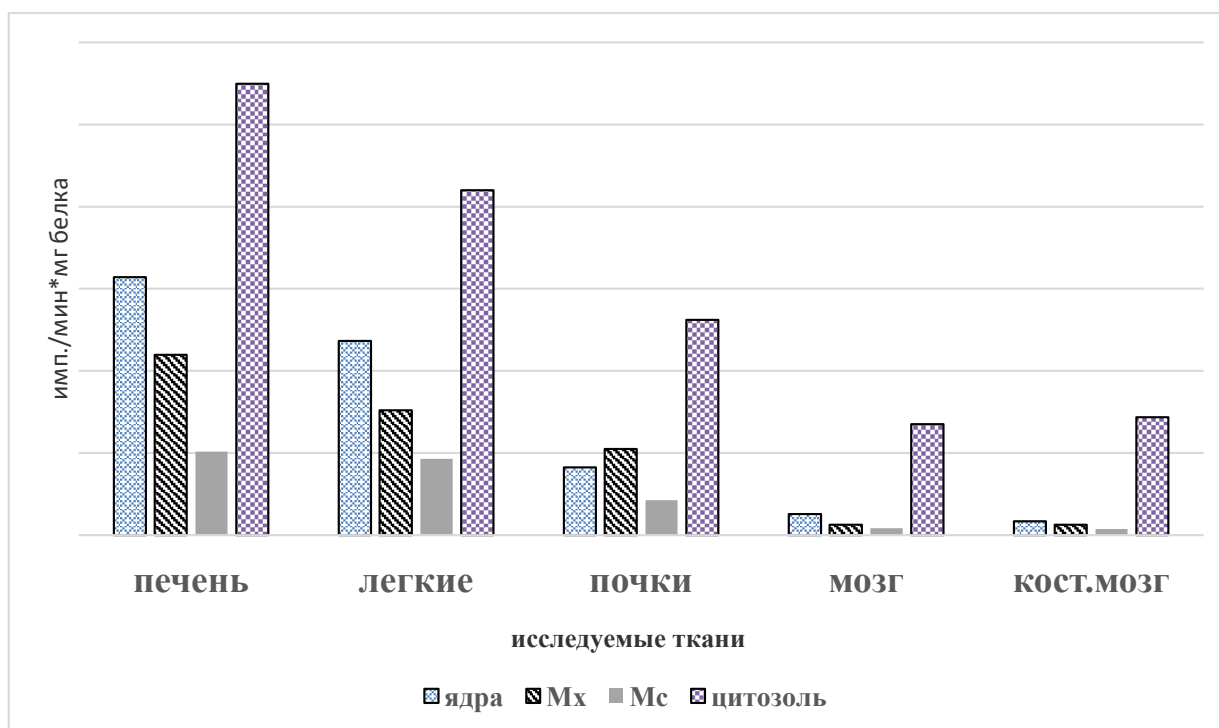


Рис. 6.2. Распределение (³H)-бутилкаптакса по органам и субклеточным фракциям(имп/мин*мг белка)

6.2. Взаимодействие пестицидов с мембранами митохондрий

Нами были исследованы бутилкаптакс, и дропш, которые представляют собой дефолианты продуцентов масляного альдегида. Согласно мнению Коблова и сотр. [75;с. 149], масляный альдегид, образующийся в растениях из этих дефолиантов, стимулирует образование отдельного слоя в листьях, обеспечивая дефолирующий эффект. Однако независимо от механизма действия, общей проблемой является наличие у дефолианта побочных и токсических эффектов. Токсическое действие дефолианта на организм теплокровных обусловлено различными эффектами, включая мембраноактивные свойства, при этом Мх рассматриваются как наиболее вероятные внутриклеточные «мишени» [3; с. 24, 4; с. 46].

В данном разделе представлены результаты исследования прямого действия дефолиантов бутилкаптакса и дропша на Мх печени крыс *in vitro*, на ряд важнейших функций Мх (дыхание, ОФ, транспорт Ca²⁺ и проницаемость внутренней мембраны для некоторых катионов).

Относительно низкие концентрации бутилкаптакса ингибируют скорость дыхания Мх в состоянии V_3 , не влияя на состояние V_4 . В результате этого уменьшалась величина дыхательного контроля (ДК), но не показатель АДФ/О.

Полярнографическое изучение действия бутилкаптакса на транспорт Ca^{2+} тоже подтвердило разобщающее действие высоких концентраций исследуемого препарата на Мх: разобщение бутилкаптаксом Мх теряет способность аккумуляции Ca^{2+} . Однако низкие концентрации бутилкаптакса не влияют на коэффициент Ca^{2+}/O . Добавление бутилкаптакса вызывает выход аккумулярованного Ca^{2+} из Мх и окисление НАД(Ф)Н. Внесение бутилкаптакса в среду до добавления Ca^{2+} приводит к быстрому окислению пиридиннуклеотидов и утрате митохондриями способности аккумуляровать добавленный Ca^{2+} .

Известно, что увеличение проницаемости мембран Мх для различных ионов приводит к снижению электрохимического потенциала H^+ на их внутренней мембране и исключает протекание таких энергозависимых процессов как синтез АТФ, транспорт Ca^{2+} , восстановление НАД сукцинатом и т.д. [134; с. 546]. В связи с этим возникает вопрос, не обусловлены ли описанные выше эффекты бутилкаптакса увеличением проницаемости внутренней мембраны Мх и если - да, то для каких ионов.

Исследование энергозависимого набухания Мх в изоосмотических растворах кальция, калия и аммония показывает, что бутилкаптакс значительно стимулирует проницаемость мембран Мх для всех исследованных катионов (H^+ , K^+ , Ca^{2+}), а также для незаряженных молекул сахарозы. Таким образом, ингибирующее влияние этого пестицида на транспорт Ca^{2+} и на другие энергозависимые процессы в Мх (синтез АТФ, обратный перенос электронов и т.д.) имеет в своей основе, видимо, неспецифическое увеличение проницаемости внутренней мембраны и снижение вследствие этого мембранного потенциала.

В таблице 6.1. приведены данные по влиянию бутилкаптакса и дроппа на ОФ, а также на скорость выхода аккумулированного Ca^{2+} из Мх печени крыс.

Таблица 6.1.

Влияние различных дефолиантов на функциональные параметры митохондрий печени крыс

Исследуемый дефолиант	Концентрация, мМ	Исследуемый препарат, %			
		V ₃	ДК	АДФ/О	Скорость выхода Ca^{2+}
Контроль		100	100	100	100
Бутилкаптакс	0,1	48	55,6	99,5-*	1300
	0,3	36	25,8		1500
Дропп	0,1	119	57	85-*	440
	0,3	132	26		1100

Примечание: *ДК=1 и величину АДФ/О в условиях полярографического эксперимента при этом измерить не удастся.

Как было отмечено выше, бутилкаптакс обладает разобщающим действием на ОФ, одновременно следует указать на его ингибирующее действие на дыхание Мх в активном состоянии V₃ и индукцию значительной скорости выхода Ca^{2+} , аккумулированного в Мх.

В отличие от бутилкаптакса, дефолиант дропп проявил заметную разобщающую активность, снижая при концентрации 300 мкМ величину ДК до единицы. Дропп стимулировал на 20-30 % скорость дыхания изолированных Мх в метаболическом состоянии V₃ и более значительно (в 4-5 раз) в состоянии покоя (V₄). Аналогично бутифосу, дропп индуцировал выход Ca^{2+} , ранее аккумулированного в Мх. Так. В присутствии 300 мкМ дроппа скорость выхода Ca^{2+} возрастала в 11 раз.

С целью выявления механизма влияния этого дефолианта на ОФ и транспорт Ca^{2+} мы рассмотрели его эффекты на проницаемость внутренних мембран Мх для некоторых ионов. Как следует из полученных данных, дропп в концентрации 50-100 мкМ наиболее значительно увеличивал протонную проницаемость митохондриальной мембраны и при этом практически не влиял на скорость переноса ионов Ca^{2+} а лишь слегка увеличивал калиевую проницаемость.

Следует отметить, что дропп в отличие от бутилкаптакса не индуцирует значительную неспецифическую проницаемость для многочисленных других исследованных ионов, т.е. действует существенно избирательно, модифицируя только протонную проницаемость митохондриальных мембран. Эффект дроппа на скорость выхода Ca^{2+} из Мх, вероятнее всего, является следствием снижения DmH^+ за счет протонофорной активности.

Таблица 6.2.

Действие бутилкаптакса на дыхание и окислительное фосфорилирование митохондрий печени крыс

Концентрация бутилкаптакса, мкМ	Дыхание, нг-атом О/мин.мг белка			
	V3	V4	ДК	АДФ/0
0	75	20	3,75	1,85
50	57	19	3.00	1.76
100	32	17	1.82	1.28

Примечание: Среда инкубации: 125 мМ сахарозы, 60 мМ KCl , 5 мМ сукцината, 4 мМ фосфата, 5 мМ трис- KCl , 0,5 мкг/мл ротенона. РН 7,4.

Исследование действия бутилкаптакса на ОФ позволило установить относительно высокую разобщающую активность этого дефолианта (таблица 6.2). Однако снижение величины ДК контроля происходит при этом, не

вследствии повышения скорости дыхания в метаболическом состоянии 4, а в результате общего снижения дыхательной активности в метаболических состояниях V_3 и V_4 , при одновременном уменьшении отношения АДФ/О. Так, при концентрации бутилкаптакса 100 мкМ скорость дыхания Mx в состоянии V_3 снижена на 60 %, величина ДК- более чем наполовину, АДФ/О – на 30 %.

В другой серии экспериментов было рассмотрено влияние бутилкаптакса на проницаемость внутренних мембран Mx , исследованное в условиях их энергозависимого набухания.

В отличие от дроппа, который индуцировал в основном протонную проницаемость, бутилкаптакс в концентрации 50-100 мкМ в несколько раз увеличивал проницаемость мембран Mx для ионов K^+ , H^+ и Ca^{2+} , напоминая в этом отношении поведение бутифоса.

Следовательно, при действии бутилкаптакса на митохондриальные мембраны (и, по-видимому, биологические мембраны вообще) имеет место общее неспецифическое увеличение проницаемости. Дропп проявляет существенно большую избирательность, индуцируя в основном перенос протона.

6.3. Влияние тяжелых металлов на функциональную активность клеточных структур

Как известно, в живых организмах, в известных количествах содержатся практически все элементы таблицы Менделеева. Поэтому для нормальной жизнедеятельности различных организмов необходимо содержание в них определенной концентрации металлов, в том числе и тяжелых. Во многих научных работах подчеркивается роль ионов различных металлов в энергетических процессах, транспорте ионов, значение в каталитической активности металлоферментов. Участие тяжелых металлов в обменных процессах животных и растений и т.д.. Кроме того, ионы тяжелых металлов выполняют структурную функцию в организме, входят в состав коферментов, нуклеиновых кислот и т.д. Поэтому недостаток так же, как и

избыток тяжелых металлов, приводит к всевозможным патологиям, нарушениям функций организма, заболеваниям различных органов и.т.д. Известно, что некроз и апоптоз вызывается также ионами тяжелых металлов [211;p. 111-117, 234; p.416-420].

Ранее нами было продемонстрировано, что сочетанное воздействие ионов свинца и кадмия оказывает более выраженное действие на ультраструктуру гепатоцитов экспериментальных животных, чем только один из этих металлов. Это наблюдается даже в том случае, если общее количество металлов при совместном действии гораздо меньше, чем количество металла в случае моновоздействия. Иначе говоря, соединения свинца и кадмия потенцируют действие друг-друга.

В настоящем разделе изучалось действие некоторых тяжелых металлов и их смеси на функциональное состояние Мх печени крыс. Это представляло интерес для характеристики влияния ионов тяжелых металлов на состояние тканей и органов, физиологических функций и в особенности, с учетом ранее представленных данных по влиянию на структурный статус клеток,- на энергетический метаболизм клеток и внутриклеточных органелл. В связи с этим предусматривалось изучить влияние тяжелых металлов на дыхание, ОФ, пассивную проницаемость мембраны Мх для ряда катионов, а также ПОЛ биомембран.

Следует отметить, введение кадмия вызывает тяжелую степень интоксикации животных, которая характеризуется следующими признаками: у животных отказали задние конечности, проявлялась агрессивность после введения второй дозы препарата, имело место накопление жидкости в организме, в результате чего наблюдалось общее вздутие. Кроме того, у животных полностью отсутствовал тимус, а выделенные Мх имели очень темный цвет относительно контроля.

Введение $3\text{CdSO}_4 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ крысам в дозе 1,25 мг/100 г массы животных ежедневно, в течении двух дней вызывало ингибирование дыхания изолированных Мх печени крыс в метаболическом состоянии V₃ по Чансу на

34,5 % и V_4 - на 40 % при использовании сукцината в качестве субстрата окисления. В результате этого увеличивалось значение коэффициента дыхательного контроля до 4,5% (процентов 4,0 в контроле), а отношение АДФ/О уменьшалось до 1,41 % (процентов 1,9 в контроле). На основании этих данных можно заключить, что Cd^{2+} *in vivo* индуцирует ингибирование электрон-транспортной функции дыхательной цепи Мх печени крыс.

Введение животным $Pb(CH_3COOH)_2 \cdot 3H_2O$ в дозе 4 мг/100 г массы ежедневно, в течение двух дней вызывает стимуляцию дыхания Мх печени крыс во всех метаболических состояниях: V_3 - на 14 %, V_4 - на 27 %, в результате чего уменьшаются величины коэффициентов ДК и АДФ/О (таблица 6.3).

Введение животным смеси солей кадмия и свинца (доза 0,6 мг смеси/100 г массы ежедневно, в течение двух дней) привело к незначительному ингибированию окисления сукцината в состоянии V_3 , стимуляцию дыхания на 15 % в состоянии V_4 и вызвало снижение величины ДК до 3,4 (против 4,6 в контроле), а АДФ/О-до 1.0 (против 1,9 в контроле). В этой серии экспериментов, по-видимому, в основном проявилось влияние ионов свинца, которые при раздельном введении вызывали разобщение ОФ.

При исследовании влияния цинка *in vivo* (доза 3 мг/100 г массы, ежедневно в течение двух дней) на функциональное состояние Мх печени крыс было обнаружено, что этот препарат вызывает ингибирование скорости окисления сукцината во всех метаболических состояниях таким образом, что величина ДК уменьшалась до 3,5, а отношение АДФ/О снижалось до 1,3 (таблица 6.3).

Таким образом, введение крысам тяжелых металлов вызывает изменение в функциональном состоянии Мх печени крыс такой направленности, что наиболее существенно нарушается эффективность фосфорилирования. При сочетанном введении в течение 2 суток препаратов кадмия и свинца, механизм ОФ в изолированных Мх имеет ряд признаков, свойственных «свинцовому» отравлению, однако вместе с тем активность

дыхательной цепи, оцениваемая по параметру $V_{\text{днф}}$, занимает промежуточное значение между вариантами с кадмием и свинцом.

Таблица 6.3.

Влияние тяжелых металлов на окислительное фосфорилирование митохондрий печени крыс в опытах *in vivo*

Группа животных	Скорость потреблений кислорода, нг-атом 0/мин. мг белка.				
	V_3	V_4	ДК	АДФ/0	$V_{\text{днф}}$
Контроль	74,0	18,5	4,0	1,9	73,9
Кадмий	48,5	11,1	4,4	1,4	58,1
Свинец	84,4	23,5	3,6	1,0	93,3
Смесь кадмия и свинца	72,1	21,3	3,4	1,1	79,7

Примечание: Среда инкубации: 100 мМ КС1, 5 мМ трис-буфер, 0,8 мМ фосфата калия, 5 мМ сукцинат, рН – 7,1. Добавки : 250 мкМ АДФ, 200 мкМ ДНФ.

Результаты этих экспериментов согласуются с представленными выше данными по влиянию ионов кадмия и свинца при отдельном и комбинированном введении на ультраструктуру гепатоцитов. Отмечалось в частности, что совместное применение солей свинца и кадмия в условиях, когда их суммарная доза не превышала индивидуальную для соли каждого металла, приводила к усугублению поражений структурного статуса ткани печени, с более широким вовлечением в патологический процесс различных органелл. Наряду с признаками, которые наблюдались в гепатоцитах при отдельном применении токсических агентов, появился и ряд новых, что может наводить на мысль о взаимном потенцировании эффектов препаратов кадмия и свинца.

В другой серии экспериментов (таблица 6.4) было исследование влияния тяжелых металлов на ОФ Мх печени крыс *in vitro*.

Таблица 6.4.

**Влияние тяжелых металлов на окислительное фосфорилирование
митохондрий печени крыс в опытах *in vitro***

Препараты	Концентрация (М)	Скорость потребления кислорода, нг- атом О/мин·мг белка.				
		V ₃	V ₄	ДК	АДФ/О	V _{днф}
Контроль		65,0	7,0	3,8	2,0	78,0
Кадмий	10 ⁻⁵	78,0	20,5	3,8	1,9	77,0
	2x10 ⁻⁵	19,5	16,5	1,2	1,4	25,0
	10 ⁻⁴	15,0	15,0	1,0	-	15,0
Свинец	4x10 ⁻⁵	51,5	14,0	3,6	1,8	61,0
	10 ⁻⁴	37,0	19,0	1,9	1,2	28,0
Смесь	10 ⁻⁶	62,0	26,5	2,3	1,9	84,0
Cd+Pb	2x10 ⁻⁶	32,0	21,0	2,9	1,6	44,0
	10 ⁻⁵	19,0	19,0	1,0	-	19,0

Примечание. Среда инкубации: 100 мМ КС1, 5 мМ трис-буфер, 0,8 мМ фосфата калия, 5 мМ сукцинат, рН – 7,1. Добавки : 250 мкМ АДФ, 200 мкМ ДНФ.

Добавление к суспензии Мх печени крыс ионов кадмия до конечной концентрации 10⁻⁵М вызывало одновременную стимуляцию дыхания в состояниях V₃ и V₄ таким образом, что величина ДК оставалась на уровне контроля, с незначительным уменьшением коэффициента АДФ/О. С увеличением концентрации кадмия до 2·10⁻⁵М дыхания Мх в состоянии V₃ угнеталось на 70 %, вследствие чего уменьшалась величина коэффициента ДК до 1,2 и АДФ/О – до 1,4 (таб. 5.8). При концентрации кадмия 10⁻⁴М величина ДК уменьшалась до 1, т.е. приходило разобщение со снятием механизма дыхательного контроля. Эти результаты не противоречили данным, полученным в эксперименте *in vivo*, поскольку и в том, и в другом случае кадмий угнетал электрон-переносящую функцию дыхательных цепочек Мх печени крыс.

Препарат свинца, начиная с концентрации $4 \cdot 10^{-5} \text{M}$, ингибировал дыхание Мх и этот эффект усиливался с увеличением концентрации до 10^{-4}M , при этом V_3 тормозилась на 43%, величина коэффициента АДФ/О снижалась до 1,2, а ДК - до 1,9. Присутствие 2,4-ДНФ не вызывало максимальную стимуляцию скорости потребления кислорода, что свидетельствует об эффектах на уровне дыхательной цепи Мх.

Следует отметить, что результаты по влиянию препарата свинца *in vitro* не совпадают с данными в эксперименте *in vivo*. Если *in vivo* свинец вызывает стимуляцию дыхания во всех метаболических состояниях ОФ, то в *in vitro* происходило явное ингибирование скорости потребления кислорода. Неспособность 2,4-ДНФ снимать это ингибирование однозначно свидетельствует о торможении электрон – транспортной цепочки мембраны Мх. По-видимому, в эксперименте *in vivo* в использованных нами условиях и сроках имело место не прямое действия препарата свинца на мембрану Мх, а скорее всего – опосредованное, через обширное угнетение активности ферментов и метаболизм в целом, перестройку структуры клеточных органелл, что в итоге могло вызывать разобщение ОФ.

Непосредственный контакт мембраны Мх со свинцом в условиях *in vitro* индуцировало ингибирование дыхания Мх. Смесь кадмия и свинца в низких концентрациях (10^{-6}M) вызывала разобщение ОФ в основном за счет стимуляции V_4 на 36 % при использовании сукцината в качестве субстрата окисления, при этом величина ДК уменьшалась до 2,3 (против 3,8 в контроле). С увеличением концентрации смеси свинца и кадмия до 10^{-5}M наблюдалось дальнейшее усиление ингибирующего эффекта в отношении скорости потребления кислорода в третьем метаболическом состоянии по Чансу и полное разобщение ОФ, которое происходило на фоне дыхания, заингибированного на 71 %.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время глобальное загрязнение окружающей среды обострило проблему негативного воздействия пестицидов и тяжелых металлов на здоровье человека и животных. Известно, что к наиболее опасным загрязнителям относятся химические средства защиты и регуляторы роста: дефолианты, гербициды, инсектициды, фунгициды, тяжелые металлы и т.д. В последнее время увеличились заболевания онкологического характера, типы аллергий, возросло количество уродств при рождении, возросла смертность младенцев, увеличились болезни, связанные с подавлением или ослаблением иммунной, сердечнососудистой и нервной систем. Кроме того, до сих пор встречаются случаи острого отравления людей некоторыми ядохимикатами. По данным ВОЗ (2014), ежегодно в мире отравлению пестицидами подвергаются от 500 тысяч до 2 миллионов человек, причем 40 тысяч отравлений завершается смертельным исходом.

Вряд ли реально полностью оградить человечество от токсического воздействия факторов среды обитания и сразу улучшить существующую экологическую ситуацию, в связи с этим, на передний план выходит решение проблемы детоксикации организма человека и разработка способов повышения его устойчивости. Известно, что исследование механизмов токсического действия пестицидов или тяжелых металлов является обязательным этапом в разработке методов и средств лечения интоксикаций.

Считается, что проблема изучения механизмов токсичности пестицидов сводится к исследованию взаимодействия их с мембранами клеток и внутриклеточных структур, а митохондрии животных тканей являются важнейшими внутриклеточными мишенями, инициирующими дисфункции клетки. Многие пестициды способны вызывать нарушение ультраструктуры клеток, биоэнергетические и метаболические нарушения в

клетках, непосредственно или опосредованно повреждая дыхательную цепь Мх и порождая тканевую гипоксию.

По данным Z. Lengyel (2006) отравления кадмием в основном связаны с промышленными загрязнениями; накопление кадмий содержащих предметов (батареи, сплавы, краски) загрязняют питьевую воду и воздух. Промышленные фосфатные удобрения и навоз также содержат кадмий. Сигаретный дым – значительный источник загрязнения кадмием: в 20 сигаретах содержится 15-18 мкг кадмия. Еще один источник кадмиевой интоксикации – употребление в пищу продуктов моря.

Кадмий имеет большое сродство к нуклеиновым кислотам, вызывая нарушение и метализм. Он ингибирует ДНК- полимеразы, нарушает синтез ДНК. Высокие дозы кадмия разобщают ОФ в Мх печени, ингибируют биотрансформацию ксенобиотиков.

Проведенное нами исследование морфологии ткани печени после введения животным соли кадмия, показывает, что через 3 часа общая её структура не подвержена дисконплексации.

Масса крыс при воздействии соли кадмия достоверно не изменяется. За счёт незначительного увеличения массы печени ($8,90 \pm 0,65$ г), по сравнению с контрольной группой, через 3 и 24 часа после введения соли кадмия ($8,45 \pm 0,34$ г и $8,6 \pm 0,65$ г), увеличивается массовый коэффициент ($6,95 \pm 0,18\%$ и $6,72 \pm 0,18\%$ соответственно) (в контрольной группе $-6,62 \pm 0,18\%$). Это свидетельствует о органоспецифичности данного химического вещества по отношению к печени. Также наблюдается увеличение размеров гепатоцитов. В цитоплазме гепатоцитов определяется скопление мелкозернистого базофильного материала, соответствующего зернистой эндоплазматической сети.

С увеличением размеров гепатоцитов, через 24 часа после воздействия соли кадмия, также незначительно увеличивается размер ядер.

При введении животным солей кадмия печень отвечает с незначительными изменениями морфометрических параметров гепатоцитов,

их ядер, а также размеров диаметра внутривенных сосудов, особенно синусоидных гемокапилляров. В ранние сроки эксперимента (через 3 часа) реакция морфометрических параметров структурных элементов печени более выражена, по сравнению с поздними сроками (24 часа), кроме увеличения числа двуядерных гепатоцитов.

При ультраструктурном исследовании ткани печени в ядрах отмечалось умеренное уменьшение количества конденсированного хроматина, часть ядер не содержала ядрышек, некоторые ядра были неправильной формы. Количество Мх было незначительно уменьшено, форма их была округлая, размеры практически одинаковы. Характерным являлось увеличение электронной плотности матрикса и умеренная гиперплазия крист в части Мх.

Значительно сокращается, в результате действия солей кадмия, количество профилей гранулярной эндоплазматической сети, местами она подвержена вакуолизации и фрагментации. В аналогичном состоянии находится и гладкая эндоплазматическая сеть. Это отражается на состоянии гликогена в гепатоцитах, количество которого значительно снижается, отсутствует розеткообразование.

Умеренно расширены просветы желчных протоков. В цитоплазме наблюдаются диффузные скопления конгломератов желчи и липофусцина.

После введения в организм соли кадмия, через сутки в гепатоцитах обнаруживаются признаки более высоких темпов восстановления внутриклеточных ультраструктур, что косвенно свидетельствует об этом.

В целом следует отметить, что при введении животным солей кадмия в большой степени поражаются структуры, ответственные за гетеросинтез.

Наши данные совпадают с данными И.Ф. Вафина, где указывается, что при комбинированной интоксикации кроликов хлористым кадмием (1/20 ЛД₅₀) и диоксина (1/200 ЛД₅₀) к 30 дню вызывало увеличение количества металла на 34-58%. в тех же органах, что и у крыс.

Интересные данные получены нами при исследовании воздействия солей свинца на печень.

Масса крыс при воздействии солей свинца также достоверно не изменяется. За счёт увеличения массы печени ($8,90 \pm 0,65$ г.) массовый коэффициент в среднем составляет $-6,95 \pm 0,18\%$ (одинаковый показатель при 3 и 24 часа после воздействия). Это свидетельствует о том, что токсические свойства солей свинца почти не проходят через 24 часа, чем токсические воздействия солей кадмия, свойства которых постепенно уменьшаются через 24 часа. При воздействии солей свинца наблюдается увеличение размеров гепатоцитов. Увеличивается ядерно -цитоплазматический индекс.

При воздействии солей свинца, через 3 часа наблюдается увеличение диаметра центральных вен, междольковых вен, а также незначительное увеличение диаметра междольковых артерий и желчных протоков. Синусоидные капилляры ориентированы преимущественно в радиальном направлении к центру долек, где впадают в центральные вены. Синусоидные капилляры находятся в состоянии полнокровия.

Методом трансмиссионной электронной микроскопии установили, что наиболее уязвимыми органеллами при воздействии свинца, в ранние сроки интоксикации, являются в Мх, которые подвержены количественному уменьшению и деструкции различной степени выраженности.

Установлено, что при однократном введение крысам ацетата свинца - $Pb(CH_3COO)_2$ через 3 часа привело к определенным патологическим изменениям в структуре органов. Практически во всех печеночных клетках наблюдалась умеренная отечность Мх, которая проявлялась в незначительном просветлении матрикса, в увеличении их размеров. Единичные Мх подвергались деструкции с нарушением целостности их мембран.

Через 24 часа после введения свинца, светооптически отмечались изменения морфологического статуса гепатоцитов, которые можно квалифицировать как нормализацию структуры. В умеренной степени

снижался уровень полнокровия синусоидных капилляров, центральных вен и сосудов портальных трактов. Следствием нормализации этой внутриклеточной мембранной структуры являлось некоторое увеличение содержания зерен гликогена в цитоплазме. Снизилось содержание в клетках конгломератов липофусцина и компонентов желчи.

Исследованием установлено, что при введении животным солей свинца, печень отвечает более выраженными морфометрическими изменениями по сравнению с воздействием кадмия. Изменяются морфометрические параметры гепатоцитов, их ядер а также размеров диаметра внутривенных сосудов, особенно синусоидных гемокапилляров.

В ранние сроки эксперимента (через 3 часа) реакция морфометрических параметров структурных элементов печени более выражена, по сравнению с воздействием кадмия. Через 24 часа наблюдается незначительное уменьшение реакции печени на химическое воздействие и незначительное возвращение морфометрических параметров печени к параметрам контрольной группы.

Сочетанное введение препаратов свинца и кадмия приводит к изменениям в структуре гепатоцитов, которые характерны для каждого отдельно, но вместе с тем имеют новые признаки.

При сочетанном введении соли кадмия и соли свинца массовый коэффициент печени одинаков, как при свинцовом отравлении ($7,1 \pm 0,35\%$ и $6,95 \pm 0,35\%$). Также почти одинаково изменяется размер и площадь гепатоцитов, размер ядер и ядерно-цитоплазматический индекс.

В сосудах печени отмечаются более выраженные изменения (через 3 часа) при сочетанном введении соли кадмия и соли свинца, по сравнению с введением только соли свинца.

Светооптически отмечается значительное полнокровие центральных вен, синусоидных капилляров и сосудов портальных трактов. В цитоплазме определяется выраженная вакуольная дистрофия, ядра печеночных клеток полиморфны по размерам и хроматинности.

При ультрамикроскопическом исследовании отмечается выраженное снижение электронной плотности хроматина ядер, с уменьшением его конденсированного компонента. Митохондрии увеличены в размерах, матрикс их несколько просветлен, значительно возрастает количество крист

Сокращается протяженность профилей гладкой и гранулярной эндоплазматических сетей, в цитоплазме практически отсутствуют зерна гликогена. В цитоплазме появляются участки, заполненные нежнохлопьевидными, слабоэлектронноплотными массами.

Сочетанное введение данных солей приводит к их взаимнопотенцирующему эффекту, вызывая патологические нарушения в ультраструктуре гепатоцитов, и прежде всего - в тех компонентах, которые ответственны за осуществление биоэнергетических и биосинтетических функций.

Как уже отмечалось, совместное введение двух токсикантов (соли кадмия и свинца) приводит к их взаимно потенцирующему эффекту в отношении поражения структурных компонентов печени. В связи с этим представляет определенный интерес дальнейшее исследование данного взаимодействия на примере совместного введения животным дроппа и соли свинца. Последний в экологическом отношении является довольно распространенным загрязнителем, в том числе и в зонах хлопководства, где может применяться в качестве дефолианта дроппа. Влияние свинца на ультраструктуру гепатоцитов в условиях отдельного введения животным описано ранее. Через 3 часа после сочетанного введения животным дроппа и свинца, светооптически, в печени наблюдается сохранность балочного строения паренхимии. Умеренно полнокровны сосуды портальных трактов, синусоидные капилляры, а также центральные вены. Характерным признаком при такой постановке экспериментов является появление слабых лимфоидноклеточных инфильтратов портальных трактов, местами – с проникновением в паренхиму.

При однократном введении бутылкаптакса крысам, через 3 часа патологические изменения в структуре печени мало выражены. Массовый коэффициент печени увеличился на 8,0% ($7,15 \pm 0,27\%$ по сравнению с контрольным: $6,62 \pm 0,18\%$) а через 24 часа - на 10,3% ($7,3 \pm 0,35\%$). Увеличение массового коэффициента печени свидетельствует о гепатотоксичности бутылкаптакса.

Наблюдается увеличение поперечных размеров гепатоцитов. При введении бутылкаптакса, через 3 часа поперечный размер гепатоцитов увеличился на 7,4% ($26,1 \pm 0,43 \text{ мкм}$), у контрольной группы на $24,3 \pm 0,43 \text{ мкм}$), а через 24 часа на 9,5% ($26,6 \pm 0,43 \text{ мкм}$) .

В ядрах гепатоцитов, через 3 часа после введения животным бутылкаптакса, снижено содержание хроматина, с умеренной тенденцией его к маргинации. Перинуклеарные пространства и ядерные поры узкие, размеры ядер варьируются.

Основные изменения патологического характера касаются Мх и эндоплазматической сети. В Мх различной величины, превалирует палочковидная форма, несколько увеличенная в размерах. Матрикс значительно просветлен, в части Мх просматриваются кристы, притом в состоянии гиперплазии, гликогеновые включения в цитоплазме .

В цитоплазме умеренно снижено содержание гликогена, имеющийся в наличии который расположен равномерно на площади среза клетки.

Отмеченное выше изменение морфологического статуса гепатоцитов продолжает развиваться и по истечении 24 часов после введения бутылкаптакса. В частности, светооптически общее, характерное для печени строение паренхимы сохранено, ядра гепатоцитов незначительно отличаются в диаметре. Для микроциркуляторного русла печени в данной экспериментальной группе характерно неравномерное полнокровие синусоидных капилляров. Для цитоплазмы гепатоцитов, через 24 часа после введения животным бутылкаптакса, характерна зернистость различной

степени выраженности, местами мелкая вакуолизация. В перипортальных зонах наблюдается слабо выраженный отёк.

При ультраструктурном исследовании гепатоцитов, через 24 часа после введения животным бутилкаптакса, выявляются ядра со сниженным количеством хроматина, особенно его конденсированной части. Ядра содержат 1-2 ядрышка, размеры которых уменьшены. Единичные печеночные клетки содержат ядра в состоянии пикноза.

Мх количественно уменьшены, преимущественно палочковидной формы. В части гепатоцитов наблюдается значительная плотность матрикса, в другой части – умеренное увеличение электронной плотности. Однако ни в одном, ни в другом случае кристы не выявляются.

Зернистая эндоплазматическая сеть подвержена сокращению, со снижением количества связанных с мембранами рибосом. Профили гладкой эндоплазматической сети расширены. Гликогена в цитоплазме очень мало. Синусоидные капилляры неравномерно расширены, перисинусоидные пространства также различной величины.

При воздействии дефолианта дроппа, через 3 часа массовый коэффициент печени составляет $7,08 \pm 0,35\%$ (+7,3%) а через 24 часа – $7,35 \pm 0,35\%$ (11,1%). Со временем растёт массовый коэффициент печени, а это свидетельствует о гепатотоксичности дроппа.

Через 3 часа после введения животными дефолианта дроппа, ядра гепатоцитов примерно одинаковых размеров, умеренно гипохромны. Наблюдается умеренное расширение просвета синусоидных капилляров. Ядра гепатоцитов при электронномикроскопическом исследовании, через 3 часа после введения дроппа, имеют ослабленную электронную плотность хроматина, особенно это касается его конденсированной части.

Зернистая эндоплазматическая сеть гепатоцитов через 3 часа после введения животным дроппа подвержена редукции, вакуольному расширению и фрагментации. В аналогичном состоянии находятся и профили ГЭС. В цитоплазме гепатоцитов практически отсутствуют зерна гликогена.

Расширению подвержены и профили везикулярного компонента пластинчатого комплекса. Цитоплазматический матрикс клеток, через 3 часа после введения животным дроппа несколько разрыхлен. Мало лизосом как первичных, так и аутофагосом.

Основными признаками патологии, определяемой светооптически, через 24 часа после введения животным дефолианта дроппа, являются полнокровие центральных вен, синусоидных капилляров и очистки сосудов портальных трактов, а также дистрофические изменения в гепатоцитах. Гепатоциты имеют мозаичность относительно степени пораженности: в одних выражена зернистость, а в других наблюдается выраженное просветление цитоплазмы.

Наблюдается увеличение поперечных размеров гепатоцитов. При введении дроппа, через 3 часа поперечный размер гепатоцитов увеличивается на 9,1% и на 11,0% через 24 часа ($26,5 \pm 0,43$ и $26,7 \pm 0,43$ мкм соответственно).

Электронномикроскопически, через 24 часа после введения животным препарата дропп, в гепатоцитах наблюдаются ядра с различными размерами, со снижением электронной плотности. У большинства ядер края изрезаны, хроматин расположен по периферии. Мх у части гепатоцитов значительно уменьшены в размерах, с выраженным уплотнением матрикса без визуализации крист. В единичных печеночных клетках вокруг Мх формируются вакуоли. В другой части клеток Мх увеличены в размерах, с просветлением матрикса и единичными кристами.

Митохондрий гепатоцитов, через 3 часа после сочетанного введения животным препаратов дроппа и свинца, имеет преимущественно уменьшенный диаметр, смешанную форму (круглую и палочковидную). Матрикс его умеренно уплотнен, кристы практически не определяются.

Структура балочного строения гепатоцитов через 24 часа после сочетанного введения животным препаратов дроппа и свинца, не претерпевает значительных изменений. По сравнению с группой, где в

аналогичный срок изучалось действие только препарата дропп. В данном наблюдении уменьшена степень наполнения центральных вен и синусоидных капилляров, снижен уровень внутриклеточного отёка, с некоторым увеличением зернистости цитоплазмы.

При ультраструктурном анализе гепатоцитов, через 24 часа после сочетанного введения животным препаратов свинца и дроппа, выявляются ядра округлой формы, которые бедны хроматином и содержат преимущественно по одному ядрышку. Количество Мх несколько снижено, они уменьшенного размера, преобладают палочковидные формы. Матрикс Мх значительно уплотнен, кристы не визуализируются. Часто наблюдается расширение перимитохондриальных пространств. Признаков нарушения целостности мембран данных органелл не обнаруживается. На всех исследованных препаратах выявляется резкое уменьшение зерен гликогена, вплоть до его полного исчезновения в цитоплазме гепатоцитов.

При воздействии бутылкаптокса и дроппа в отдельности, в обеих группах параллельно, с увеличением поперечных размеров гепатоцитов увеличивается площадь сечения ядер и это почти не изменяет ядерно - цитоплазматическое отношение (19,8-20,1%, (При воздействии солей кадмия и свинца эти параметры находились в пределах 19,2-19,7% в среднем)).

При воздействии бутылкаптокса, диаметр центральных вен увеличивается на 9,3(через 3 часа), на 11,2%(через 24 часа). Этот показатель ещё растёт при воздействии дроппа (11,0% и 14,1% соответственно).

Также наблюдается увеличение диаметра междольковых вен на 3-6%, междольковых артерий на 2-4%, и на 3-5% диаметр междольковых желчных протоков.

При введении бутылкаптокса и дроппа в отдельности, наибольшее увеличение отмечается в поперечных размерах синусоидальных капилляров, где их размеры больше по сравнению с контрольной группой на 35-40% (с $14,2 \pm 0,74$ до $14,8 \pm 0,74$ мкм (в контрольной группе равен в среднем - $10,5 \pm 0,25$ мкм)).

При исследовании ткани печени в световом микроскопе, через 3 часа после сочетанного введения животным бутилкаптакса и свинца, массовый коэффициент печени через 3 часа ($7,25 \pm 0,35\%$) и через 24 часа ($7,16 \pm 0,35\%$) больше, по сравнению с отдельным введением бутилкаптакса ($7,15 \pm 0,35\%$ через 24 часа) и соли свинца ($7,1 \pm 0,35\%$ через 3 часа).

Гепатоциты несколько отличаются размерами и диаметрами ядер. Последние преимущественно незначительно уменьшены в размерах и гипохромны. В цитоплазме гепатоцитов обнаруживается мелкая зернистость и вакуолизация. Синусоидные капилляры неравномерно расширены, в просветах наблюдаются звездчатые ретикулоэндотелиоциты с крупными, гиперхромными ядрами.

Ультрамикроскопически, в значительной части гепатоцитов, через 3 часа после сочетанного введения животным бутилкаптакса и свинца ядра, либо не содержатся ядрышки, либо последние малых размеров. Снижена электронная плотность хроматина. Содержание Мх в различных клетках варьируется - у одной части количество их снижено, у другой – они в пределах нормы. Основная часть Мх имеет палочковидную форму с выраженным уплотнением матрикса, с отсутствием крист. Часто обнаруживаются мелкие внутримитохондриальные включения.

В цитоплазме печеночных клеток, через 3 часа после сочетанного введения животным бутилкаптакса и свинца, практически не определяются зерна гликогена, тогда как при введении животным только бутилкаптакса в аналогичный срок наблюдения, количество его было лишь умеренно понижено. Умеренно расширены желчные капилляры, в просвете – большое количество коротких тонких микроворсинок. Межклеточные пространства расширены, иногда в них встречаются лимфоциты и сегментоядерные нейтрофилы.

Синусоидные капилляры в ткани печени, через 3 часа после сочетанного введения животным бутилкаптакса и свинца, широкие. В аналогичном состоянии и перисинусоидные пространства.

Отмеченные нарушения в ультраструктуре гепатоцитов усиливаются через 24 часа после сочетанного введения животным бутилкаптакса и свинца. Следует отметить, что при этом общая структура печени сохранена, наблюдается умеренное полнокровие сосудов портальных трактов. Вокруг последней нередко можно наблюдать слабые лимфоидноклеточные инфильтраты. Отмечается неравномерное расширение просветов центральных вен и прилегающих участков синусоидных капилляров. Гепатоциты полиморфны, часть их небольшого размера, с умеренным уплотнением цитоплазмы, другая часть увеличена в размерах, цитоплазма просветлена за счет наличия в ней вакуолей различного диаметра и зернистости. Наиболее выражены эти явления в центральных отделах печеночных долек. Следует особо заметить, что данные изменения носят мозаичный характер по площади гистологического среза.

Методом трансмиссионной электронной микроскопии также наблюдаются выраженные полиморфизмы в патологической картине интоксикационных изменений в печени через 24 часа после сочетанного введения животным бутилкаптакса и свинца.

Ядра печеночных клеток со сниженным количеством хроматина, в основной массе несколько уменьшены в размерах,. Преимущественно снижение хроматина идет за счет его конденсированной части, наблюдаемые ядрышки имеют слабую электронную плотность.

Мх количественно сохранились в прежнем числе, однако размеры их значительно варьируются, причем преобладают органеллы, в редких случаях наблюдаются мелкие внутримитохондриальные включения.

В билиарных полюсах клеток, через 24 часа после сочетанного введения животным бутилкаптакса и свинца, наблюдаются скопления липофусцина в виде мелких электронноплотных гранул. Синусоидные капилляры имеют различную ширину, просвет их заполнен продуктами биодеградаций гепатоцитов (миелиновые структуры), остатками органелл, встречаются редкие зерна гликогена, липидные вакуоли, сегментоядерные

нейтрофилы. Перисинусоидные пространства визуализируются плохо, заполнены редкими отёчными микроворсинками.

Установлено, что сочетанное введение животным бутилкаптакса и свинца, приводит к более тяжким патологическим изменениям структурного статуса гепатоцитов, чем их отдельное введение. Кроме того, следует отметить, что наблюдающиеся изменения ультраструктуры гепатоцитов, через 24 часа после сочетанного введения животным бутилкаптакса и свинца, носят более выраженный и глубокий характер, нежели в случае сочетания свинца с другим дефолиантом, дроппом.

При сочетанном введении соли свинца и дефолианта дроппа, массовый коэффициент печени незначительно меньше ($7,09 \pm 0,35\%$) по сравнению с отдельным введением дроппа ($7,35 \pm 0,35\%$) и свинца ($7,1 \pm 0,35\%$).

При сочетанном введении соли свинца и дроппа, поперечный размер гепатоцитов и площадь сечения цитоплазмы больше, по сравнению с отдельным введением этих препаратов, а также по сравнению с сочетанным введением соли кадмия и соли свинца, и при сочетанном введении бутилкаптакса и свинца.

Установлено увеличение ядер гепатоцитов. Эти явления свидетельствуют о реакции ядерно-цитоплазматического комплекса гепатоцитов.

При сочетанном введении бутилкаптакса и соли свинца, а также при сочетанном введении дроппа и соли свинца, отмечается усиление сосудистого рисунка внутripеченочных сосудов, которое выражается увеличением диаметров и полнокровьем.

Важным моментом, вытекающим из проведенных нами исследований, является обнаружение особой специфики изменений ультраструктуры гепатоцитов при сочетанном введении дефолиантов и соли свинца, как правило, не повторяющей ту перестройку, которую индуцирует отдельное введение токсикантов. Иными словами, здесь, как и в случае сочетанного введения препаратов свинца и кадмия, видимо реализуется взаимный

синергизм токсикантов. Основными структурами, наиболее подверженными морфофункциональным перестройкам как при сочетанном, так и при раздельном введении тяжелых металлов и дефолиантов, являются те, которые обеспечивают протекание энергетического обмена биосинтетических процессов.

Следует также отметить, что выраженные изменения в ультраструктуре гепатоцитов удается наблюдать уже через 3 часа после введения животным препаратов дефолиантов. Эти изменения, в зависимости от условий постановки эксперимента, либо значительно прогрессируют (сочетанное введение с солями свинца), либо даже несколько ослабевают к 24 часам. Наблюдения свидетельствуют о протекании репарационных процессов. В целом, полученные данные позволяют говорить о прямом взаимодействии исследованных дефолиантов с субклеточными структурами гепатоцитов и позволяют исключить, по крайней мере – на первых этапах, предположение об опосредованном механизме действия дефолиантов (влияние продуктов деградации пестицидов, срабатывание усилительных механизмов, модуляция активности эндогенных фосфолипаз, протеаз и т.д.). Однако более однозначные доказательства прямого действия, очевидно могли бы быть получены в экспериментах с мечеными пестицидами.

Изучение внутриклеточного распределения дроппа выявило, что он может проникать в цитоплазму, в ядро, в Мх и микросом всех исследованных нами тканей. Особенно, значительное его количество ассоциировано с ядрами, Мх и цитозолем легких и печени крыс.

В субклеточных фракциях легких значительное количество меченого дроппа ассоциировано с ядрами и цитозолем клеток (425-228 имп./мин.мг белка), несколько меньшее количество пестицида отмечается в Мх легких (118 имп./мин.мг белка).

В следующей серии экспериментов нами было выявлено распределение пестицида бутилкаптакса по органам крысы. Результаты исследований показали, что максимальное количество метки в крови

регистрируется через 20 минут после введения меченого пестицида. Через 60 мин после введения радиоактивного пестицида значительная активность обнаруживается в печени, легких и почке. Наименьшее накопление наблюдается в головном мозге крысы.

Исследование внутриклеточного распределения меченого бутилкаптакса выявило, что пестицид проникает в цитоплазму, в ядро, Мх и микросомальную фракцию клеток различных тканей. Значительное количество меченого пестицида ассоциировано с цитозолем и митохондриями печени, легких и почек.

В настоящей работе показано, что меченный дропп в значительных количествах обнаруживается в Мх и микросомах практически всех исследованных тканей. Опыты с радиоактивным бутилкаптаксом также показали, что этот пестицид может взаимодействовать с компонентами внутриклеточных структур и нарушить метаболизм в разных компонентах клетки.

Попытки выведения наиболее общих закономерностей в действии того или иного пестицида на функции Мх, осложняются существованием порой противоположных изменений, обусловленных величиной используемой дозы, частотой введения препарата, сроками эксперимента, условиями выделения и инкубации Мх. При этом с неизбежным постоянством возникает вполне резонный вопрос, сформулированный нами в предыдущих разделах: являются ли обнаруженные эффекты прямым следствием действия пестицида или же они отражают включение определенных механизмов в ответ на введение этого или другого ксенобиотика (опосредованные действия).

Возможно, эта проблема несущественна с точки зрения общей оценки энергетического состояния тех или иных тканей животного, отравленного пестицидом, при разработке путей коррекции энергетического обмена и т.д. Но эта проблема требует своего решения, если преследуется цель выявления первичных механизмов, последовательных этапов в реализации токсического действия.

Проведенные нами опыты *in vitro* показали, что пестициды дропп и бутилкаптакс эффективно влияют на дыхание и ОФ, на транспорт Ca^{2+} в Мх и пассивную проницаемость внутренних мембран Мх. В целом, индуцированное пестицидами неспецифическое увеличение проницаемости мембран и активности мембраносвязанных ферментов или транспортных систем может служить объяснением токсических свойств этих пестицидов. Более того, активность этих препаратов как дефолианта также может быть ассоциирована с мембранотропным действием, поскольку известно, что многие пестициды одинаковым образом модифицируют мембран Мх как животного, так и растительного происхождения.

Можно сделать вывод, что общая токсичность различных дефолиантов в целом коррелирует с их мембранной активностью. Следовательно, Мх животных тканей, мембраны клеток и БЛМ можно использовать в качестве простейшей и высокоинформативной тест-системы при оценке токсичности новых пестицидов и механизма их действия.

Изучение влияния некоторых тяжелых металлов и их смеси на дыхание, ОФ и пассивную проницаемость мембраны Мх для ряда катионов показало, что введение крысам тяжелых металлов вызывает изменение в функциональном состоянии Мх печени крыс такой направленности, что наиболее существенно нарушает эффективность фосфорилирования. При сочетанном введении тяжелых металлов (свинец и кадмий), механизм ОФ в изолированных Мх имеет ряд признаков, свойственных «свинцовому» отравлению, однако вместе с тем активность дыхательной цепи, оцениваемая по параметру $V_{\text{днф}}$, занимает промежуточное значение между вариантами с кадмием и свинцом. Полученные данные согласуются с результатами по влиянию ионов кадмия и свинца, при раздельном и сочетанном введении, на морфологию гепатоцитов.

При исследовании влияния тяжелых металлов и их смеси (свинец, кадмий, смесь свинца и кадмия) на ПОЛ, в биологических системах обнаружено, что соли свинца и кадмия увеличивают способность липидов

биологических мембран к перекисному окислению. Возможно, что в организме, в качестве защитной меры, может произойти усиление антиоксидантной защиты.

Проведенные нами эксперименты показали, что уксуснокислый свинец и сернокислый кадмий в количествах, соизмеримых с предельно допустимыми, способны вызывать модификацию как структурных, так и функциональных свойств мембран клеток и внутриклеточных органелл. Изменения структурно-функциональных характеристик, в свою очередь могут быть одной из причин наблюдаемых изменений в жизненно важных функциях клеток и их органелл. Есть веские основания говорить о нарушении функционирования антиоксидантной системы и активации процессов ПОЛ в организме человека и животных в условиях комбинированного воздействия тяжелых металлов, а также других загрязнителей окружающей среды.

Можно с уверенностью полагать, что подобный эффект, на мембраны клеток и их органелл, способны оказывать не только уксуснокислый свинец и сернокислый кадмий, но и другие органические и неорганические соединения данных металлов, и различные токсиканты вообще. На это указывают, в частности, наши эксперименты по изучению влияния на ультраструктуру гепатоцитов совместного и отдельного введения животным свинца и дефолиантов.

Крайне важное значение имеет показанный факт взаимоусиления влияния токсических соединений на структурно-функциональные параметры мембран. Совместное действие на организм ионов свинца и кадмия оказывает существенно более сильное воздействие, чем каждый из металлов поодиночке, даже если в случае изолированного воздействия используется большое количества металла. Иначе говоря, совместный эффект воздействия превышает арифметическую сумму эффектов каждого из токсикантов, поскольку они способны усиливать эффект друг друга. Из этого следует важный вывод, значение которого нельзя недооценить, а именно о стратегии

адекватного подхода к разработке санитарных и гигиенических норм в условиях контакта с промышленными токсинами и ядохимикатами в различном сочетании.

Даже строгое соблюдение предельно допустимых концентраций для каждого из токсикантов в отдельности, в условиях одномоментного контакта человека с несколькими из них, может привести к грубым нарушениям структуры и функции клеток различных тканей, в конечном счёте, к возникновению патологических состояний, профессиональных заболеваний и т.д.

Диаграмма № 7.1.

Морфометрическая характеристика диаметра центральной вены печени в норме, при отдельном введении солей тяжёлых металлов и дефолеантов

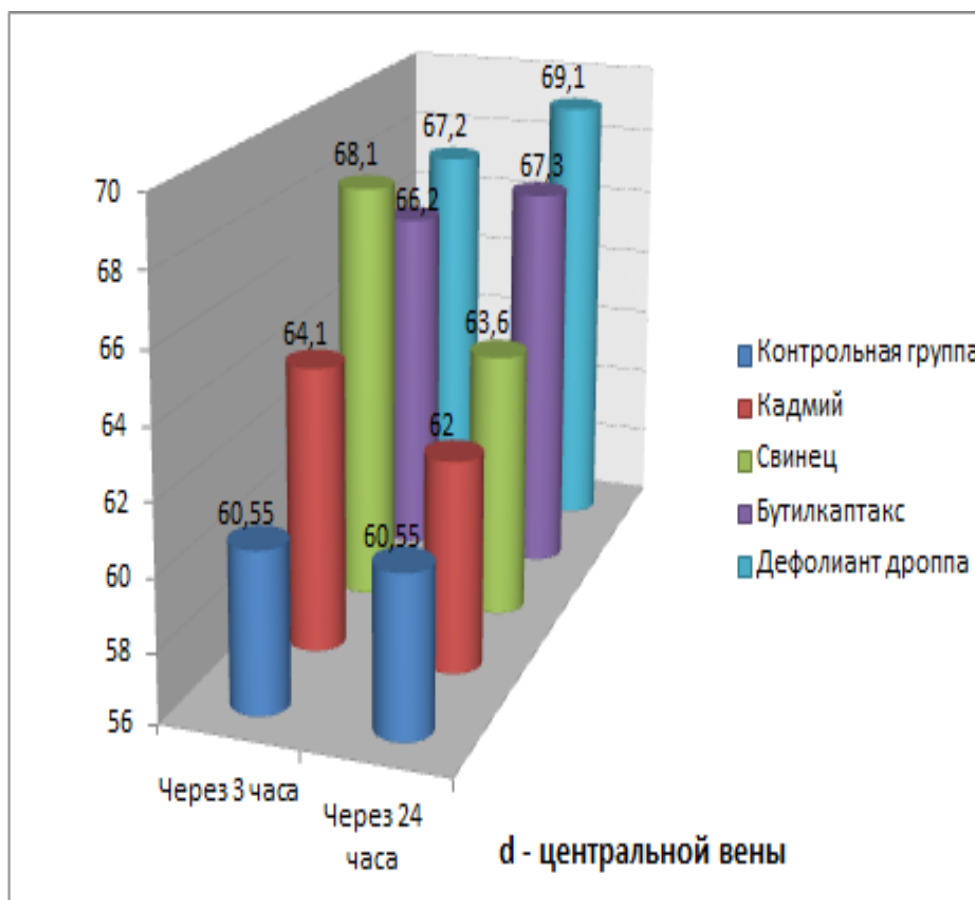


Диаграмма № 7.2.

Морфометрическая характеристика диаметра центральной вены печени в норме, при сочетанном введении солей тяжёлых металлов и дефолеантов

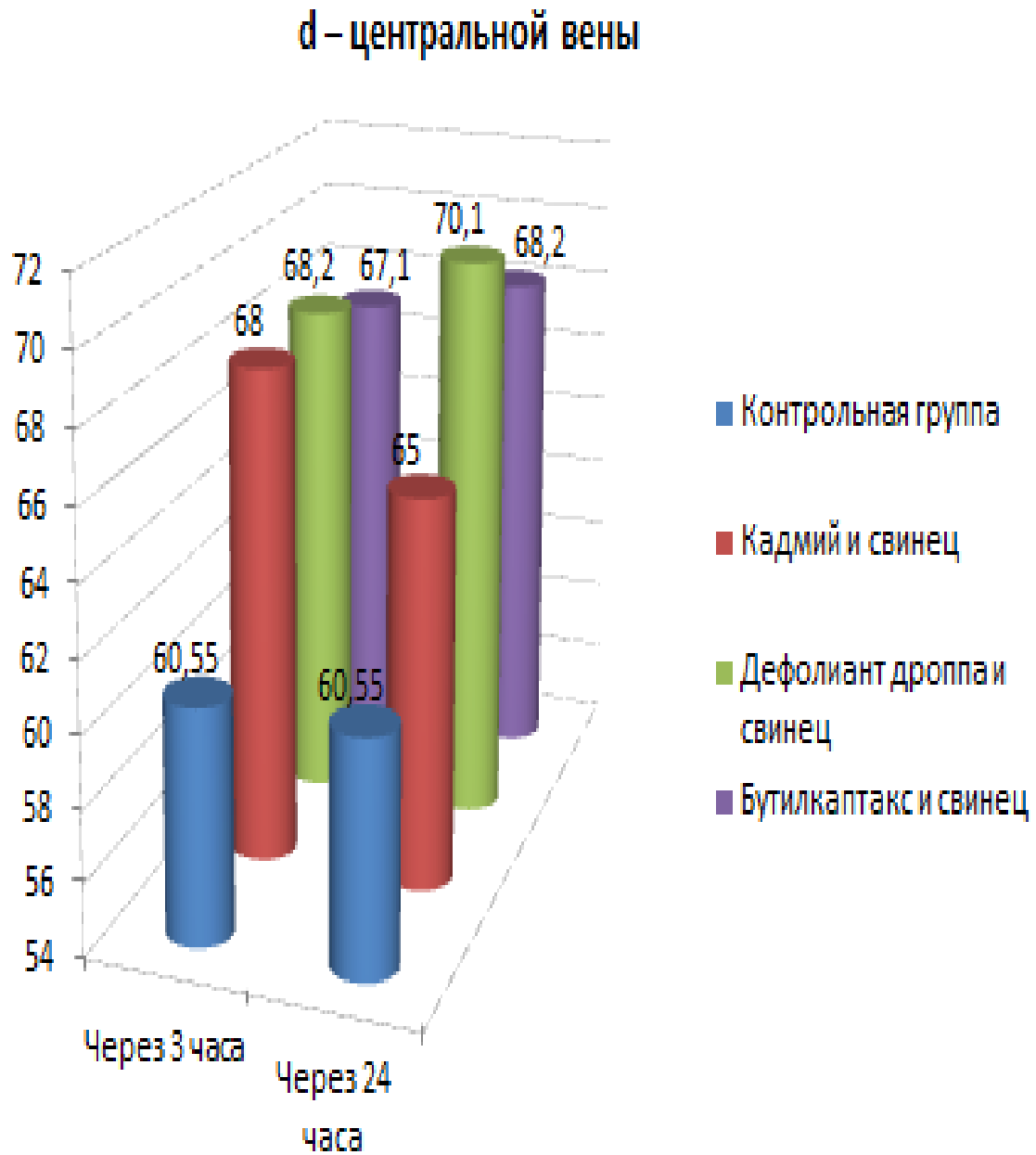


Диаграмма № 7.3.

Морфометрическая характеристика ядерно-цитоплазматического соотношения гепатоцитов печени в норме, при отдельном введении солей тяжёлых металлов и дефолеантов

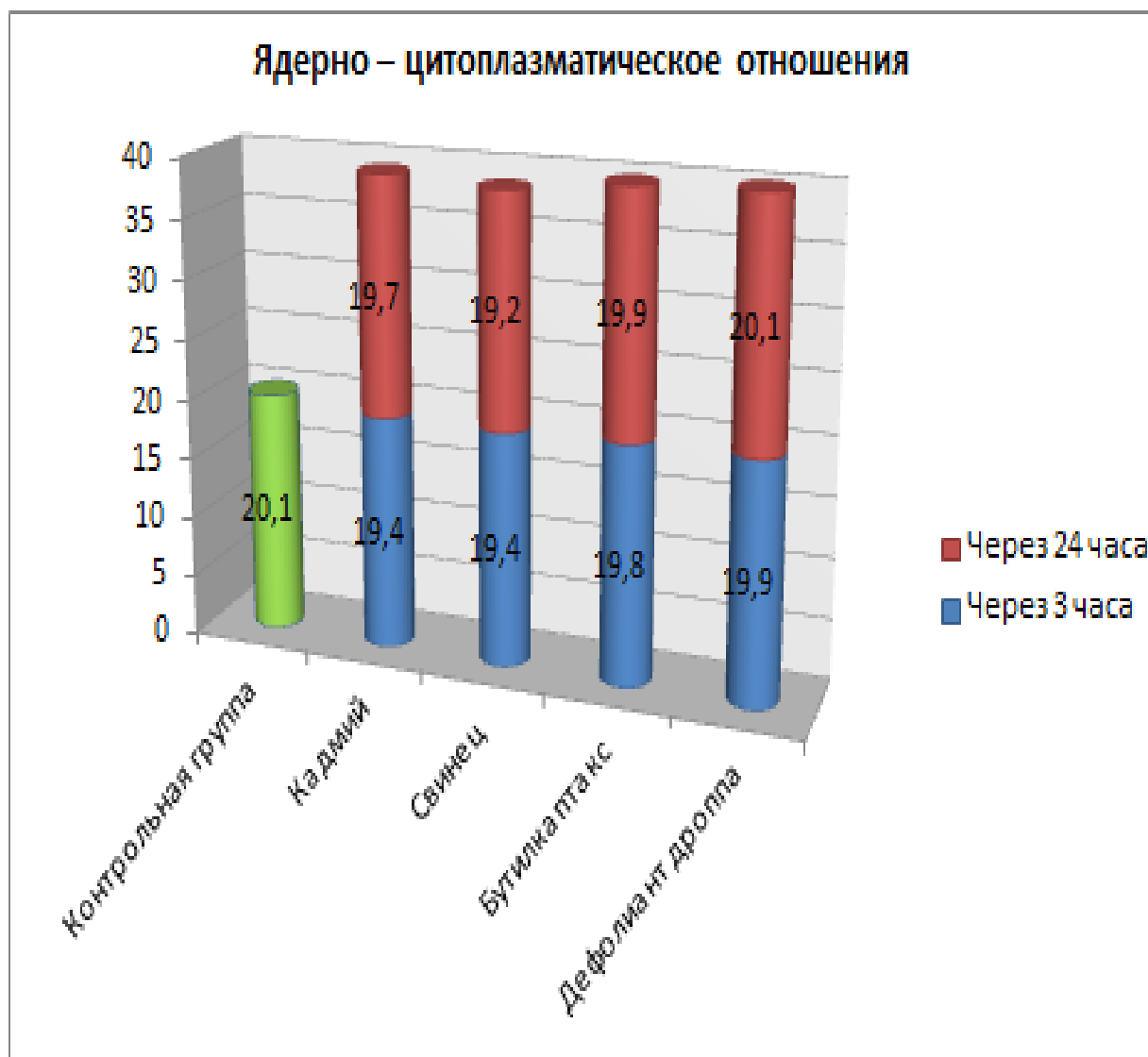
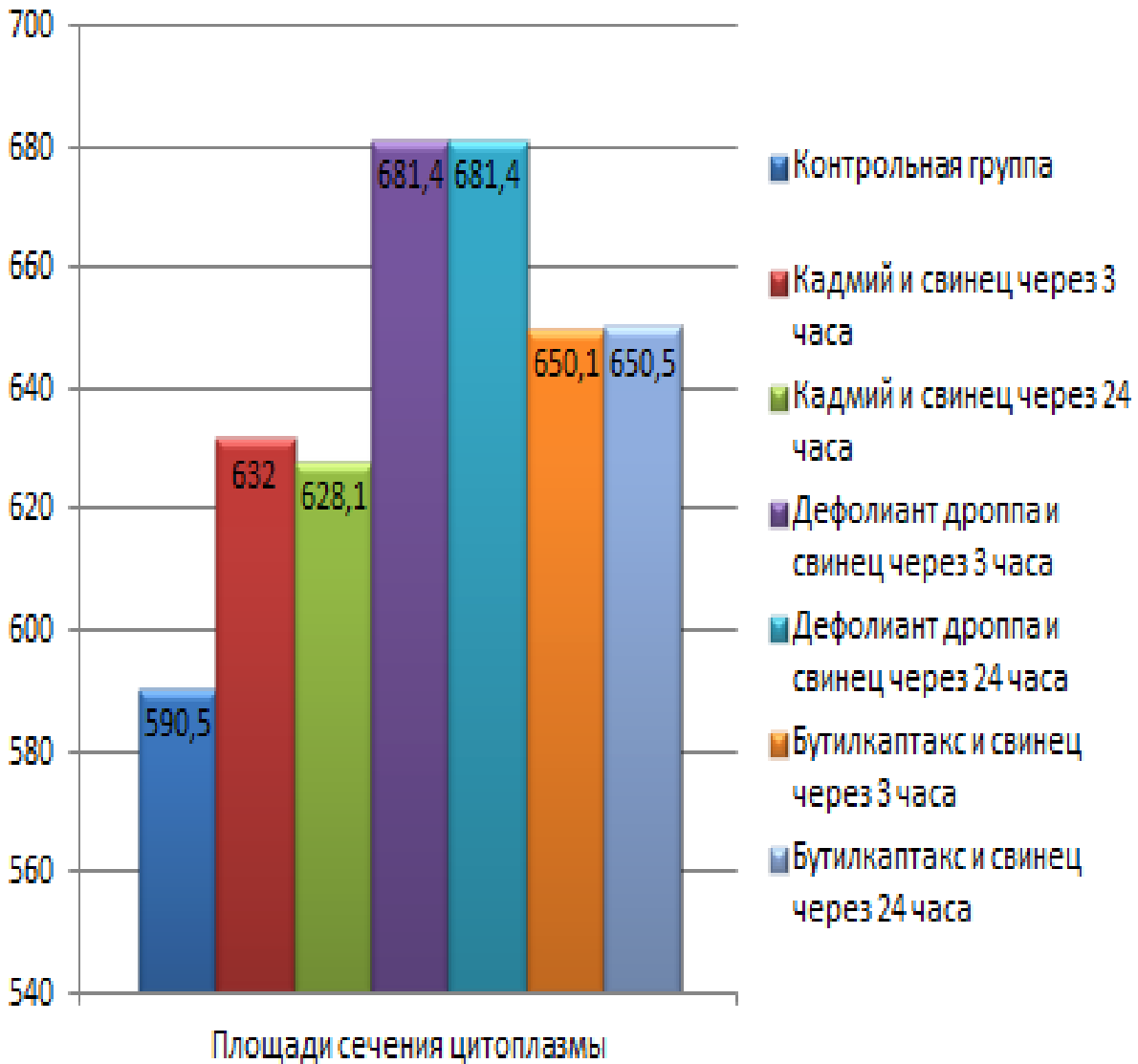


Диаграмма № 7.4.

Морфометрическая характеристика площади сечения цитоплазмы гепатоцитов в норме, при сочетанном введении солей тяжёлых металлов и дефолеантов



ВЫВОДЫ

1. Массовый коэффициент печени при отдельном введении химических веществ увеличивается в следующем порядке: соли кадмия > соли свинца > дефолиант бутилкаптокс > дефолиант дропп. Сочетанное применение соли кадмия и соли свинца отражает картину свинцового отравления. А сочетанное введение соли свинца с дроппом или бутилкаптоксом приводит к увеличению этого коэффициента. Это свидетельствует о более выраженной гепатотоксичности при сочетанном введении дефолиантов с солями тяжелых металлов, чем при введении в отдельности, каждого из этих химических веществ.

2. При отравлении солями тяжёлых металлов, реакция гепатоцитов и внутрипечёночных сосудов более выражена в ранние сроки после отравления (через 3 часа), а при отравлении дефолиантами в поздние сроки (через 24 часа).

3. При однократном введении животным соли препаратов свинца и кадмия в дозе 6 мг/100 г массы животного, в гепатоцитах поражаются структуры ответственные за гетеросинтез. В ядрах гепатоцитов отмечается умеренное уменьшение количества конденсированного хроматина, часть ядер не содержит ядрышек, некоторые ядра неправильной формы, количество митохондрий уменьшено. Сочетанное введение препаратов свинца и кадмия приводит к патологическим нарушениям в ультраструктуре гепатоцитов, которые ответственны за осуществление биоэнергетических и биосинтетических функций. При этом отмечается выраженное снижение электронной плотности хроматина ядер, с уменьшением его конденсированного компонента, отсутствием в цитоплазме зерна гликогена.

4. Однократное внутрибрюшное введение животным соли свинца (в дозе 6 мг/100 г массы тела) и кадмия, приводит к патологическим изменениям в митохондриях печени - увеличению размеров, снижению количества, фрагментации или исчезновению кристов, изменению формы. Характерным является увеличение электронной плотности матрикса

митохондрий, умеренная гиперплазия крист, фрагментация и вакуолизация профилей гранулярной и гладкой эндоплазматической сети. При их сочетанном воздействии отмечается увеличение митохондрий, просветление их матрикса, возрастание количество крист, сокращение протяженности профилей гладкой и гранулярной эндоплазматических сетей.

5. Интоксикация животных дефолиантом дроппа приводит через сутки к обширным изменениям в структуре гепатоцитов. Дропп проникает в цитоплазму, в ядро, в значительных количествах обнаруживается в митохондриях и микросомах практически всех исследованных нами тканей. Особенно значительное его количество ассоциировано с ядрами, митохондриями, цитозолем легких и печени крыс. Совместное введение солей свинца и дроппа в организм животных приводит к их взаимно потенцирующему эффекту в отношении поражения структурных компонентов печени, резкому уменьшению зерен гликогена, вплоть до его полного исчезновения в цитоплазме гепатоцитов.

6. В опытах *in vivo* бутылкаптакс поражает структурные компоненты печени. Сочетанное введение бутылкаптакса и свинца приводит к патологическим изменениям структурного статуса гепатоцитов, чем их раздельное введение. Наблюдающиеся изменения ультраструктуры гепатоцитов, через 24 часа после сочетанного введения животным бутылкаптакса и свинца, носят более выраженный и глубокий характер, нежели в случае сочетания свинца с другим дефолиантом, дроппом.

7. Показано, что меченные пестициды (дропп и бутылкаптакс) через 60-90 минут после введения накапливаются в легких, печени, почках, в головном мозге крыс. Обнаружено, что исследуемые пестициды проникают в цитоплазму, ядро, митохондрий и микросомальную фракцию клеток различных тканей. Значительное количество меченных пестицидов ассоциировано с цитозолем и митохондриями печени, легких и почек.

8. Обнаружено, что дефолианты бутылкаптакс и дропп в концентрациях 10-50 мкМ эффективно действуют на дыхание митохондрий в состоянии V_3 и

разобщают ОФ, индуцируют скорость выхода Ca^{2+} из митохондрий. Бутилкаптакс увеличивает пассивную проницаемость мембран митохондрий для ионов H^+ , K^+ , Ca^{2+} и незаряженных молекул сахарозы, а дропп для ионов H^+ и незначительно для K^+ .

9. В экспериментах *in vitro* и *in vivo* показано, что соли тяжелых металлов (кадмий, свинец) вызывают разобщение ОФ со снятием механизма дыхательного контроля, увеличивают пассивную проницаемость внутренних мембран митохондрий. Сочетанное введение животным смеси солей кадмия и свинца (доза 0,6 мг смеси/100 г массы ежедневно) через двое суток приводит к уменьшению синтеза АТФ, в результате ингибирования электрон-транспортной функции дыхательной цепи митохондрий печени крыс.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Экспериментально установлено, что воздействие пестицидов приводит к нарушению механизмов регуляции клеточных структур, сопровождающихся последующим необратимым нарушением самой клетки. Учитывая вышеизложенное, необходимо уменьшить контакт людей с пестицидами в объектах и зонах, загрязненных пестицидами.

2. Использование результатов диссертационной работы в токсикологических лабораториях судебно-медицинской экспертизы даст возможность определить отравление организма малыми дозами пестицидов, и позволит правильно определить диагноз пострадавшего.

3. В ходе исследования установлено, что сочетанное отравление организма пестицидами и солями тяжёлых металлов приводит к тяжелым нарушениям клеточных структур. При медицинских обследованиях и при медицинских комиссиях работников этой сферы, нужно учитывать степень тяжести протекания отравления у контактирующих, и исходя из этого, назначать соответствующее антидотное лечение.

4. Для определения токсинов в организме человека и животных, при подозрении на отравление пестицидами, солями тяжелых металлов или при сочетанном отравлении, важно учитывать группу и класс этих химических веществ, а также нужно определить остаточное количество химического реагента с помощью тонкослойной хроматографии.

5. По материалам диссертационной работы получены неопровержимые доказательства и результаты о разрушающих эффектах дефолиантов, солей тяжелых металлов особенно при их сочетанном воздействии. Учитывая эти данные, с гигиенической точки зрения, нужно пресекать пути попадания этих химических веществ в водные объекты и пищевые продукты.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абакумова О.Ю., Куценко Н.Г., Троенкина Л.Б., Мазаев В.Т., Гуляев В.А., Бродский Р.А., Хутиев Ц.С., Каримова М.К. Влияние хронической интоксикации бутифосом на синтез белка и нуклеиновых кислот в различных органах крыс и активность холинэстеразы крови // Вопросы мед.химии.- 1990. - Т.36. - № 4. - С.41-45.
2. Абдуллаева Г.З. Экологическая политика республики. Узбекистан в условиях поэтапной интеграции в мировом сообществе: Автореф. дисс.кан. биол. наук. - Ташкент, 2001. - 19 с.
3. Акиншина Н.Г. Биоэнергетические нарушения в митохондриях печени при интоксикации и возможные способы коррекции. Автореферат дисс.на соис.уч.ст.канд.биол.наук. - Ташкент. - 2001. - 24 с.
4. Албантова А.А. Влияние биологически активных соединений с антиоксидантной и рострегулирующей активностью на клеточные и субклеточные структуры// Автореф. дисс. ..канд.биол.наук. – Москва. - 2015. - 46 стр.
5. Албегова Ж.К., Брин В.Б., Гаглоева Э.М., Кабисов О.Т. Профилактика энтеросорбентами кардиотоксического действия молибдена в эксперименте // Медицинский вестник Северного Кавказа. - 2011. - Т. 22. - № 2. - С.56-58.
6. Алматов К.Т. Механизмы развития повреждений мембран митохондрий и роль липолитической системы. // Автореферат дисс... докт. биол.наук. - Ташкент. - 1990. - 32 с.
7. Алматов К.Т., Саидходжаев Г.М., Клемешева Л.С., Иргашев М.С. Защитное действие кобальта при инактивации сукцинатоксидазы и НАДН-оксидазы дыхательной цепи митохондрий фосфолипазой А2 // Узб.биол.журн. - Ташкент. - 1998. № 2. - С.32-35.
8. Алыкова Т.В. Химический мониторинг окружающей среды. Астрах. гос. пед. ун-т. - 2002. - 210 с.

9. Антипанова Н. А. Токсикологическая опасность функциональных изменений сердечно-сосудистой системы у экспонируемого населения центра черной металлургии // Экология человека. - 2010. - № 8. - С.13-20.
10. Антохина С.П., Патей Е.С. Влияние некоторых гербицидов на сельскохозяйственные растения// Ж. Труды БГУ. – 2011. - том 6. - часть 2. - С. 22-32
11. Арефьева А. С. Современные представления о влиянии соединений ртути на клеточном и системном уровне (обзор // Экология человека. - 2010. - № 8. – С.35.
12. Асраров М.И. Транспорт кальция в митохондриях: механизмы регуляции и влияние биологически активных соединений Дисс. докт. биол. наук. -Ташкент. -1999. -298 с.
13. Барабанщикова Л. Е. Содержание и распределение селена в агроландшафтах Северного Зауралья.: Автореф. дисс. канд.биол.наук. - Тюмень, 2013. – 48 с.
14. Бекман И.Н Экологическая химия//Курс лекции. - Москва, 2003г. 202 с.
15. Белан С. Р., Грапов А. Ф., Мельникова Г. М. Новые пестициды: Справочник. Издательский дом «Грааль». - М. - 2001 г. - 196 с.
16. Брагинская Ф.И., Султанова Г.Г., Зорина О.М. Влияние некоторых хлорсодержащих пестицидов на гемолитическую устойчивость и ацетилхолинэстеразную активность эритроцитов. - Бюлл.экспер.биол.и мед. – 2003. - №37. - С.36-38.
17. Брин В.Б., Митциев А.К., Митциев К.Г. Способ коррекции нефротоксического действия кадмия в эксперименте // Вестник новых медицинских технологий. - 2011. - Т. XVIII. - №2. - С. 194-195. 12
18. Будников Г.К. Диоксины и родственные соединения как экотоксиканты // Вопр. гинекол., акуш. и перинатол. -1997. - № 8. - С.38-44.
19. Бузолёва Л.С., Кривошеева А.М. Влияние тяжёлых металлов на размножение патогенных бактерий // Успехи современного естествознания. –

2013. №7. – С.30-33; URL: <https://www.natural-sciences.ru/ru/article/view?id=32582>

20. Бурова Т.Е. Биологическая безопасность сырья и продуктов питания. Потенциально опасные вещества биологического происхождения: Учеб. пособие. СПб.: НИУ ИТМО; ИХиБТ. - 2014. -136 с.

21. Бусверов А.О. Оксидативный стресс и его роль в повреждении печени //Росс. журн гастроэнтерологии, колопроктологии. - 2002. - №4. - С.21-25.

22. Валеева А.Р. Влияние кадмия на функциональные показатели состояния здоровья животных при экспериментальном туберкулезе: дис. канд. биол. наук. - Казань, 2017. - 158 с.

23. Вафин И.Ф. Влияние цеолита и сульфида натрия на естественную резистентность животных при сочетанном отравлении диоксином и хлоридом кадмия // Ветеринарный врач. - 2010. - №3. - С.14-16.

24. Вишняков А.И. Особенности влияния кадмия на минеральный обмен и морфологическое состояние репродуктивной системы млекопитающих и птиц // Фундаментальные исследования. - 2011. - № 9. - С. 135-138.

25. Внукова В. В. Исследование антиоксидантной системы в тканях животных при действии металлоорганического производного ртути // Кубанский научный медицинский вестник. - 2012. - № 3. - С. 36-38.

26. Волынец А.П. Фенольные соединения в жизнедеятельности растений // Минск: Белорус. Навука. - 2013 г. - с. 214.

27. Григорьев Е.И., Хавинсон В.Х., Малинин В.В., Григорьев А.Е., Кудрявцева Т.А. О роли водной среды в механизмах действия иммуноактивных пептидов в сверхмалых дозах. Бюл. эксперим. биол. и мед. - 2003. - 136. - №8. - с.173-178.

28. Губина О.А. Биологические эффекты кадмия при хроническом поступлении в организм крыс с питьевой водой // Токсикологический вестник. - 2007. - №4. - С.23-26.

29. Гуляева И.Л. Новые подходы к фармакокоррекции неспецифических составляющих патогенеза токсических поражений// Автореф. дисс. докт. мед.наук. - Томск, 2009. - 53с.
30. Гутникова А.Р. Возможность восстановления структуры печени при интоксикации солями тяжелых металлов // Медицина труда и промышленная экология. -2012. - №6. - С.32-35.
31. Гутникова А.Р. О Мембранотропном действии солей тяжелых металлов и основных путях его // Токсикологический вестник. - 2009. - №3 – С. 21- 27.
32. Гутникова А.Р. Оценка эффективности разных энтеросорбентов в коррекции морфологических изменений в печени и почках крыс, вызываемых солями тяжелых // Вестник фармации. - 2010. - № 4. - С. 54-59.
33. Гутникова А.Р. Эффективность коррекции морфофункциональных нарушений печени, индуцированных тяжелыми металлами / // Токсикологический вестник. - 2011. - № 1. (106). - С.14-16.
34. Дегтярева Т.Д. Экспериментально-теоретическое обоснование принципов биологической профилактики хронических интоксикаций неорганическими соединениями// Автореф. дисс. докт.биол.наук. – Екатеринбург. - 2002. - 56 стр.
35. Демиденко Н.М., Сирожиддинов Ш.С. Особенности эффекта кумуляции дроппа в зависимости от дозы и экспозиции. // В кн.: Пестициды и здоровье. - Краснодар, 1989. - с.122-125.
36. Джаббарова Г.Т. Первичная токсикологическая характеристика и кумулятивные свойства геметрела// Мед.журнал Узб. -1991.-№2. - С.48-50.
37. Дмитриева А.Г. Неспецифическая реакция микроводорослей на действие малых доз металлов. 2 Съезд токсикологов России, Москва, 10-13 нояб., 2003: Тезисы докладов. - М. - 2003. - с.92.
38. Дмитруха Н.Н. Изменения в иммунных органах крыс при субхронической интоксикации свинцом и кадмием // Біологія тварин. - 2010. - Т. 12. - №2. - С. 403-408.

39. Донник И.М. Динамика накопления экотоксикантов в биологических ресурсах регионов с интенсивной антропогенной // Ветеринария Кубани. - 2012. - № 6. - С. 21-24.

40. Дусчанов Б.А. Аральское море: проблемы экологии и здоровье. – Ташкент, 2002. - 87с.

41. Епифанцев А.В. Отдаленные медицинские последствия воздействия диоксинсодержащих экотоксикантов: диоксиновая болезнь. 2 Съезд токсикологов России, Москва, 10–13.нояб. - М. - 2003. - С.99-101.

42. Ермолина Е.В. Морфофункциональная характеристика гипоталамо-гипофизарно-адренокортикальной и иммунной систем организма экспериментальных животных при воздействии хрома и бензола// Автореф. дисс. канд.биол.наук. - Оренбург. - 2013. - 51 стр

43. Жаксылыкова А.К. Структурная перестройка лимфатического узла печени при хроническом экзотоксикозе кадмием // Медицина и образование в Сибири. - 2014. - №2. - С.43-49.

44. Жаксылыкова А.К. Ультраструктурные изменения в клетках печени при хроническом экзотоксикозе кадмием // Фундаментальные и прикладные исследования, разработка и применение высоких технологий в экономике, управлении проектами, педагогике, праве, культурологии, языкознании, природопользовании, биологии, зоологии, химии, политологии, психологии, медицине, философии, филологии, социологии, математике, технике, физике, информатике: мат. Междунар. науч.-практ. конф. - Санкт-Петербург. - 2014. - С.60-61.

45. Жапаркулова Н.И. Содержание гормонов в крови лактирующих крыс при интоксикации солями тяжелых металлов и их коррекция // Естественные и математические науки в современном мире. - 2015. - №35. С. 77-84.

46. Жоров Г.А. Токсический иммунодефицит при скармливании кормов, содержащих радионуклиды и тяжелые металлы // Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии. - 2011. - № 1. - С. 164-171.

47. Забродский П.Ф. Иммуотропные свойства ядов и лекарственных средств. Монография. - Саратов. - 1998. 7-8 с.
48. Забродский П.Ф. Мандыч В.Г. Иммуотоксикология ксенобиотиков. Монография. - Саратов: СВИБХБ, 2007. - С.306-309.
49. Забродский П.Ф., Германчук В.Г., Киричук В.Ф., Нодель М.Л., Аретаков А.Н. Антихолинэстеразный механизм как фактор иммуотоксичности различных химических соединений. Бюл. эксперим. биол. и мед. - 2003. - 136, №8. - с.202-204.
50. Застенская И.А. Изучение влияния полихлорированных бифенилов и тяжелых металлов на показатели иммунной системы в эксперименте // Токсикологический вестник. - 2014. - № 2. - С.28-31.
51. Здорнова О. В. Структурные изменения почек и поджелудочной железы при хроническом экспериментальном воздействии фталата свинца // Журнал анатомии и гистопатологии. - 2012. - т. 1. - № 4. - С.37-39.
52. Землянова М. А. Нарушения белкового профиля человека в условиях воздействия тяжелых металлов // Экология человека. - 2012. - № 7. - С. 7-14.
53. Ибодуллаев О.Н., Асраров М.И., Каликулов Дж., Гагельганс А.И., Усманов П.Б. Эффекты глицирретовой кислоты на процесс секреции медиатора// Российский Физиологический Журнал им.И.М.Сеченова. -2002.- 88.-№.3. - С.329-331.
54. Ибрагимова К.М., Алматов К.Т. Действие ионов кобальта на дыхательной функции митохондрий // Наука образование техника. Международный научный журнал. - Министерство образования и культуры Кыргызской Республики. - 2003. - №1-2. - С.104-109.
55. Иванов С.Д., Кованько Е.Г., Ямшанов В.А., Кошелевский В.К., Глушков Р.К., Иванова А.С., Иванова Т.М., Семенов Е.В. Влияние факторов, определяющих содержание металлов-экоотоксикантов в организме, на гиперчувствительное состояние человека и животных. 2 Съезд токсикологов России, Москва, 10-13 нояб., 2003: Тезисы докладов. - М. 2003. - С.117–118.

56. Иванов В.С. Роль промышленных предприятий в формировании загрязнения почвенного покрова кобальтом, медью, свинцом // Вестник Витебского государственного медицинского университета. - 2011. - Белоруссия. - № 3. - С.143-150.

57. Иваченко Л.Е. Изучение устойчивости растений сои к гербицидам на основе использования современных физиологических и биохимических методов // Журнал Дальневосточный аграрный вестник. -2012. - №3. - С.15-17

58. Илюшина Н.А., Егорова О.В., Масальцев Г.В., Аверьянова Н.С., Ревазова Ю.А. Мутагенность и канцерогенность пестицидов, опасность для здоровья человека. Систематический обзор//Health Care of the Russian Federation, Russian journal). - 2017. №61 (2). - С.96-102. (In Russ.).

59. Иноятов Ф.Ш. Индивидуальные особенности развитие адаптивных процессов организма при воздействие различных ксенобиотиков: Автореф. Дис. док.мед. наук. - Ташкент, 2003. -19 с

60. Исаева Э.З. Республикадаги демографик жараёнларнинг динамикаси ва экологик вазият // Ж.Теоритич и клинич медицина. - 2000.- С.140-141.

61. Исмаилова А.А., Яковенко К.В., Левицкая Ю.В. Влияние полуорганических соединений олова на энергонезависимую проницаемость мембран митохондрий печени крыс // Актуальные проблемы биологии, экологии и почвоведения: Тез.докл. респ.науч.прак.конф. 17-18 ноября 2006. - Ташкент, 2006. - С.104.

62. Йулдошев Ш.У., Умаров А.А. Вешкурова О.Н. Избирательное действие прометрина на фотосинтез и белковый обмен листьев хлопчатника и щирицы// АГРОХИМИЯ. - 2009. - №8. - с.35-38.

63. Кадиков И.Р. Морфофункциональная характеристика крови животных при сочетанном отравлении диоксином и кадмием в малых дозах // Ученые записки КГВАМ. - 2015. - Т. 222 (2). - С.115-118.

64. Кадилов, И.Р. Токсикокинетика тяжелых металлов в организме животных при сочетанном отравлении диоксином и токсичными элементами // Ветеринария и кормление. - 2015. - №5. - С.26-27.

65. Каримов Х. Я., Дадажанов Ш. Н., Иноятов Ф. Ш. Система ПОЛ-АОЗ в различных органах репродуктивной системы самцов при воздействии химических соединений // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. - 2002. - № 3. - С. 47-49

66. Каримов Х.Я. Фармакодинамика гексенала при интоксикации ксенобиотиками // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. - 2002. - № 3. - С. 44-46.

67. Карпова Е.А. Нанокompозитные материалы. Перспективы использования в // Научные исследования и разработки к внедрению в АПК: международная научно-практическая конференция молодых ученых 17-18 апреля 2013 г. Изд-во ИрГСХА . - Иркутск: - 2013.

68. Карпова Е.А. Морфофункциональная оценка биологического действия нанопрепарата селена при токсическом поражении печени // Актуальные вопросы ветеринарной медицины Сибири: материалы международной научно-практической конференции, посвященной 100-летию профессора Василия Родионовича Филиппова (27-29 июня 2013г, г. Улан-Удэ). Часть I. - Улан-Удэ: Изд-во БГСХА им. В.Р. Филиппова. - 2013. - С.12-15

69. Кершенгольц Б.М., Петрова П.Г., Саввинов Д.Д., Колосова О.Н. Экология и здоровье человека: Физиологические и биохимические реакции организма на экотоксиканты и пути их оптимизации. Материалы X Российско-Японского международного медицинского симпозиума Якутск: Сахаполиграфиздат. - 2003. - С. 29-33.

70. Кершенгольц Б.М. Химическое образование В Якутии в связи с развитием науки, химической и биотехнологической промышленности /Химия: образование, наука, технология /Сборник материалов

Республиканской научно-практической конференции. 16-17 октября 2003г. -
Часть 1. - С.5-9.

71. Киреев Р.А. Влияние ионов кадмия на свободнорадикальные процессы и активность Na-K-АТФ-азы в тканях самок крыс // Токсикологический вестник. - 2005. - № 4. - С.12-14.

72. Киреева Е.П. Нефротоксическое действие свинца, кадмия и его торможение комплексом биопротекторов // Токсикологический вестник. - 2006. - №3. - С. 23- 32.

73. Кирсанкина Е.В. Состояние сердечно-сосудистой системы, перекисное окисление липидов у рабочих в условиях адаптации к промышленному воздействию свинца: Автореф... Дис. на соиск. уч. степ.канд. мед. наук. Тюм. гос. ун-т. - Тюмень. - 2003. - 23 с.

74. Клюев Н.А., Курляндский Б.А., Ревич Б.А., Филатов Б.Н. Диоксины в России. - М., 2001. - №15-16.

75. Коблов Р.К., Алиев Н.А., Томилина Е.Е., Юлдашев Ф.С. Реакция dealкилирования как фактор механизма действия S-, N-, O-алкильных соединений. // Тезисы докл. V конф. биохим. респ. Средней Азии и Казахстана. - Ташкент. - 1991. - С.194.

76. Коломиец А.Ф. Полихлорполициклические ксенобиотики // Успехи химии. -1991. - № 3. - С.536-544.

77. Корнева Е.А., Новикова Н.С., Рыбакина Е.Г. Иммунофизиология и проблемы экологии //Симпозиум «Императивы экологии человека XXI века» посвященный 100-летию со дня рождения основателя отечественной экологической физиологии академика Д. А. Бирюкова 18 января 2005 г.

78. Коротков С.М., Глазунов В.В., Розенгарт Е.В., Суворов А.А., Нестеров И.П., Хованских А.Е. Влияние гидрофильного комплекса кадмия с анабазином на энергизованные митохондрии печени крысы // Доклады Академии наук России. - Россия, 1996. - Т. 346. - № 4. - С.552-554 .

79. Котельникова, С.В. Сезонные и половые особенности гравиметрических показателей эндокринных и иммунных органов в условиях

кадмиевой интоксикации // Экспериментальная физиология, морфология и медицина. - 2011. - № 4 (37). - С.103-109.

80. Кривоногова А.С. Физиологические и иммунологические показатели животных при накоплении повышенных концентраций тяжелых металлов в их органах и тканях // Аграрный вестник Урала. - 2013. - №6 (112). - С.15-20.

81. Крылова Е.А. Эффективность и механизмы защитно-восстановительного действия тиетазола при экспериментальной интоксикации фосфорорганическими соединениями// Автореф. дисс. канд.биол.наук. - Уфа, 2003. - 48с.

82. Кудаева И. В. Особенности и закономерности нарушений биохимических процессов у работающих в условиях воздействия различных токсикантов // Экология человека. - 2011. - № 01. - С. 3-10.

83. Кузубова Л.И., Шуваева О.В., Аношин Г.Н. Элементы-экоотоксиканты в пищевых продуктах. Гигиенические характеристики, нормативы содержания в пищевых продуктах, методы определения: Аналит. обзор / ГПНТБ СО РАН, Ин-т неорг. химии, Объед. ин-т геологии, геофизики и минералогии СО РАН. - Новосибирск, 2000. - 67 с.

84. Куликова Н.А., Лебедева Г.Ф. Гербициды и экологические аспекты их применения: Учебное пособие. М.: Книжный дом «ЛИБРОКОМ». - 2010. - 152 с.

85. Кулинский В.И. Обезвреживание ксенобиотиков // Ретроспективы и перспективы. М.: Наука. - 1999. - № 1. - С.8-12.

86. Куценко С.А. Основы токсикологии. Российский биомедицинский журнал. - 2003. март. [www. medline.ru](http://www.medline.ru).

87. Кучерко Н. И., Минаев Б.Д., Батулин В.А. Патоморфологические изменения печени у экспериментальных животных при хроническом воздействии ацетона и ацетата свинца // Медицинский вестник Северного Кавказа. - 2007. - Т. 5. - № 1. - С. 49-52.

88. Лазаренко Д.Ю., Жученко Н.А., Умнова Н.В., Румак В.С. Анализ состояния здоровья послевоенных поколений методами медико-генетической диагностики опасности среды обитания в разных регионах Вьетнама. 2 Съезд токсикологов России, Москва, 10–13 нояб., 2003: Тезисы докладов. - М. – 2003. - С.154-155.

89. Лахтин Ю.В. Гистоморфометрические изменения в альвеолярном отростке челюстей крыс под действием солей тяжелых металлов и протекцией альфа-липоевой кислоты // Вестник проблемы биологии и медицины. - 2012. - № 2(97). - С. 243-246.

90. Лахтін Ю.В. Особливості кумуляції важких металів в альвеолярному відростку щурів при їх надмірному надходженні // Загальна патологія та патологічна фізіологія. - 2012. - № 7(1). - С. 69-74.

91. Лисунова Л.И. Использование ионов кальция для снижения аккумуляции кадмия в органах и тканях перепелов // Доклады Российской академии сельскохозяйственных наук. - 2011. - № 4. - С.52-53.

92. Литвинов Н.Н. Научные основы мониторинга медицинских последствий химических нагрузок малой интенсивности. 2 Съезд токсикологов России, Москва, 10–13 нояб., 2003: Тезисы докладов. - М. - 2003. - с.157-158.

93. Литвинов Н.Н. Совершенствование научных основ профилактики заболеваемости, обусловленной химическими нагрузками малой интенсивности. 2 Съезд токсикологов России, Москва, 10–13 нояб., М., - 2003. - С.159-160.

94. Лукин С.В. Оценка содержания кадмия, свинца, ртути и мышьяка в агроценозах остепной зоны ЦЧО // Вестник Российской академии сельскохозяйственных наук. - 2013. - № 5. - С.18-21.

95. Малов А.М. Ртуть как приоритетный экотоксикант XXI века // Симпозиум «Императивы экологии человека XXI века» посвященный 100-летию со дня рождения основателя отечественной экологической физиологии академика Д.А.Бирюкова. - Москва, 2005. - С.194-195.

96. Маматова З. А. Регуляторные эффекты некоторых пестицидов на уровне митохондрий и внутриклеточного кальция // Автореф. дисс. канд.биол.наук. - Ташкент. 2000.- С.41.

97. Маматова З.А. Регуляторные эффекты некоторых пестицидов на уровне митохондрий и внутриклеточного кальция // Автореф. на соис. уч. ст. канд.биол.наук.- Ташкент. -1997. - 24с.

98. Матиосов А.Д. Влияние свинца и кадмия на биохимические показатели и продуктивность кур-несушек. Дис.канд.биол.наук. - Томск. - 2004. - 27 с.

99. Махмудов К.А. Коррекция нарушения детоксикационной функции печени при ее поражении экотоксикантами в разных периодах постнатального онтогенеза (патологическая физиология) Автореф. Дис. кан. мед. Наук. - Ташкент, 2002. - 19 с.

100. Маянский Д.И., Зубахин А.А. Клеточно-молекулярные механизмы формирования цирроза печени // Росс.журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии. -1998. -№6. - С.6-12.

101. Мирзоев Э.Б. Ответная реакция организма крыс (поколение F1) при хроническом воздействии кадмия в антенатальный и молочный период вскармливания // Токсикологический вестник - 2011. - №4. - С.16-20.

102. Мирзоев Э.Б. Ответная реакция организма крыс (поколение F1) при хроническом воздействии малых доз кадмия в антенатальный период развития // Токсикологический вестник. - 2014. - №4. - С. 29-33.

103. Митчиев А.К. Профилактика мелатонином кардио – нефро – и гепатотоксических эффектов тяжелых металлов в эксперименте Дисс. док мед. наук. Владикавказ. - 2015. - 285 с.

104. Мусаев Б.С. Влияние загрязнения водной среды ацетатом свинца на белково-липидные компоненты печени и почек сеголеток карпа /// Токсикологический вестник. - 2008. - №04. - С. 14-16.

105. Мусамухамедов С.Р. Влияние сочетанного действия пестицида амбуша и высокой температуры воздуха на некоторые показатели

репродуктивной функции в эксперименте. // В сб.: Экспериментальный мутагенез и клиническая генетика. (Таш.Гос.мед. инст.). - Ташкент, 1990. - С.46-48.

106. Мухомедзянова С.В., Пивоваров Ю.И., Богданова О.В., Дмитриева Л.А., Шулунов А.А. Липиды биологических мембран в норме и патологии (обзор литературы) // Acta Biomedica Scientifica. - 2017. - Т. 2. - №5. - С.43-48.

107. Надеин А. Ф. Влияние железнодорожного транспорта на состояние окружающей среды // Экология человека. - 2007. - № 11. - С.14-16.

108. Небель Наука об окружающей среде: В 2-х тт. - Мир. М., 1993. - С. 245.

109. Никитин А.И. Гормоноподобные ксенобиотики и репродуктивная система. Проб. Репрод. - 2002. -№2. - С.5-15.

110. Никитина И. А., Грицук А. И. Изменения топологии тимоцитов и показателей энергетического обмена тимуса в ближайшие сроки после облучения// Проблемы здоровья и экологии. - 2011г. - №4. - С.70-73

111. Новикова М.А. Влияние хронической свинцовой интоксикации на организм человека (сообщение 1) // Сибирский медицинский журнал (г. Иркутск). - 2013. - Т. 117. - № 2. - С.13-16.

112. Одланд Э. Как влияют на человека экотоксиканты // Эконорд. - 1998. - №1-2. - С.32-37.

113. Папуниди К.Х. Эффективность лекарственных средств при сочетанном отравлении белых крыс диоксином и кадмия хлоридом // Аграрный вестник Урала. - 2012. - № 5 (97). - С. 48-49

114. Паршина Е.Ю. Особенности взаимодействия новых гибридных антиоксидантов-ихфанов с эритроцитарной мембраной// Автореф. дисс. канд.биол.наук. - Москва, 2006. - 46 с.

115. Петров В.В., Подосиновичева Н.П., Долго-Сабуров В.Б Новый подход к количественной оценке токсического действия экотоксикантов //Симпозиум «Императивы экологии человека XXI века» посвященный 100-

летию со дня рождения основателя отечественной экологической физиологии академика Д. А. Бирюкова 18 января 2005 г. - с.346

116. Петров В.Г. Исследование превращений токсичных веществ в процессах трансформации техногенных продуктов и образований// Автореф. дисс. ... докт.хим.наук. Ижевск. - 2006. -58 стр.

117. Предельно допустимые концентрации (ПДК) и ориентировочные допустимые уровни (ОДУ) химических веществ в воде водных объектов хозяйственно-питьевого и культурно-бытового водопользования. - М.: РПОХВ. - 1998. - 171 с.

118. Предельные допустимые концентрации (ПДК) и ориентировочные безопасные уровни воздействия (ОБУВ) загрязняющих веществ в атмосферном воздухе населенных мест. - М.: РПОХВ. - 1998. - 201 с.

119. Радомский С.М. Влияние ртутного загрязнения на здоровье населения амурской // Информатика и системы управления. - 2007. - № 1. – С. 77-79.

120. Рахимов А.Д., Мирахмедов Ф.Ш., Сарibaева Н.Н. Влияние фитогормонов на рост и развитие хлопчатника // Журнал Современные тенденции развития науки и технологий. - 2017. - №1-2. - Стр.150-152

121. Рашидова Д.К. Применение биологически активных полимеров на хлопчатнике. Монография-Т.: «Навруз». - 2015. - 164 стр.

122. Реввель П., Реввель Ч. Среда нашего обитания: В 4-х книгах. – М.: Мир, 1994. - С.243.

123. Рукавишников В.С., Шаяхметов С.Ф., Бодиенкова Г.М., Курчевенко С.И. Взаимосвязь между содержанием ртути в биосредах и изменением иммунологических показателей у работающих // Фундаментальные исследования. - 2011. - №1. - С.165-170.

124. Русецкая Н. Ю. Структурно-функциональные закономерности биологического действия халькогеноорганических соединений. Дисс. док. биол. наук. - Саратов. - 2014. - 261 с.

125. Рыспекова Н.Н., Нурмухамбетов А.Н., Аскарлова А.Е., Аканов А.А.. Роль тяжелых металлов в развитии анемий (обзор литературы) // Вестник КазНМУ.

126. Садовников Н.В. Морфологические изменения у цыплят под действием тяжелых металлов // Ветеринария. - 2011. - № 10. - С. 52-53.

127. Саидов М.Б. Физико-химическая характеристика мембран эритроцитов крыс при гипотермии и на фоне введения даларгина // Автореф. исс. ..канд.биол.наук. - Махачкала. - 2001. - 42 стр

128. Саидходжаев Г.М., Иргашев М.С., Клемешева Л.С., Алматов К.Т. Влияние ионов кобальта на активность полиферментных систем дыхательной цепи митохондрии печени крыс // Узб.биол.журн. - Ташкент, 1996. - № 1-2. - С. 17-20.

129. Салимов Ю. Ветеринарияда қўлланиладиган замонавий пиретроидлар токсикологияси, ҳайвонларнинг захарланишини олдини олиш ва даволаш // Фан доктолик диссертацияси автореферати. - 2016. Самарқанд. - С.49.

130. Салимов Ю., Кулдошев Г., Хатамов Т. Хайвонлар иммун тизими ва репродуктив фаолиятига пестицидлар таъсирини ўрганиш."Ўзбекистонда озик-овқат дастурини амалга оширишда қишлоқ хўжалик фани ютуқлари ва истиқболлари." Республика илмий- амалий конференцияси. - Самарқанд. - 2015. 20-21ноябр. - С.62-65.

131. Салимов Ю., Салимова И., Нахалбоева А., Бобомуродов У. Сунъий перитроидлар билан захарланган хайвон ва паррандаларни даволаш ва олдини олиш чоралари. «Хайвон ва паррандаларда ўта хавфли касалликларнинг тарқалиши ва уларга қарши кураш чоралари». Бешинчи халқаро илмий конференция. ВИТИ. - Самарқанд. - 2016.- С. 255-257.

132. Самарцев В.Н. Соотношение между дыханием и синтезом АТФ в митохондриях печени при ингибировании транспорта электронов малонатом и в условиях токсического стресса // Биологические мембраны.- 2007.- Т.24, №3.- С.235-243.

133. Саноцкий И.В. Динамика философии единства живых организмов со средой их обитания (к теории ПДК и ПДУ) Симпозиум «Императивы экологии человека XXI века» посвященный 100-летию со дня рождения основателя отечественной экологической физиологии академика Д. А. Бирюкова 18 января 2005 г.

134. Саратовских Е.А. Процессы комплексообразования в механизме токсического действия загрязняющих веществ техногенного происхождения// Автореф. дисс. докт. биол. наук. - Москва. - 2009. - 56 стр

135. Севериновская Е.В., Зайченко Е.Ю. Биологические эффекты сочетанного воздействия низкодозового облучения и свинца. Международная научно-практическая конференция "Биосфера и человек", Майкоп, 2003: Материалы конференции. - Майкоп. – 2003. - С. 219-220.

136. Сейдалиева Л.Т., Мирхамидова П., Ишмуминов Б.Б., Худайберганава Г.К. Влияние пестицидов на активность некоторых ферментов печени крыс и пути их коррекции // Научный альманах. - 2015. - №11-4(13). - С.238-241

137. Скулачев В.П. Энергетика биологических мембран. - М.: Наука. -1989. - 564 с.

138. Слепцов И.В. Влияние экстрактов Шлемника обыкновенного, Горца птичьего и Щитовника пахучего на мышей при хроническом отравлении хлоридом кадмия (II) // Ветеринария. - 2015. - № 11. - С.55-57.

139. Смирнов А.М. Актуальные вопросы ветеринарно-санитарных мероприятий на территориях, загрязненных // Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии. - 2010. - № 2. - С.1-10.

140. Снежко С.И. Источники поступления тяжелых металлов в атмосферу // Ученые записки Российского государственного гидрометеорологического университета. - 2011. - № 18. - С. 35-37.

141. Сорокина Е.А. Актопротекторы - производные бензимидазола: влияние на цитохром P450-зависимые монооксигеназы и некоторые

особенности фармакокинетики// Автореф. дисс. ... канд.биол.наук. - Уфа, 2002. - 41с.

142. Софронова С.А. Изыскание средств для лечения животных при сочетанном отравлении солями свинца и кадмия // Автореф. дисс. канд.биол.наук. – Казань. - 2007. - 47с.

143. Софронова С.А. Изыскание средств для лечения животных при сочетанном отравлении солями свинца и кадмия: Дис.канд. биол. наук.: 16.00.04 / Софронова Светлана Анатольевна. - Казань. - 2008. - 158 с.

144. Степан Ю.Ж. Сорбция свинца и кадмия биологическиактивными добавками к пище из растительного сырья в биопрофилактике загрязнения среды обитания человека тяжелыми металлами. Дисс.канд. биол. наук. Нижний Новгород. - 2006. - С.14.

145. Степанова Е.В. Развитие адаптационных механизмов у самок белых крыс в ответ на воздействие ионов кадмия // Токсикологический вестник. - 2008. - № 3. - С. 23-27.

146. Стребкова З.В. Влияние экологических условий на качество продуктов животноводства // Известия Нижневолжского Агроуниверситетского комплекса. - 2011. - № 3 (23). - С.146-151.

147. Суворов Н.Б. Экологические факторы риска в жизнедеятельности человека // Симпозиум «Императивы экологии человека XXI века» посвященный 100-летию со дня рождения основателя отечественной экологической физиологии академика Д.А. Бирюкова. – Москва. - 2005. - С.218.

148. Суворова Г.Н. Реактивные изменения внутреннего сфинктера прямой кишки после химического повреждения // К 100- летию со дня рождения засл. деят. науки РСФСР профессора В.Г.Елисеева .- Сб. научн. трудов. - Москва. - 1999. - С.183-184.

149. Теплая Г.А. Тяжелые металлы как фактор загрязнения окружающей среды (Обзор литературы) // Астраханский вестник экологического образования. - 2013. - №1 (23). - С.182-192.

150. Ткаченко Е.А. Влияние α -токоферола и наночастиц серебра на морфологический состав крови мышей при экспериментальной кадмиевой интоксикации // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. - 2015. - №1 (51). - С. 84-87.

151. Тоштемирова М.Ж., Урманова Г.У., Асраров М.И. Изучение действия инсектицида фозалона на функции митохондрий печени крыс в опытах *in vivo* // Известия вузов. Химико-биологические науки. - 2002. - № 4. - С. 28-31.

152. Туйчиева Д.С. Влияние бутилкаптакса и дроппа на структурно-функциональное состояние митохондрий и микросом печени крыс в эмбриогенезе: Автореф. дисс. канд.биол.наук. - Ташкент. - 1994. - 38 с.

153. Туйчиева Д.С., Рустамов Р.Д., Мирахмедов А.К. Влияние бутилкаптакса и дроппа на некоторые биохимические показатели субклеточных структур печени эмбрионов и беременных крыс // Узб. биол. журн. - 1992. - JS1. - С.6-9.

154. Туйчиева Д.С., Шералиев А., Абдурахманова М., Мирзакаримова Ф. Влияние бутилкаптакса на активность оксидазных систем мембран митохондрий печени беременных и их эмбрионов // Актуальные проблемы биологии, экологии и почвоведения: Тез.докл. Респ. науч.прак.конф. 17-18 ноября. 2006. – Ташкент. - 2006. - С.112.

155. Тухтамурадов З.З. Энтеросорбционная терапия углеродными сорбентами при повреждении печени ксенобиотиками (патологическая физиология) Автореф. дис. ...канд. мед.наук. – Ташкент. - 2000. -19 с.

156. Умнова Н.В., Лазаренко Д.Ю., Жученко Н.А. Медико-генетические исследования состояния здоровья детского населения в загрязненной диоксидами провинции Бинь Зьонг (Binh Duong, Vietnam). 2 Съезд токсикологов России, Москва. 10–13 нояб. - М. - 2003. -264 с.

157. Утевский А. Ю., Котенёва Е. А., Утевский С. Ю., Утевская О. М. Оценка экологического разнообразия сообществ пиявок озера Белое,

Змиевский район, Харьковская область, Украина//Вісник Харківського університету. - 2001. - №5. - С. 243-245.

158. Шахина Д. В. Оценка современного состояния окружающей среды в рамках экологического сопровождения проектов. Монография. Издание второе. - М.: Мир науки. - 2018. - 169 с

159. Фокин В.А. Результаты оценки безопасности алиментарного поступления кадмия с использованием эпидемиологических и клинических данных // Медицина труда и экология человека. - 2015. - №3. - С. 221-226.

160. Франк Г.М., Кондрашова М.Н., Мохова Е.Н., Ротенберг Ю.С. Руководство по изучению биологического окисления полярографическим методом. М.: Наука. - 1973. - 224 с.

161. Фрумин Г.Т. Экологическая токсикология (экоотоксикология)// Курс лекций. Санкт-Петербург. СПб.: РГГМУ. - 2013. - 179 с

162. Хантурина Г.Р. Сравнительное действие солей кобальта на баланс белков и жидкости в организме крыс // Современные наукоемкие технологии: мат. межд. конф. (Египет, 2011) . Между народный журнал приклад.и фундамент. исследований. - 2011. - №5. - С.61-62.

163. Хантурина Г.Р. Анализ периферической крови животных под действием тяжелых металлов // Молодежь и глобальные проблемы современности: мат. респ. научно-практ. конф. (29 апреля). - Караганда. - 2011. - С.315-317.

164. Хантурина Г.Р. Влияние на организм человека и животных тяжелых металлов // «Новости научной мысли-2010»: междун. научно-практ. конфер. (27.10 – 05.11). - Прага. - 2010. - С.62-64.

165. Хантурина Г.Р. Выведение солей тяжелых металлов из органов экспериментальных животных // Современная ботаника: сб.трудов Межд. науч-практ. конф. (6-7 октября). - Караганда. - 2011. - С.266-269.

166. Хантурина Г.Р. Оценка действия солей железа и кобальта на динамику образования микроядер в эритроцитах крыс // Современная

физиология: материалы VII съезда казахского физиол. общества (14-16 сентября). - Алматы. - 2011. - С.291-292

167. Хантурина Г.Р. Токсическое действие некоторых тяжелых металлов в организме человека и // «Новые научные достижения-2011»: междуна. научно-практ. конфер. (17.03 – 25.03). - София. - 2011. - С.39-41.

168. Хантурина Г.Р. Функциональные нарушения организма при отравлении тяжелыми металлами: монография. - Lap Lambert Academic Publishing GmbH & Co.KG.- Saarbrücken. - 2011. - 274 с.

169. Хантурина Г.Р. Цитогенетические нарушения при интоксикации солями цинка и меди // Современные наукоемкие технологии.- Москва. - 2011. - № 3.- С. 13-15.

170. Чепурнов В.А., Бовтюшко В.Г., Поддубский Г.А., Софронов Г.А., Иванов А.А. Нарушения липидного обмена у работников нефтеперерабатывающих предприятий. //Симпозиум «Императивы экологии человека XXI века» посвященный 100-летию со дня рождения основателя отечественной экологической физиологии академика Д. А. Бирюкова 18 января 2005 г. - С.12-15

171. Чопикашвили Л.В. Модифицирующий эффект комплекса биологически активных веществ хвоща полевого (*Equisetum arvense* L.) на фоне воздействия свинца (Pb (II)) и топинамбура (*Helianthus tuberosus*) на фоне кадмия (Cd (II)) в ряде тест-систем (*Drosophila melanogaster*) и в клетках костного мозга млекопитающих (крыс линии Wistar) // Известия Горского государственного аграрного университета. - 2012. - Т. 49. - № 1-2. - С.414-417.

172. Шакирова Г.Р. Морфологические изменения печени, почек, сердца окуня *Perca fluviatilis* и щуки *Esox lucius* из озера Асылыкуль в результате загрязнения воды тяжёлыми металлами // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. - 2010. - Т. 2. - № 26-1. - С. 177-180.

173. Шаройко В.В. "Антиоксидантные и ДНК-репарационные системы в защите клеток от экзо- и эндогенных токсикантов: катионов свинца, фенолов и активных форм фенола" Дисс. ...канд. биол. наук.- Якутск: - 2003. -120 с.
174. Шерлок Ш., Дули Дж. Заболевание печени и желчных путей // Практическое руководство. М.: ГЭОТАР Медицина. - 1999. - 864с.
175. Шорникова, Н.И. Влияние кадмия на активность церулоплазмينا и АСТ сыворотки крови // Международный вестник ветеринарии. - 2013. - № 3. - С.64-67.
176. Шумакова, А.А. Токсичность кадмия при его совместном введении с диоксидом титана (рутил), наноструктурным диоксидом кремния и фуллеренолом // Профилактика и клиническая медицина. - 2015. - №1 (54). - С. 86-93.
177. Эйхлер В. Яды в нашей пище. - М.: Мир. - 1993. - 188 с.
178. Яценко О.В., Яценко В.П., Чайковський Ю.Б. Гистоэмбриогенетические и информационные аспекты понятия дефинитивного компонента эритрона в оценке особенностей деформабильности эритроцитов // Ж.Мир медицины и биологии. - 2013. - №1. - С.147-150
179. Adams S.V. Cadmium exposure and cancer mortality in the Third National Health and Nutrition Examination Survey cohort // Occupational and Environmental Medicine. - 2012. - Vol. 69. - № 2. - P. 153-156.
180. Adiel, R.C. Cadmium- and calcium-mediated toxicity in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in vivo: Interaction on fitness and mitochondrial endpoints // Chemosphere. – 2011. – V. 85. - № 0. – P.1604-1613.
181. Akbar, M. Effect of chromium and cobalt ions on primary human lymphocytes in vitro / M. Akbar, J.M. Brewer, M.H. Grant // Journal of Immunotoxicology. - 2011. - Vol. 8. - № 2. - P. 140-149.
182. Al Bakheet, S.A. Effect of long-term human exposure to environmental heavy metals on the expression of detoxification and DNA repair genes // Environmental Pollution. – 2013. – V. 181. – P. 226-232.

183. Al-Nasser I.A. Cadmium hepatotoxicity and alterations of the mitochondrial function // *J.Toxicol. Clin. Toxicol.* – 2000. – Vol. 38. – № 4. – P.407-413.

184. Ana Paula Branco et.al Camila de ssuming arsenic, cadmium, and lead contents in major crops in Brazil for food safety purposes// *Journal of Food Composition and Analysis* Volume 37. - February 2015. - P.143-150

185. Araya J., Maruyama M., Inoue., Fujita T., Kawahara J., Sassa K., Hayashi R., Kawagishi Y., Yamashita N., Sugiyama E., Kobayashi M. Inhibition of proteasome activity is involved in cobalt-induced apoptosis of human alveolar macrophages // *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* – 2002. – Vol. 283. – № 4. – P. 849-858.

186. Arnaud Mourier, Anne Devin, Michel Rigoulet. Active proton leak in mitochondria: A new way to regulate substrate oxidation//*Biochimica et Biophysica Acta* 1797 (2010). - P. 255–261

187. AsrarovM.I., UrmanovaG.U., MamatovaZ.A.. The influence of some insecticides on the cyclosporine A-sensitive pore of mitochondria membranes// *International workshop on biotechnology commersialization and security, dedicated to the 90th Anniversary of Academician Sadykov. Tashkent. October 14-17,- 2003.* - P. 104.

188. Atika Islam, Muhammad F.M. Toxicity of pesticides on CNS// *Journal of Toxicological Analysis.* - Vol.1 - N.1(7). – P.111-116

189. Au D.W., Reunov A.A., Wu R.S. Reproductive impairment of sea urchin upon chronic exposure to cadmium. *Environ Pollut.*- 2001.-V.111.-N1.- P.11-20.

190. Belyaeva E.A., Glazunov V.V., Korotkov S.M. Cyclosporin A - sensitive permeability transition pore is involved in Cd²⁺-induced dysfunction of isolated rat liver mitochondria: doubts no more // *Arch Biochem Biophys.* 2002. – Vol. 405. – № 2. – P. 252-64.

191. Berrahal, A. A. Effect of age-dependent exposure to lead on hepatotoxicity and nephrotoxicity in male rats // *Environmental Toxicology*. - 2011. - Vol. 26. - № 1. – P. 68-78.

192. Blum J. L. Short-term inhalation of cadmium oxide nanoparticles alters pulmonary dynamics associated with lung injury, inflammation, and repair in a mouse model // *Inhalation Toxicology*. - 2014. - Vol. 26. - № 1. - P. 48-58.

193. Bonacker D. Genotoxicity of inorganic mercury salts based on disturbed microtubule // *Archives of Toxicology*. - 2004. - Vol. 78. - N 10. - P. 575-583.

194. Borisova T. Presynaptic malfunction: The neurotoxic effects of cadmium and lead on the proton gradient of synaptic vesicles and glutamate transport // *Neurochemistry International*. - 2011. - V. 59. - № 2. - P. 272-279.

195. Catalani S. Neurotoxicity of cobalt // *Human & Experimental Toxicology*. - 2012. - Vol. 31. - № (5). - P. 421-437.

196. Chen K.L. Mercuric compounds induce pancreatic islets dysfunction and apoptosis in vivo // *International Journal of Molecular Sciences*. - 2012. - Vol. 13. - № 10. - P.12349-12366.

197. Claudia Cerella, Marc Diederich. The dual role of Calcium as messenger and stressor in cell damage, death, and survival // *International Journal of Cell Biology* 2010. - Volume 3 Article ID 546163. - P. 14.

198. Cupertino, M. C. long-lasting morphofunctional remodelling of liver parenchyma and stroma after a single exposure to low and moderate doses of cadmium in rats // *international journal of experimental pathology*. - 2013. - vol. 94. - № 5. – P. 343-351.

199. De Pinto V., Messina A., Accardi R., Aiello R., Guarino F. et al. New functions of an old protein: the eukaryotic porin or voltage dependent anion selective channel (VDAC) // *Ital J.Biochem*. 2003. – Vol. 52. – № 1. – P.17-24.

200. Devitt B.M. Cobalt ions induce chemokine secretion in a variety of systemic cell lines // *Acta Orthopaedica*. — 2010. - Vol. 81. - № 6. - P. 756-764.

201. Dineley K.E., Votyakova T.V., Reynolds I.J. Zinc inhibition of cellular energy production: implications for mitochondria and neurodegeneration // J. Neurochem.2003. – Vol.85. – №3. – P. 563-570.

202. Gerardo Janairo Determination of the Sensitivity Range of Biuret Test for Undergraduate Biochemistry Experiments// e -Journal of Science & Technology (e-JST). - N.(5), 6. - 2011. – P. 77-83

203. Gimelli A. Assessment of myocardial adrenergic innervation with a solid-state dedicated cardiac cadmium-zinc-telluride camera: first clinical experience / Journal - Cardiovascular Imaging. - 2014. - Vol. 15. - № 5. – P. 575

204. Halestrap A.P. Mitochondrial permeability: dual role for the ADP/ATP translocator? // Nature. 2004. – Vol. 430. – № 7003. – P. 983-989.

205. Hanna Andrea Rother Pesticide Usage and Health Consequences for Women in Developing Countries: Out of Sight, Out of Mind?// INT J Occup environ health. - 2002. - №8. - P.46-59

206. Institoris L. Immunotoxicological examination of repeated dose combined exposure by dimethoate and two heavy metals in rats // Human and Experimental Toxicology. – 1999. – V. 18. № 2 – P. 88-94.

207. Isenberg J.S., Klaunig J.E. Role of the mitochondrial membrane permeability transition (MPT) in rotenone-induced apoptosis in liver cells // Toxicol.Sci. 2000. – Vol. 53. – № 2. – P.340-51.

208. Jumarie C. Cadmium transport through type II alveolar cell monolayers: contribution of transcellular and paracellular pathways in the rat ATII and the human A549 cells // BBA. – 2002. – Vol. 1564. –№ 2. – P. 487-499.

209. Jumarie C., Denizeau F., Campbell P.G., Hontela A., Bolduc J.S., Raynal N., Miskurka M., Aduayom I., Diep T.N., Segui J., Pilon D. Metal extrusion mechanisms as key steps modulating metal bioavailability and toxicity.

210. Jung J.Y., Kim W.J. Involvement of mitochondrial- and Fas-mediated dual mechanism in CoCl₂-induced apoptosis of rat PC12 cells // Neurosci. Lett. – 2004. – Vol.371. – №2-3. – P.85-90.

211. Kondoh M., Araragi S., Sato K., Higashimoto M., Takiguchi M., Sato M. Cadmium induces apoptosis partly via caspase-9 activation in HL-60 cells. *Toxicology* 2002 Jan 15. - N170(1-2). - P.111-117.

212. Lacorte L.M. Early changes induced by short-term low-dose cadmium exposure in rat ventral and dorsolateral // *Micrascopy Research and Technique* 2011 – V. 74. -№ 11. – P. 988-997.

213. Lemasters J.J., Holmuhamedov E. Voltage-dependent anion channel (VDAC) as mitochondrial governor-thinking outside the box // *BBA*. – 2006. – Vol. 1762. - № 2. – P. 181-190.

214. Lemasters J.J., Nieman A.L. The mitochondrial permeability transition in cell death: a common mechanism in necrosis, apoptosis and autophagy // *BBA*. - 1998. -V.1336. - P.177-196.

215. Lengyel Z. Neurotoxic and general effects of combined subchronic exposure of rats to insecticides and heavy metals // *Acta Biologica Hungarica*. – 2006. – V. 57. - № 4. – P. 423-432.

216. Lewis C.P., Demedts M., Nemery B. Indices of oxidative stress in hamster lung following exposure to cobalt (II) ions: in vivo and in vitro studies // *Am J. Respir.Cell.Mol.Biol*. – 1991. – Vol. 5. – № 2. – P. 163-169.

217. Liao V.H, Freedman J.H. Characterization of a cadmium-inducible isoform of pyruvate carboxylase from *Caenorhabditis elegans*// *DNA Seq*. – 2001. - N.12(2). - P.137-145.

218. Liu J. Role of oxidative stress in cadmium toxicity and carcinogenesis // *Toxicology and Applied Pharmacology*. - 2009. - Vol. 238. - № 3. – P.209-214.

219. Manish Mittal, Mohammad Rizwan Siddiqui. Reactive Oxygen Species in Inflammation and Tissue Injury/ *Antioxidants & Redox Signaling*. -2014. -Vol 20. - №7. – P.164-168

220. Mazzei V. Bioaccumulation of cadmium and lead and its effects on hepatopancreas morphology in three terrestrial isopod crustacean // *ecotoxicology and environmental safety*. - 2014. - vol. 30. - № 110. – P. 269-279.

221. Min L., Takashi K., Qing-Li Z., Fu-Jun L., Kiyoshi T., Yoko A., Zong-Can Z., Minoru K. Apoptosis Induced by Cadmium in Human Lymphoma U937 Cells through Ca²⁺-calpain and Caspase-Mitochondria- dependent Pathways // J. Biol. Chem. – 2000. – Vol.275. Iss.50. – P.39702-39709.

222. Noli M.I., Pavia M.A.Jr., Brignone J.A., Haggmuller K., Zaninovich A.A. Cadmium chloride prevents the rise in rat brown adipose tissue mitochondrial respiration in response to acute cold stress// Bull. Environ. Contam. Toxicol.-1998.- 61.-1.-31-37.

223. Nordberg G.F., Fowler B.A., Handbook on the Toxicology of Metals: Toxicity of Metal and Metal Oxide Nanoparticles / Nordberg M., Elsevier. - 2014. - N.4. - P.75-112

224. Oubrahim H., Stadtman E.R., Chock P.B. Mitochondria play no roles in Mn(II)-induced apoptosis in HeLa cells // Proc. Natl. Acad. Sci. – USA. - 2001. - Vol. 98. - P.9505-9510.

225. Pant N. Reproductive toxicity of lead, cadmium, and phthalate exposure in men // Environmental Science and Pollution Research. - 2014. - Vol. 21. - № 18. - P. 11066-11074.

226. Park S. J. Protective effects of Korean red ginseng extract on cadmium-induced hepatic toxicity in // Journal of Ginseng Research. - 2013. - Vol. 37. - № 1. - P.37-44.

227. Patnaik B. B. Induction of oxidative stress by non-lethal dose of mercury in rat liver: possible relationships between apoptosis and necrosis // Journal of Environmental Biology. - 2010. - Vol. 31. - № 4. - P. 413-416.

228. Petrovic Z. Cadmium and mercury accumulation in European hare (*Lepus europaeus*): age-dependent relationships in renal and hepatic tissue // Environmental Science and Pollution Research. - 2014. - V. 21, № 4. - P. 14058-14068.

229. Poncet D., Boya P., Metivier D., Zamzami N., Kroemer G. Cytofluorometric quantitation of apoptosis-driven inner mitochondrial membrane permeabilization // Apoptosis. - 2003. - Vol. 8. - № 5. - P. 521-530.

230. Rikans L.F., Yamano T. Mechanisms of cadmium-mediated acute hepatotoxicity// *J Biochem Mol Toxicol.* - 2000.– V.14. – N2. – P. 110-117

231. Robertson J.D., Orrenius S. Molecular mechanisms of apoptosis induced by cytotoxic chemicals // *Crit. Rev. Toxicol.* - 2000. - Vol.30. - P. 609-627.

232. Ruan O., Lesort M., MacDonald M.E., Johnson G.V. Striatal cells from mutant huntingtin knock-in mice are selectively vulnerable to mitochondrial complex II inhibitor-induced cell death through a non-apoptotic pathway // *Hum. Mol. Genet.* 2004. - Vol. 13. - № 7. - P. 669-681.

233. Safahieh A. Effect of sublethal dose of mercury toxicity on liver cells and tissue of yellowfin seabream // *Toxicology and Industrial Health.* - 2012. - Vol. 28. - № 7. - P. 583-592.

234. Sasaki M., Miyazaki K., Koga Y., Kimura G., Nomoto K., Yoshida H. Calcineurin-dependent mitochondrial disturbances in calcium-induced apoptosis of human immunodeficiency virus gp160-expressing CD4+ cells// *J Virol.*- 2002.- V.-76. - N1. -P.416-420.

235. Satoru, D. Gene expression signatures in peripheral blood cell from Japanese women exposed to environmental cadmium // *Toxicology.* – 2009. – V. 257. - № 1-2. - P. 25-32.

236. Shariq I. Sherwani, Ibrahim A. Arif and Haseeb A. Khan. Modes of Action of Different Classes of Herbicides//*J. Herbicides, Physiology of Action, and Safety.* - 2015. Chapter 8. DOI: 10.5772/61779

237. Simpkins C., Lloyd T., Li S., Balderman S. Metallothionein-induced increase in mitochondrial inner membrane permeability// *J. Surg. Res.* Feb. 1998. – Vol. 15. – № 75. – P. 30-34.

238. Smith L.J. The cytotoxicity and genotoxicity of soluble and particulate cobalt in human lung fibroblast // *Toxicology and Applied Pharmacology.* - 2014. - Vol. 278. -№ 3. – P. 259-265.

239. Smulders C.J.G.M., Bueters T.J.H., Vailati, S., van Kleef, R.G.D.M., Vijverberg H.P.M. Block of Neuronal Nicotinic Acetylcholine Receptors by Organophosphate Insecticides // *Toxicol. Sci.* – 2004. – Vol. 82. – P. 545-554.

240. Spetale M.R., Moricoli L.S., Rodrigus G.E. The effect of organophosphorous compounds on respiration by rat livermitochondria. // *Farmacol. Ed. Sci.* - 1977. - V. 32. - N2. - P.166-172.

241. Stephan Wagner Mitochondrial Energy Signaling and Its Role in the Low-Oxygen Stress Response of Plants// *American Society of Plant Biologists.* - 2012. DOI: <https://doi.org/10.1104/pp.17>

242. Stohs S.J., Bagchi D., Hassoun E., Bagchi M.. Oxidative mechanisms in the toxicity of chromium and cadmium ions. *J Environ Pathol Toxicol Oncol.* - 2001. - N.20(2). - P.77-88.

243. Tafur A.J., Gonzalez L., Idrovo L.A., Tafur A. Unusual complication of an organophosphate poisoning // *Emerg. Med. J.* - 2005. – Vol. 22. – P. 531-537.

244. Tetsuo Satoh, Ramesh C. Gupta. *Anticholinesterase Pesticides: Metabolism, Neurotoxicity, and Epidemiology.* Publisher. John Wiley & Sons. - 2011. – pp.625

245. Tukcan A. Cadmium – a novel risk factor for cardiac hypertrophy and heart failure // *European Surgery.* – 2011. – V. 43. – P. 24.

246. Ung C. Y. Mercury-induced hepatotoxicity in zebrafish: in vivo mechanistic insights from transcriptome analysis, phenotype anchoring and targeted gene expression validation // *BioMed Central Genomics.* - 2010. -Vol. 11. 212.

247. Valko M., Morris H., Cronin M.T. Metals, toxicity and oxidative stress // *Curr. Med. Chem.* 2005. – Vol. 12. – № 10. – P. 1161-1208.

248. Vera Stejskal *Allergy and Autoimmunity Caused by Metals: A Unifying Concept*// 2015 John Wiley & Sons. - P.63-71

249. Wan L. Cadmium toxicity: effects on cytoskeleton, vesicular trafficking and cell wall construction // *Toxicological Sciences.* - 2012. - Vol. 129. - № 1. – P. 200-212.

250. Yuan-Ping Pang. Novel and Viable Acetylcholinesterase Target Site for Developing Effective and Environmentally Safe Insecticides// Curr Drug Targets. - 2012 Apr. -N13(4). - pp. 471–482.