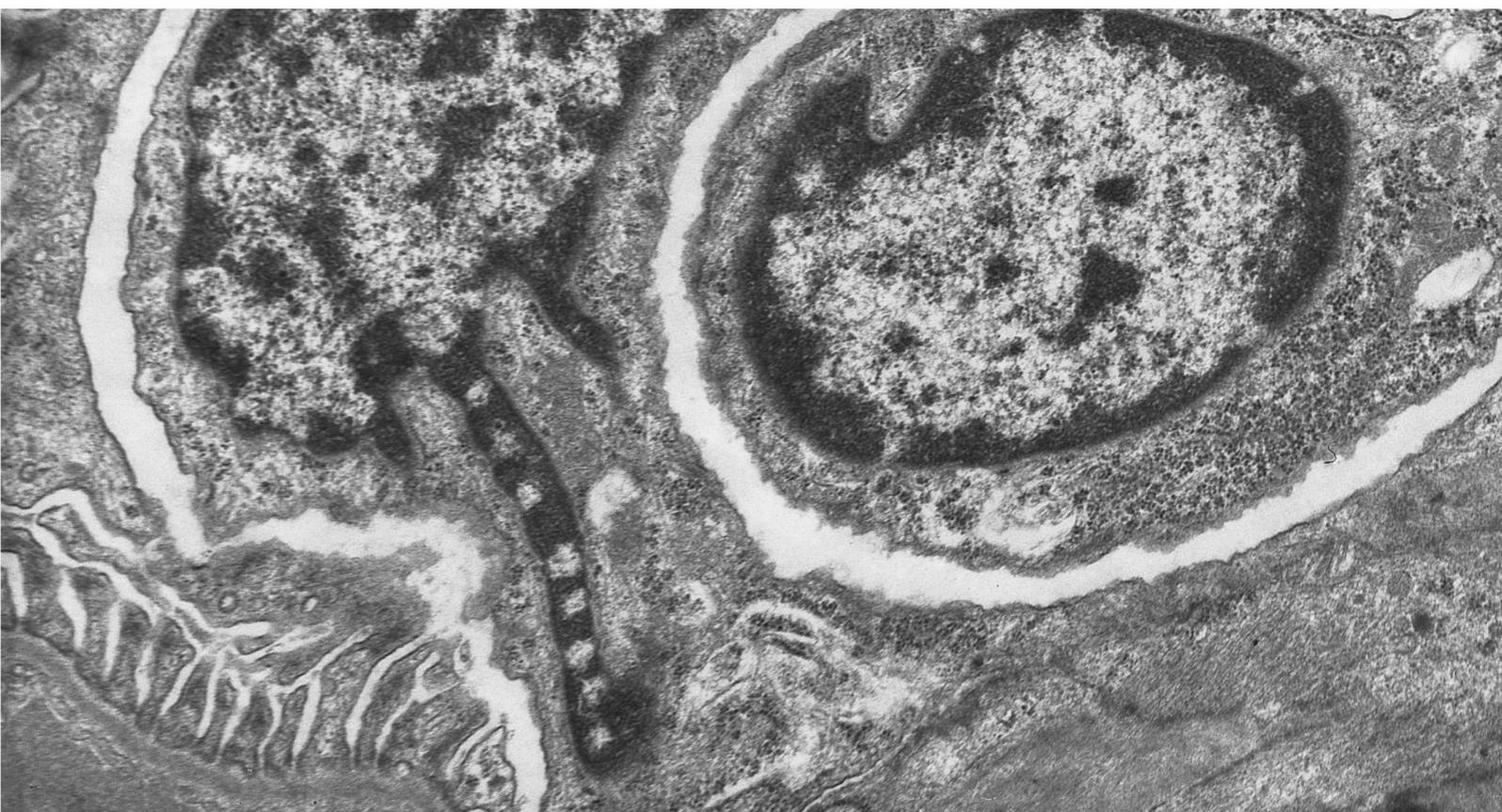


**ИЗМЕНЕНИЯ УЛЬТРАСТРУКТУРЫ  
ПАРЕНХИМЫ ПЕЧЕНИ И ПОЧЕК ЖИВОТНЫХ  
ПОСЛЕ ХРОНИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ  
КСЕНОБИОТИКОВ**



**КАЗАНСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ  
ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ЦЕНТР ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОЙ,  
РАДИАЦИОННОЙ И БИОЛОГИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ**

**ИЗМЕНЕНИЯ УЛЬТРАСТРУКТУРЫ  
ПАРЕНХИМЫ ПЕЧЕНИ И ПОЧЕК ЖИВОТНЫХ  
ПОСЛЕ ХРОНИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ  
КСЕНОБИОТИКОВ**



**КАЗАНЬ**

**2023**

УДК 57.012.4:57.021:576.08

ББК 28.0

ИЗ7

*Печатается по рекомендации учебно-методической комиссии  
Института фундаментальной медицины и биологии  
Казанского (Приволжского) федерального университета  
(протокол № 5 от 15 марта 2023 г.)*

**Авторы:**

**В.Р. Сайтов, М.М. Сальникова, А.И. Голубев,  
Г.С. Кашеваров, В.В. Иванов, Л.В. Малютина, В.В. Иванов**

**Научный редактор**

кандидат биологических наук, доцент,  
заведующий кафедрой зоологии и общей биологии КФУ **Р.М. Сабиров**

**Рецензенты:**

доктор биологических наук, старший научный сотрудник кафедры  
зоологии беспозвоночных МГУ имени М.Ю. Ломоносова **Н.М. Бисерова**;  
доктор медицинских наук, профессор кафедры биомедицинской инженерии  
и управления инновациями Инженерного института КФУ **И.С. Рагинов**

**ИЗ7** **Изменения ультраструктуры паренхимы печени и почек животных после  
хронического воздействия ксенобиотиков [Электронный ресурс] / В.Р. Сай-  
тов, М.М. Сальникова, А.И. Голубев и др. – Электрон. текстовые дан. (1 файл:  
22,2 Мб). – Казань: Издательство Казанского университета, 2023. – 108 с. – Систем.  
требования: Adobe Acrobat Reader. – URL: [https://dspace.kpfu.ru/xmlui/handle/  
net/175747](https://dspace.kpfu.ru/xmlui/handle/net/175747). – Загл. с титул. экрана.**

**ISBN 978-5-00130-704-4**

Воздействие ксенобиотиков разнообразного происхождения на биосферу Земли, в том числе биологические объекты, многогранно и значительно. Несмотря на существенные достижения различных сфер биологической науки, вопросы цитопатологической направленности о влиянии ксенобиотиков на животных с привлечением методов электронной микроскопии изучены явно недостаточно.

В монографии представлены результаты оригинальных многолетних исследований ультраструктуры клеток паренхимы печени и почек кроликов, свиней и овец после воздействия на них, включая вариации сочетанного, диоксина, ацетата свинца и Т-2 токсина. В тексте представлены авторские снимки, полученные на просвечивающем электронном микроскопе.

Издание предназначено для студентов, аспирантов, специалистов биологического, медицинского, ветеринарного и сельскохозяйственного профиля, научная деятельность которых связана с морфологическими исследованиями и сопряжена со специальностями: 1.5.22. Клеточная биология; 3.3.4. Токсикология; 4.2.1. Патология животных, морфология, физиология, фармакология и токсикология.

УДК 57.012.4:57.021:576.08

ББК 28.0

**ISBN 978-5-00130-704-4**

© Издательство Казанского университета, 2023

# СОДЕРЖАНИЕ

|  |    |
|--|----|
| ВВЕДЕНИЕ .....   | 6  |
| 1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ .....   | 9  |
| 2. СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ИЗУЧЕННОСТИ   |    |
| ПРОБЛЕМЫ .....   | 10 |
| 2.1. Диоксин (2,3,7,8-тетрахлородибензодиоксин<br>и диоксиноподобные вещества): особенности влияния<br>на ультраструктуру органов животных ..... | 10 |
| 2.2. Свинец (тяжелые металлы): особенности влияния<br>на ультраструктуру органов животных .....  | 14 |
| 2.3. Т-2 токсин (микотоксины): особенности влияния<br>на ультраструктуру органов животных .....  | 18 |
| 2.4. Ксенобиотики разной природы: особенности комплексного<br>влияния на ультраструктуру органов животных .....                                  | 23 |
| 2.5. Заключение к научно-тематическому обзору .....  | 26 |
| 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ .....   | 27 |
| 3.1. Материалы и методы исследований .....   | 27 |
| 3.2. Ультраструктурные исследования паренхимы печени<br>и почек кроликов после хронического<br>воздействия токсикантов .....                     | 31 |
| 3.2.1. Ультратонкие исследования гепатоцитов .....   | 31 |
| 3.2.2. Морфометрический анализ перинуклеарного<br>пространства ядер гепатоцитов кроликов .....   | 35 |
| 3.2.3. Морфометрический анализ митохондрий<br>и пероксисом гепатоцитов кроликов .....  | 36 |
| 3.2.4. Ультратонкие исследования клеток<br>коркового слоя почек .....  | 38 |
| 3.3. Ультраструктурные исследования паренхимы печени<br>и почек свиней после хронического<br>воздействия токсикантов .....                       | 47 |
| 3.3.1. Ультратонкие исследования гепатоцитов .....   | 47 |

|   |    |
|---|----|
| 3.3.2. Морфометрический анализ перинуклеарного пространства ядер гепатоцитов свиней .....                         | 51 |
| 3.3.3. Морфометрический анализ митохондрий и пероксисом гепатоцитов свиней .....                                  | 52 |
| 3.3.4. Ультратонкие исследования клеток коркового слоя почек .....  | 53 |
| 3.4. Ультраструктурные исследования паренхимы печени и почек овец после хронического воздействия токсикантов .... | 63 |
| 3.4.1. Ультратонкие исследования гепатоцитов .....  | 63 |
| 3.4.2. Морфометрический анализ перинуклеарного пространства ядер гепатоцитов овец .....                           | 69 |
| 3.4.3. Морфометрический анализ митохондрий и пероксисом гепатоцитов овец .....                                    | 70 |
| 3.4.4. Ультратонкие исследования клеток коркового слоя почек .....  | 72 |
| 4. ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....   | 80 |
| 5. ЛИТЕРАТУРА .....   | 95 |

## СПИСОК УСЛОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ

БП – базальная пластинка.

грЭПР – гранулярный эндоплазматический ретикулум.

глЭПР – гладкий эндоплазматический ретикулум.

ДОН (DON) – дезоксиниваленол.

ММК – межмитохондриальные контакты.

ПНП – перинуклеарное пространство.

ПДК – предельно допустимая концентрация.

ПХБФ (ПХБ) – полихлорированные бифенилы.

ПХДФ – полихлорированные дибензофураны.

ПХДД – полихлорированные дибензодиоксины.

ТТМТ – трихотеценовые микотоксины.

ТХДД (TCDD) – 2,3,7,8 – тетрахлордibenзо-пара-диоксин.

ЛД<sub>50</sub> (LD – lethal dose) – полулетальная доза, средняя доза

вещества, вызывающая гибель половины особей испытываемой группы.

ЭДС – энергодисперсионная рентгеновская спектроскопия.

ЭПР – эндоплазматический ретикулум.

## ВВЕДЕНИЕ

*«Люби землю. Она не унаследована тобой у твоих родителей, она одолжена тобой у твоих детей».* Гениальнейшее изречение Сидячего Быка, вождя североамериканских индейцев племени хункпапа, сказанное им еще в XIX веке, как никогда остро звучит в наше время – эпоху экологических катастроф.

Проблема загрязнения окружающей среды и ее катастрофических последствий имеет, пожалуй, наибольшее приоритетное значение не только для человеческого социума, но и для биосферы в целом. Учитывая, что с некоторыми химическими соединениями с точки зрения эволюции человечество и окружающая среда соприкоснулись не так давно, мы не можем до конца оценить, каким образом это взаимодействие отразится на жизнеспособности последующих поколений.

Но уже сейчас известно, что диоксиноподобные полихлорированные бифенилы и собственно диоксины являются супертоксикантами, способными аккумулироваться в пищевых цепях, а попадая в биологические объекты, запускать целый каскад зачастую непредсказуемых патологических процессов (Л.А. Федоров, 1993; В.А. Желтов и др., 1995; Э.А. Галиев и др., 2001; М.Я. Трemasов, В.А. Новиков, 2004; К.Х. Папуниди и др., 2009; Г.А. Софронов и др., 2019; R. Nault et al., 2018; R. Sha et al., 2021).

Помимо диоксинов среди загрязняющих веществ по масштабам загрязнения и воздействию на биологические объекты особое место занимают тяжелые металлы (Д.Б. Гелашвили и др., 2016). Важное из приоритетных мест в этой группе элементов принадлежит свинцу, относящемуся к ядам политропного действия и вызывающего широкий спектр негативных эффектов: поражение кроветворной, нервной, пищеварительной, выделительной, костной и других систем животных и человека (В.А. Новиков и др., 2006; П.М. Явербаум, 2006; B.S. Gillis et al., 2012).

Микотоксины как биогенные яды, включая Т-2 токсин, также представляют серьезную опасность здоровью людей и домашних животных

(В.А. Тутельян, Л.В. Кравченко, 1985; М.Я. Трemasов, П.К. Сметов, 1995; Э.И. Семенов, 2019; М. Adhikari et al., 2017).

Сама специфика всевозрастающего с каждым десятилетием антропогенного воздействия опасных соединений на биологическое разнообразие Земли в силу объективных причин характеризуется комплексностью подобного влияния. Особенно в регионах с развитым промышленным производством и высокой численностью населения. Именно поэтому познание механизмов единовременного сочетанного воздействия токсикантов различного происхождения на органы и системы, в том числе продуктивных животных, крайне необходимо для народного хозяйства, так как в последующем будет использовано при разработке защитных лечебно-профилактических мероприятий (В.И. Егоров, 2007; К.Х. Папуниди и др., 2018; И.Ф. Вафин, 2010). Подобные научные изыскания предполагают возникновение потенцирующих эффектов влияния ксенобиотиков с разнообразными морфофункциональными проявлениями на субклеточном уровне (Т.П. Евгеньева, 2008; С.А. Нефедова, 2012; М.М. Сальникова и др., 2018 а, б, в, г; К.В. Перфилова и др., 2020).

Таким образом, проведение ультраструктурных исследований позволит в высокой степени визуализировать негативные эффекты воздействия поллютантов на органоиды клетки, что неоспоримо представляет теоретический интерес для фундаментальной науки. В свою очередь возможность на практике внедрять полученные данные с целью защиты в случаях реального возникновения экологических катастроф очень важна для прикладной науки.

Анализ доступной научной литературы по рассматриваемой тематике объективно свидетельствует о явном недостатке работ, затрагивающих ультраструктурные исследования цитопатологий, особенно продуктивных сельскохозяйственных животных, при хроническом, в том числе сочетанном, воздействии ксенобиотиков различной химической природы.

В монографии приводятся данные, полученные нами в ходе многолетних исследований ультраструктуры печени и почек кроликов,

свиней и овец после хронического, включая комплексное, воздействия на нее диоксина, ацетата свинца и Т-2 токсина. С целью информативности материал проиллюстрирован авторскими электронно-микроскопическими снимками, полученными посредством трансмиссионной (просвечивающей) электронной микроскопии.

В заключении к введению считаем обязательным упомянуть о том, что значительный вклад в российскую ветеринарную науку, а именно во внедрение методов электронной микроскопии, внесли сотрудники Казанского федерального центра токсикологической, радиационной и биологической безопасности и Казанского федерального университета. Причем в данном контексте речь идет об ультраструктурных исследованиях органопатологии при воздействиях (включая комплексные) различных ксенобиотиков, и, что особенно важно, не только на лабораторных, но и на продуктивных животных. На протяжении двух и более десятилетий и до настоящего времени большое количество сотрудников и аспирантов активно использовали электронную микроскопию как дополнительный метод в рамках своей научной тематики (Э.А. Галиев, Р.З. Гибадуллин, Ю.А. Зимаков, М.Я. Трemasов, А.З. Равилов, В.С. Угрюмова, А.В. Иванов, К.Х. Папуниди, Г.В. Конюхов, Р.У. Бикташев, Э.И. Семенов, И.Р. Кадиков, И.И. Идиятов, Г.Ш. Закирова, А.А. Корчемкин, И.Ф. Вафин, К.Т. Ишмухаметов, Е.Ю. Тарасова, Л.Е. Матросова), а также непосредственно проводили основные этапы ультраструктурных исследований (Е.Л. Матвеева, М.М. Сальникова, В.Р. Сайтов, К.А. Осянин, И.Ф. Рахматуллин, А.И. Голубев, Л.В. Мажютина, Н.В. Шакурова, А.И. Яковлева, Г.С. Кашеваров, К.В. Перфилова (Юсупова), Е.Г. Губеева, Ф.З. Баймухаметов, К.А. Асылбаева, Е.А. Колганова). Также выражаем безмерную благодарность за высокопрофессиональный труд инженерной службе в лице безвременно ушедшего от нас Леонида Леонидовича Зоткина, обеспечивавшего бесперебойную работу электронного микроскопа и сопутствующего специфического оборудования.

# 1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

В монографии обобщены материалы наших оригинальных исследований, посвященных хроническим воздействиям ряда ксенобиотиков, включая единовременные сочетанные, на клетки паренхимы печени и почек продуктивных сельскохозяйственных животных.

В задачи экспериментов входило:

1. Оценка на субмикроскопическом уровне изменений клеток паренхимы печени и почек кроликов после хронической интоксикации диоксином, ацетатом свинца, отдельно и комплексно единовременно.

2. Оценка на субмикроскопическом уровне изменений клеток паренхимы печени и почек свиней после хронической интоксикации диоксином, Т-2 токсином, отдельно и комплексно единовременно.

3. Оценка на субмикроскопическом уровне изменений клеток паренхимы печени и почек овец после хронической интоксикации диоксином, Т-2 токсином, отдельно и комплексно единовременно.

4. Морфометрический анализ ультратонких изменений митохондрий, пероксисом и перинуклеарного пространства ядер гепатоцитов животных, используя печень как модель индикации микросомально-энергетических процессов биотрансформации ксенобиотиков.

**Цель работы** – проанализировать морфометрические особенности изменений на ультраструктурном уровне, вызываемых хроническим отравлением ксенобиотиками сельскохозяйственных животных.

Исследования проводились с использованием цитологических (световая и электронная микроскопия) и морфометрических (вычислительная, программная морфометрия) методов.

В выполнении отдельных этапов оказывали практическую и консультативную помощь д. б. н., заведующий лабораторией техногенных экотоксикантов Ильнур Равилевич Кадиков, д. в. н., главный научный сотрудник лаборатории микотоксинов Эдуард Ильясович Семенов, к. б. н., заведующий отделением токсикологии Ильгиз Ильясович Идиятов, д. в. н., профессор кафедры анатомии, патологической анатомии и гистологии КГАВМ Ильдар Надырович Залялов, за что выражаем им сердечную благодарность.

## **2. СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ИЗУЧЕННОСТИ ПРОБЛЕМЫ**

### **2.1. Диоксин (2,3,7,8-тетрахлородибензодиоксин и диоксиноподобные вещества): особенности влияния на ультраструктуру органов животных**

Собирательный термин «диоксин» охватывает в общей сложности 75 полихлорированных дибензо-*p*-диоксинов (ПХДД) и 135 дибензофуранов (ПХДФ) и обычно относится к тем специфическим соединениям, которые оказывают общий спектр токсических и биологических эффектов (J. Naedrich et al., 2021).

Влияние диоксиноподобных соединений на субклеточном уровне органов животных описано в зарубежных и отечественных научно-литературных источниках.

Прежде всего, стоит отдать должное сотрудникам Национального института наук о здоровье окружающей среды (The National Institute of Environmental Health Sciences) (Северная Каролина, США), которые, пожалуй, первыми в мире провели ультраструктурные исследования по оценке влияния диоксина на органы животных.

В первой работе (B.N. Gupta et al., 1973) у крыс после воздействия диоксина выявляются инволюция тимуса, патология миокарда и почек. При сублетальной дозе на стадии переходных дегенеративных изменений в печени выявлялся мегалоцитоз, регенерация и нестандартное количество гигантских гепатоцитов с множеством ядер. Смертельные дозы TCDD у крыс характеризовались тяжелыми патологиями всего организма, правда, у морских свинок морфологически на уровне у печеночного строения весьма умеренными. При скармливании обезьянам жиров, содержащих TCDD, выявляли отек подкожной клетчатки, скопление жидкости в перикарде, гидроторакс и асцит.

Во второй работе (В.А. Fowler et al., 1973) в клетках паренхимы печени крыс на третий и шестой день после воздействия диоксина наблюдали увеличение количества элементов гладкого ЭПР на периферии клеток, особенно в областях, прилегающих к желчным канальцам. В некоторых гепатоцитах также визуализировалось увеличение зернистого ЭПР. Увеличение элементов гладкой ЭПС в гепатоцитах получивших диоксин животных коррелировало с повышением активности микросомальных ферментов печени. По мнению авторов исследования, наблюдаемые изменения указывают на реакцию организма как «попытку детоксикации на клеточном уровне». А увеличение элементов гладкого ЭПР в районе желчных канальцев указывало на участие желчи в метаболизме TCDD.

Исследователи из Китая (W.Z. Wu et al., 2001) определяли влияние 2,3,7,8-тетрахлордибензо-п-диоксина на организм эндемика Китая – гобиоциприса (семейство карповые) *Gobiocypris rarus*. На ультратонком уровне отмечалось: в гепатоцитах сдвиг ядер от центра цитоплазмы, деформация крист митохондрий и шероховатой эндоплазматической сети, в том числе большие скопления жировых капель.

Как показывает обзорная статья французских токсикологов (N. Rainey et al., 2017), в многочисленных исследованиях удалось выявить один из механизмов, посредством которого TCDD проявляет свою токсичность в печени и сердце. Прямое воздействие данного токсиканта на митохондрии приводит к ингибированию митохондриальной электронной цепи и повышенному образованию свободных кислородных радикалов.

Нидерландские биологи (J. Eric De Waal et al., 1993) сообщают о воздействии диоксина на эпителиальную зону коры тимуса крыс. После экспериментальной затравки *per os* диоксином молодых самцов визуализировались явления нарушения дифференцировки корковых эпителиоцитов и образования Т-клеток.

М.К. Sakamoto с соавторами в 1999 году на гусеницах рода *Xenopus*, на стадии личинок, достоверно посредством морфометрии

демонстрируют снижение количества эпителиоцитов слизистой и уменьшение длины пищеварительного тракта. Электронная микроскопия выявляет признаки апоптоза эпителиальных клеток – стратификацию эпителиальных микроворсинок, конденсирование ядерного хроматина и фагоцитоз отмерших элементов.

Японские ученые (D. Wu et al., 2002) выявляют индуцирование апоптоза TCDD в центральной нервной системе полосатого Данио. При этом доказана локальная недостаточность кровообращения в спинном среднем мозге эмбрионов из-за усиления апоптоза.

По сведениям L. Loretta с соавторами (2008), TCDD стимулирует дисфункцию процессов становления состава клеток мозжечка мышей, в целом нарушая программу нейрогенеза с долгосрочными последствиями.

Биологи Павийского университета (T. Neri et al., 2011) показывают на уровне кардиомиоцитов мышей нарушение их дифференцировки на стадии эмбриональных стволовых клеток при воздействии диоксина. Изменяется расположение митохондрий, происходит деструкция крист и саркомеров.

Данные D. Wu с соавторами (2012) демонстрируют развитие аномального хряща и скелета в результате воздействия диоксина и нарушения процесса хондрогенеза у японских рыбок Оризий (*Oryzias latipes*).

Отечественные исследователи (Ш.Н. Галимов, 2000; Г.Р. Шакирова и др., 2007, 2008) отмечают очень высокую чувствительность организма крыс к интоксикации гербицидом 2,4 ДА, содержащим диоксин в эпителиосперматогенном слое извитых канальцев (ослабление или прекращение сперматогенеза, атрофические явления, дефицит тестостерона и пролактина).

Сотрудники Казанского федерального центра токсикологической, радиационной и биологической безопасности Ю.А. Зимаков и др. (2003) приводят сведения о дегенерации митохондрий гепатоцитов крыс и кроликов на фоне их отравления диоксином в дозах более 1/400 от ЛД<sub>50</sub>.

Е.Л. Матвеева и др. (2004) исследовали ультраструктуру органов крыс, получавших в течение 30 дней диоксин в дозе 1/200 ЛД<sub>50</sub>. Отмечали деструктивные процессы в митохондриях, рибосомах, мембранах эндоплазматической сети, вакуолизацию цитоплазмы.

Многолетние исследования Е.Л. Матвеевой (2007) свидетельствуют, что ультраструктурные изменения при хронической интоксикации диоксином в дозе 1/200 от ЛД<sub>50</sub> характеризуются просветлением матрикса ядер и выраженным конденсированием хроматина, локальными расширениями перинуклеарного пространства, лизисом мембран кариолеммы и кариопикнозом. Просветлением матрикса митохондрий, укорочением крист и в целом набуханием. Расширением каналов и цистерн гранулярного эндоплазматического ретикулума с образованием вакуолей различной величины, деструкцией мембран, выраженным уменьшением количества рибосом и полисом.

Хроническая интоксикация в течение 30 суток крыс диоксином в дозе 1/200 ЛД<sub>50</sub> (Е.Л. Матвеева, В.Р. Саитов, 2010) характеризуется следующими нарушениями в головном мозге: в ядрах нейронов конденсирование хроматина, множественные локальные расширения ПНП, лизис мембран ЭПС, уменьшение количества везикул и цистерн комплекса Гольджи, деструкция мембран митохондрий.

Экспериментальное отравление крыс диоксином (1/800 LD<sub>50</sub> и 1/400 LD<sub>50</sub>) с привлечением световой и трансмиссионной электронной микроскопии, а также морфометрического анализа показало (М.М. Сальникова и др., 2021), что данная патология в пирамиальном слое коры головного мозга сопровождается уменьшением ядер, гибелью клеток, истончением миелиновых оболочек и демиелинизацией. Доза отравления коррелирует со степенью деструкции нейронов: с увеличением дозировки диоксина изменения становятся существеннее. Количество самих синаптических контактов снижается, но при этом происходит значимое увеличение их средней длины.

## 2.2. Свинец (тяжелые металлы): особенности влияния на ультраструктуру органов животных

Тяжелые металлы обладают широким спектром воздействия на системы организма человека и животных, проявляя разнообразные эффекты – токсические, канцерогенные, аллергическое, гонадотропные и др.

В корковой зоне почек крыс K.R. Shelton с соавторами (1982) визуализируют в ядрах клеток тельца после интоксикации свинцом. По предположению авторов, на субклеточном уровне идет связывание белковых структур и свинца и подобные включения играют защитную роль при подобных отравлениях.

Сообщение M. Birkhead и др. (1982) касается электронной микроскопии ряда органов лебедей (печень, почки, кишечник, кровь), интоксцированных свинцом. Наибольшее количество внутриядерных включений имело место в гепатоцитах. Для подтверждения использовали метод рентгеноструктурного анализа, который доказал, что почки содержат гранулы, представляющие аморфную массу свинца, возможно всего соли фосфорных кислот. Гепатоциты, согласно анализу, содержат железо.

Из естественной среды обитания отбирали Канадских гусей (казарок) (*Branta canadensis*) с симптомами отравления свинцом и исследовали ультраструктуру их грудных мышц (J.C. George et al., 1983). При электронной микроскопии миоцитов красных волокон отмечается скопление гликогеновых зерен и жировых капель. Митохондриальный аппарат без изменений. Белые волокна имеют очень большое количество скоплений гликогена, во многих митохондриях поврежденные кристы. Вместе с тем ядерный аппарат без патологий и содержания телец включений.

Исследователи из США Z. Hruban и др. (1986) также выявляют внутриядерные включения в канальцах почек и паренхимы печени в

опытах на мандрилах, затравленных свинцом. В печени диагностируются фиброз и гиперплазия.

В эксперименте на трех группах крыс А. Andrzejewska и др. (1995) апробировали ацетат свинца в виде водного раствора в дозах 50, 500 и 1000 мг на литр соответственно. В ходе электронно-микроскопических исследований авторы также выявляют образование в ядерном аппарате свинцово-белковых комплексов. Даже низкие дозы уксуснокислого свинца способствуют тому, что происходит изменение формы ядер в ацинарных клетках поджелудочной железы.

Мексиканские биологи L.G. Navarro-Moreno и др. (2009) при интоксикации крыс на субклеточном уровне почек отмечают тельца-включения в структурах ядер, цитоплазмы и митохондриях. Кроме того, происходит деструкция апикальных микроворсинок с формированием адгезии структур и нетипичных контактов между клетками.

Ультраструктурные исследования китайских биологов (L.M. Zhang et al., 2009) демонстрируют, что при отдельной и сочетанной интоксикации крыс Pb и Cd (вода с ацетатом свинца 300 мг/л, с кадмием 10 мг/л) происходит разрушение крист в митохондриях нейронов, также страдают тельца Ниссля, особенно при кадмиевой интоксикации. Совместное поступление тяжелых металлов вызывает наибольшие деструктивные процессы мембранных структур и полную потерю митохондриальных крист.

В исследованиях хронической нейротоксичности на молодых и взрослых крысах в клетках гиппокампа визуализируются апоптические явления: усадка ядра, слипание хроматина и дезинтеграция ядерной оболочки (A.M. Sharifi et al., 2010).

Исследования ультраструктурных изменений в легких крыс после острой (25 мг/кг) интоксикации свинцом (K. Kaczynska et al., 2011) демонстрируют, что прежде всего страдают интерстиций, в состав которого входят коллаген, нити эластина и фибробласты, капиллярная сеть, эпителиоциты и слой альвеолярной подкладки. В альвеолах

отмечается большое количество макрофагов, в капиллярах – агрегированные тромбоциты, лейкоциты и моноциты.

В течение 30 суток аравийцы М.Н. Badawoud и S.M. Hassan (2013) ставили эксперимент по хроническому (500 мг/л) отравлению крыс свинцом. В периферических камбаловидных и икроножных мышцах электронная микроскопия выявляет следующие нарушения: отростки леммоцитов набухают, уменьшается количество аксональных терминалей, изменяются двигательные нейроны и мышечные волокна.

Исследователи Y. Сао и др. (2013) изучали нейротоксичность наночастиц PbS NPS у крыс путем измерения массы тела и изменений коэффициента мозга, тестирования поведения памяти в Y-электрическом лабиринте и изучения ультраструктуры и патологии нейронов в гиппокампе. Результаты показали, что наночастицы PbS NPs вызывают повреждения нейронов за счет увеличения  $Ca^{2+}$ . Из-за сложности центральной нервной системы необходимо провести дополнительные исследования, направленные на выяснение точного механизма повреждения нейронов. Однако эти результаты могут дать представление о нейрохимических изменениях, происходящих в нейронах, обработанных NPs.

Чешские ученые J. Dumkova и др. (2017) изучали ультрамикроскопические изменения в органах после вдыхания наночастиц оксида свинца. В легких наночастицы образовывали кластеры внутри цитоплазматических пузырьков, в то время как в печени, почках, селезенке и головном мозге они демонстрировали тканеспецифическую субклеточную обработку. Подобные сведения указывают на изменчивость транспорта и поглощения наночастиц отдельными типами клеток в разных органах, а также на неравномерность обработки наночастиц оксида свинца клетками, что необходимо будет дополнительно рассмотреть в будущем, чтобы выявить и экспериментально улучшить механизм их выведения.

В течение 2009–2017 годов Sutunkova с коллегами (2018) исследовали воздействие наночастиц элементарного серебра или золота, а

также оксидов железа, меди, никеля, марганца, свинца, цинка, алюминия и титана (Me-NPs), используя, в большинстве случаев, однократную низкодозированную интратрахеальную инстилляцию. Эксперименты продемонстрировали, что Me-NPs по своей сути гораздо более вредны на ультраструктурном уровне, когда их размеры в пределах наноразмерного диапазона.

Подвергали интраназальному воздействию 50 мкл суспензии наночастиц оксида свинца (PbO NPs) в концентрации 0,5 мг/мл трижды в неделю в течение шести недель белых беспородных самок крыс (Sutunkova et al., 2022). Контрольной группе крыс вводили деионизированную воду в аналогичных условиях и объемах. Развившаяся интоксикация проявлялась изменением биохимических, цитохимических параметров, а также реакций поведения животных. С помощью методов электронной микроскопии (ЭМ) и энергодисперсионной рентгеновской спектроскопии (ЭДС) было показано отложение PbO NPs в обонятельной луковице, но не в базальных ганглиях, и увеличение количества аксонов с повреждением миелиновой оболочки в тканях обонятельной луковицы и базальных ганглиев. Кроме того, были выявлены изменения в ультраструктуре митохондрий нейронов в тканях обонятельной луковицы и базальных ганглиев головного мозга и различия в митохондриальном профиле нейронов в разных областях мозга крыс. В целом полученные результаты свидетельствуют о том, что центральная нервная система может быть мишенью низкоуровневой токсичности наночастиц оксида свинца.

Известные советские морфологи А.П. Авцын и В.А. Шахламов в знаменитой монографии 1979 года свидетельствуют, что воздействие тяжелых металлов провоцирует увеличение проницаемости клеточных мембран для ионов натрия, калия, кальция, хлора и магния. Клетки набухают, их цитоскелет распадается. Авторами доказано участие глЭПР в механизмах детоксикации за счет накопления специфических ферментов.

В исследованиях Л.В. Грызловой и О.С. Шубиной (2006) показано, что интоксикация ацетатом свинца материнского организма крыс

в дозе 40 мг/кг приводит к срыву компенсаторных механизмов гемато-плацентарного барьера, которые на микроскопическом уровне выражаются отеком и деструкцией лабиринтной зоны, непосредственно участвующей в процессах обмена веществ между матерью и плодом. У 2–3-месячных белых крыс костная система полностью не сформировывалась, эпифизы опытных особей представлены хрящевой тканью, а не костной.

Результаты исследования А.И. Вишнякова (2011) о воздействии азотнокислого свинца на красный котный мозг (гемопоз) цыплят-бройлеров свидетельствуют о том, что патологические сдвиги начинаются даже при небольшом увеличении максимально допустимых уровней. Изменяется структура ядер клеток, формируются разнородные липидные включения, по всей вероятности, являющиеся продуктами деструкции мембран клеток. При увеличении срока влияния азотнокислого свинца проявляются явления дистрофии в клетках стромы и кроветворения.

В нашем эксперименте А.И. Голубев и др. (2020) при цитоморфологических исследованиях скелетной и сердечной мышц кроликов после воздействия ацетата свинца в дозе 1/10 ЛД<sub>50</sub> к 40 суткам выявляются изменения ядер, в кардиомиоцитах набухают миофибриллы, митохондрии и каналы саркоплазматической сети. Идет сокращение мышечных волокон, белоксинтезирующий комплекс дезинтегрирует.

### **2.3. Т-2 токсин (микотоксины): особенности влияния на ультраструктуру органов животных**

Согласно доступным литературным источникам первые ультраструктурные исследования по оценке влияния микотоксинов на различные органы и системы животных (причем в основном лабораторных) начали проводиться в 80-е годы XX столетия зарубежными учеными.

Так, согласно данным С. Agrelo, R. Schoental (1980), в ходе интоксикации крыс Т-2 токсином в гепатоцитах наличествуют процессы нарушения белоксинтезирующего комплекса: уменьшается количество рибосом, деструктурируют мембраны грЭПР, снижается активность многих ферментов.

В 1981 году (А. Shadmi, T.N. Nobel) с помощью электронной микроскопии исследовали поражения почек мышей, вызванных комплексом микотоксинов, полученных из сена. Визуализировались такие нарушения, как чрезмерная секреция гликогена, лизис мембран и структур органелл, увеличение количества вакуолей и везикул. Далее в 1985 году (А. Shadmi, В. Griffel) изучали ультраструктуру печени мышей, также пораженную микотоксинами из заплесневелого сена: *Aspergillus flavus* + *Aspergillus ochraceus* + *Aspergillus fumigatus*. Патологические процессы касались митохондрий, клеточного ядра и мембран: дегенеративные явления цитоплазмы, вакуолизация и везикуляция, кариолиз, а также сужение пространства Диссе.

В опытах по исследованию эффектов Т-2 токсина в перитонеальных макрофагах мышей французские ученые D. Vidal и S. Mavet (1989) на сканирующем электронном микроскопе визуализируют потерю («втягивание») макрофагальных псевдоподий. По всей вероятности, из-за этой причины у подопытных особей снижается фагоцитоз в отношении синегнойных палочек.

Канадские ученые (G.S. Bondy et al., 1989) на ультраструктурном уровне показывают, что интоксикация Т-2 токсином повреждает систему канальцев бычьих тромбоцитов, стимулирует процессы вакуолизации и гранулизации в тромбоцитах, нарушает свертываемость крови.

После 10-суточной интоксикации мышей Т-2 токсином американцы Н.Н. Mollenhauer и др. (1989) выявляют основные нарушения ультраструктуры в ЭПР гепатоцитов. По нисходящей ряд изменений визуализируется в эпителии кишечника. На субклеточном уровне почек и поджелудочной железы авторы не выявляют морфологических изменений.

Исследование механизма индуцирования апоптоза на фоне воздействия токсинов плесневых грибов, в том числе на ультраструктурном уровне, актуально в настоящее время.

Достоверное снижение числа лимфоцитов в фолликулах белой пульпы селезенки и кортексе тимуса мышей отмечают в своем эксперименте японские ученые (J. Shinozuka et al., 1997, 1998). Интоксикация Т-2 токсином, перорально в дозах (0,25, 5 и 10 мг/кг массы тела), также приводит к деструкции лимфоцитов, уплотнению цитоплазмы, хроматин конденсируется и фрагментируется. Исходя из этих последствий, авторы считают, что влияние Т-2 токсина стимулирует развитие апоптоза лимфоидной системы мышей.

Еще одни японские исследователи (Z. Islam et al., 1998) сравнивали степень воздействия на организм трех доз 9-трихотеценовых микотоксинов (0,35, 1,75 или 3,5 мг/кг массы тела). Уже в дозе 1,75 мг/кг массы тела влияние Т-2 токсина в сравнении с другими агентами было наиболее сильным – максимальная атрофия тимуса отмечается к третьему дню. В поле зрения электронного микроскопа контрольные тимоциты имеют четко очерченные ядра с диспергированным хроматином, апоптотические тимоциты выглядят как сморщенные электронноплотные клетки с конденсированными ядрами.

Специалисты ветеринарного колледжа из Мадраса Р.К. Venkatesh и др. (2005), исследуя ультраструктуру паренхимы селезенки и тимуса цыплят бройлеров через 6, 12, 24 и 36 часов после интоксикации Т-2 токсином и циклопиазоновой кислотой, доказывают, что данные токсические агенты индуцируют апоптоз, проявляющийся в виде деструкции хроматина в ядрах через 24 часа.

Ученые из университета в Токио (S.M Albarenque et al., 2005), при прямом воздействии Т-2 токсина на первичную культуру кератиноцитов крыс (0,25 мкг на 1 мл), выявляют апоптотические признаки (пикноз, кариорексис) и формирование нетипичных малоразмерных кератиноцитов.

Lei Y. с коллегами (2017) сравнивали цитотоксичность Т-2 токсина и дезоксиниваленола (DON) на клеточных линиях, представляющих типы клеток, встречающиеся *in vivo*, включая хондроциты человека

(C28 / I2), эпителиальные клетки печени человека (L-02) и эпителиальные клетки канальцев человека (НК-2). Кроме того, авторы определили распределение токсина Т-2 и DON у крыс Sprague-Dawley (SD) после однократного воздействия дозы. Т-2 токсин и DON снижали пролиферацию зависимым от времени и концентрации образом, и их комбинация показала аналогичный антагонистический эффект в клетках C28 / I2, L-02 и НК-2. Более того, мы наблюдали остановку клеточного цикла и апоптоз, связанные с повышенным окислительным стрессом и снижением потенциала митохондриальной мембраны, вызванным токсином Т-2 и/или DON. Исследование *in vivo* показало, что токсин Т-2 и DON не накапливались преимущественно в коленном суставе по сравнению с печенью и почками после острого воздействия у крыс с SD. Эти результаты предполагают, что токсин Т-2 и/или DON ингибируют пролиферацию и индуцируют апоптоз посредством возможного механизма, включающего митохондриальный путь, опосредованный активными формами кислорода, который не является специфичным для хондроцитов *in vitro* или тканей суставов *in vivo*.

Целью исследования В. Przybylska-Gornowicz и др. (2018) было изучение влияния дезоксиниваленола (12 мкг/кг массы тела) и зеараленона (40 мкг/кг массы тела), как по отдельности, так и комплексно, на гисто- и ультраструктуру толстого кишечника свиней. Воздействие данных микотоксинов в целом не влияло на ультраструктуру слизистой оболочки и подслизистого слоя толстого кишечника. Однако уменьшалось количество бокаловидных клеток в слепой и нисходящей ободочной кишке. Принимая во внимание роль бокаловидных клеток в защитных механизмах слизистой оболочки, авторы считают, что наблюдаемые изменения являлись неблагоприятными для гомеостаза толстого кишечника.

Ученые из Индии (Nayakwadi S. et al., 2020) изучали токсичность корма для молодняка коз, загрязненного Т-2 токсином, применяя в том числе патоморфологические методы. Ультраструктура гепатоцитов и энтероцитов кишечника характеризовалась различной степенью дегенерации, с цитоплазматическими вакуолизациями и плеоморфными митохондриями. В почках также была выявлена обширная дегенерация

цитоплазматических органелл с аналогичной конденсацией гетерохроматина, тогда как дегенерация нейронов характеризовалась круглыми, закрученными структурами. Кроме того, центральная вена и портальная триада гепатоцитов, криптические эпителиальные клетки кишечника, MLN в лимфоидных фолликулах, PCT и DCT тканей почек и белой пульпы селезенки демонстрировали обширный апоптоз.

Китайские исследователи (L. Ma et al., 2023) в экспериментах на поросятах доказывают, что микотоксин зеараленон обладает репродуктивной токсичностью. Электронная микроскопия семенников демонстрирует деструкцию митохондриальных мембран ЭПС и клеток Сертоли.

В серии опытов (Е.Л. Матвеева, 2007; Е.Л. Матвеева, В.И. Степанов, 2010) хроническая сочетанная интоксикация Т-2 токсином и афлатоксином В<sub>1</sub> на ультраструктурном уровне характеризовалась различной степенью выраженности дистрофических процессов в клетках печени, почек, селезенки, появлением участков с бесструктурным содержимым и вакуолями, лизисом и пикнозом ядер, изменениями структуры органоидов. В нейронах головного мозга отмечалась перегруппировка хроматина, множественные локальные расширения перинуклеарного пространства, в митохондриях – фрагментация наружной, внутренней или даже обеих мембран, сопровождающаяся появлением миелиноподобных телец в матриксе.

Совместная группа исследователей К(П)ФУ и ФЦТРБ-ВНИВИ (г. Казань) после 30-суточного отравления свиней смесью фузариотоксинов (Т-2 токсин – 0,07 мг/кг корма + дезоксиниваленол – 1,0 мг/кг корма + зеараленон – 0,05 мг/кг корма) оценивала влияние данных агентов на ультраструктуру кортикальных элементов нефронов (Н.В. Шакурова и др., 2020). В гломерулярной зоне деформируются сосуды капиллярных клубочков, увеличиваются фенестры, в базальной пластине уменьшается плотность срединного слоя, цитоподии визуализируются нетипично, расстояние между этими структурами становится большим. Выделенный каскад ультратонких изменений клеточных элементов почек свиней демонстрирует цитотоксический эффект (нефропатия), вызванный комплексом фузариотоксинов.

Смешанный микотоксикоз крыс (зеараленон, афлатоксин В<sub>1</sub> и Т-2 токсин) на ультраструктурном уровне вызывает нарушения внешнего контура ядер гепатоцитов, без изменения ПНП (Е.Ю. Тарасова и др., 2022). Визуализируется дезинтеграция хроматина, деструкция крист митохондрий, просветление цитоплазмы. Отмечается статистически значимое снижение морфометрических характеристик митохондрий – периметра, площади, сферичности и калиперометрического диаметра ( $p < 0,05$  в тесте Манна-Уитни с поправкой Бенджамини-Хохберга) в 1,57, 3,04, 1,49 и 1,07 раза относительно группы биологического контроля.

#### **2.4. Ксенобиотики разной природы: особенности комплексного влияния на ультраструктуру органов животных**

Доступные научно-литературные источники свидетельствуют о незначительном количестве статей отечественных ученых, в которых представлены исследования ультраструктур органов животных при одновременном (комплексном) воздействии на них ксенобиотиков, имеющих различное химическое начало. Зарубежных трудов данной научной направленности мы не обнаружили.

К примеру, большой интерес представляют данные Барнаульских ученых, проводивших в том числе исследования на субклеточном уровне. С целью морфологических исследований А.О. Ковригин и В.А. Лубенников (2011) произвели забор 52 проб (почки от 7–14-недельного абортивного плодного материала женщин). В нефронах визуализируются расширения просветов, изменения конфигурации клеток, интенсивная вакуолизация цитоплазмы, слущивание щеточных каемок, расширения участков грЭПР.

С экологической точки зрения вода реки Волги содержит существенное количество соединений, представляющих опасность окружающей среде. Это нефть и продукты ее переработки, соли тяжелых металлов, пестициды и т. д. Электронно-микроскопические исследования

тканей осетровых (Т.П. Евгеньева, 2008) демонстрируют нарушения трофических взаимодействия между мотонейронами и мышечными волокнами. Деструктивные процессы отмечаются в областях мозжечка, спинного мозга, спинальных ганглиев и периферических нервов. Как итог, нарушение сигналов к миофибриллам и от центральной, и от периферической нервных систем. В самих мышцах имеют место дегенерация миофиламентов, дезинтеграция митохондрий и саркоплазматического ретикулума.

Обобщая результаты своих исследований, С.А. Нефедова (2012) в докторской диссертации посредством электронной микроскопии демонстрирует, что у животных, обитающих в экологически неблагоприятной по радионуклидам и тяжелым металлам, а также йоддефицитной территории, наблюдается комплекс нарушений на субклеточном уровне. В кардиомиоцитах ядра имеют несвойственную инвагинацию, многие с измененным перинуклеарным пространством, с расположенными в нем мелкими электронно-плотными включениями – нуклеолеммами.

Одной из задач наших исследований (М.М. Сальникова и др., 2018 а) явилось изучение ультраструктурных особенностей клеток коркового вещества тимуса крыс, как в норме, так и при комбинированном воздействии диоксина в дозе 1/100 ЛД<sub>50</sub> и ионизирующего излучения в дозе 5 Гр. Апробированные дозы диоксина и ионизирующего излучения приводят к структурно-функциональным изменениям в основном ретикулярных клеток. Сами тимоциты страдают в незначительной степени: изменения в упаковке хроматина фактически не выявляются, ядра плотные, темные. В единичных клетках отмечается увеличение ПНП, цитоплазма электронно-плотная. Увеличивается количество митохондрий со светлым матриксом и небольшим количеством крист. Большинство митохондрий имеет плотные осмиофильные включения или мультиламеллярные тела, которые характеризуют наличие патологических процессов. В корковой зоне тимуса признаки деструкции видны у эпителиоретикулярных «клеток-нянек», в которых созревают лимфоциты. Много электронно-прозрачных вакуолей, плотных осмиофильных включений, отростки, окружающие лимфоциты, набухают и неплотно прилегают к тимоцитам.

В наших исследованиях (М.М. Сальникова и др., 2018 б), при комбинированном воздействии диоксина (1/100 и 1/200 ЛД<sub>50</sub>) и ионизирующего излучения 5 Гр на цитоморфологическую структуру кардиомиоцитов крыс, обнаруживаются следующие основные деструктивные изменения: перераспределение конденсированного хроматина ядерного аппарата клеток, набухание ядер, набухание митохондрий и появление данных органелл с просветленным матриксом и малым количеством крист, отсутствие упорядоченности в расположении миофибрилл и митохондрий, размытость Z линий саркомеров, вакуолизация саркоплазмы. Степень нарушения ультраструктурного состояния компартментов кардиомиоцитов зависит от дозы диоксина и ионизирующего излучения.

При изучении морфофункционального состояния кардиомиоцитов крыс (М.М. Сальникова и др., 2018 в) после комбинированного воздействия ацетата свинца (65 мг/кг) и ионизирующей радиации (7 Гр) ядра имеют незначительные складки-инвагинации. Наличествуют признаки перераспределения ядерного хроматина с признаками набухания самих ядер. Миофибриллы не такие плотные, как в группе биологического контроля, матрикс митохондрий средней электронной плотности с четко выраженными кристами. Иногда визуализируются набухшие митохондрии, с просветленным матриксом и небольшим количеством крист. Межмембранное расстояние крист непостоянно на всей их протяженности.

В корковом веществе почек крыс под действием радиации в дозе 7 Гр в комбинации с ацетатом свинца в дозе 65 мг/кг нами (М.М. Сальникова и др., 2018 г) выявляются патологии нефронов, как в гломерулах, так и в проксимальных канальцах. Нарушение ультраструктуры отмечается в гломерулах и микроворсинках, мембранах базального лабиринта, проксимальных канальцах, в митохондриях в виде их набухания.

Ультраструктурные исследования гепатоцитов крыс по оценке комбинированного влияния  $\gamma$ -лучей (5 Гр) и 2,3,7,8-ТХДД (1/100 ЛД<sub>50</sub>) выявили более высокий уровень вредоносного воздействия, в том числе ряд специфических особенностей. В большей мере нарушаются структуры ядер. Деструкционные процессы в митохондриях разнообразны,

но без признаков набухания, наблюдающегося при отравлениях диоксином. Вместе с тем наличие в печени клеток с несколькими ядрами, видимо, свидетельствует о возможности проявления регенерационных процессов (К.В. Перфилова и др., 2020).

## **2.5. Заключение к научно-тематическому обзору**

Подводя итоги по освещенному материалу, можно утверждать, что на субклеточном уровне воздействие диоксинов, тяжелых металлов и микотоксинов разнообразно и значительно. Несмотря на достигнутые успехи различных направлений биологической науки в освещении разнообразных аспектов влияния вышеуказанных соединений, многие вопросы до сих пор остаются открытыми. В их числе – как проявит себя комплексное единовременное воздействие нескольких ксенобиотиков различной природы на жизнедеятельность того или иного биологического объекта? В этой связи незначительное количество работ отечественных авторов и отсутствие зарубежных свидетельствует об актуальности наших исследований, затрагивающих вопросы, в том числе сочетанного, влияния ксенобиотиков на ультраструктуры органов продуктивных сельскохозяйственных животных.

### 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

#### 3.1. Материалы и методы исследований

Основные многолетние морфологические исследования проводились на базе сектора электронной микроскопии ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» (ныне лаборатория морфологических исследований). Ряд этапов, прежде всего получение ультратонких срезов, осуществляли в Институте фундаментальной биологии и медицины К(П)ФУ, на кафедре зоологии и общей биологии, в лаборатории электронной микроскопии, с использованием возможностей микротомы фирмы Reichert-jung Ultracut E и светового микроскопа Axio Imager A2 с профессиональным программным обеспечением.

В опытах было задействовано три вида продуктивных животных: кролики ( $n = 12$ ), свиньи ( $n = 12$ ) и овцы ( $n = 18$ ). Животных подбирали по принципу аналогов с учетом породы, возраста, пола и массы тела (табл. 3.1.1). Содержание и кормление контрольных и подопытных особей проводили в соответствии с зоотехническими нормами (М.Ф. Томе, 1963), приоритетным требованием которых считается соблюдение одинаковых условий содержания и кормления всех участников эксперимента.

Для экспериментальной хронической интоксикации животных применяли:

1. Диоксин (2,3,7,8-тетрахлордибензо-пара-диоксин), производитель – ОАО «Уфахимпром», город Уфа, Башкортостан.
2. Свинца ацетат ( $C_4H_6O_4Pb \cdot 3H_2O$ ), ГОСТ 4426-75.
3. Т-2 токсин ( $C_{24}H_{34}O_9$ ) кристаллический, отвечающий требованиям ГОСТ 10-07-301-86 и не отличающийся по токсическим свойствам и физико-химическим характеристикам от требуемых стандартов, лаборатория микотоксинов ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», город Казань (табл. 3.1.1).

**Схема постановки экспериментов на кроликах,  
свиньях и овцах с последующим отбором материала  
для ультраструктурных исследований**

| №<br>п/п   | Наименование<br>групп и задаваемых<br>веществ                 |  | Дозировки  | Срок<br>отбора<br>проб, дни | Количе-<br>ство<br>особей |
|--|---|--|--|-----------------------------|---------------------------|
| <b>Кролики, порода «Шиншилла», возраст 9–10 месяцев, живая масса 2–3 кг</b>                  |   |  |  |                             |                           |
| 1  | Биологический<br>контроль<br>(рацион + растительное<br>масло) |  | –  | 40                          | 3                         |
| 2  | Диоксин<br>(2,3,7,8-ТХДД)                                     |  | 1/200 ЛД <sub>50</sub><br>(0,15 мкг/кг м. т.)  | 40                          | 3                         |
| 3  | Свинца ацетат   |  | 1/10 ЛД <sub>50</sub><br>(65 мг/кг м. т.)  | 40                          | 3                         |
| 4  | сочетано  | Диоксин<br>(2,3,7,8-ТХДД) +<br>Свинца ацетат | 1/200 ЛД <sub>50</sub><br>(0,15 мкг/кг м. т.) +<br>1/10 ЛД <sub>50</sub><br>(65 мг/кг м. т.) | 40                          | 3                         |
| <b>Свиньи (поросята), порода «Крупная белая», возраст 8 недель,<br/>живая масса 14–17 кг</b> |   |  |  |                             |                           |
| 5  | Биологический<br>контроль<br>(рацион + растительное<br>масло) |  | –  | 45                          | 3                         |
| 6  | Диоксин<br>(2,3,7,8-ТХДД)                                     |  | 1/400 ЛД <sub>50</sub><br>(15 мкг/кг м. т.)  | 45                          | 3                         |
| 7  | Т-2 токсин  |  | 2 ПДК<br>(200 мкг/кг<br>корма/сут.)  | 45                          | 3                         |
| 8  | сочетано  | Диоксин<br>(2,3,7,8-ТХДД) +<br>Т-2 токсин    | 1/400 ЛД <sub>50</sub><br>(15 мкг/кг м. т.)<br>2 ПДК,<br>(200 мкг/кг<br>корма/сут.)          | 45                          | 3                         |

| № п/п   | Наименование групп и задаваемых веществ               | Дозировки  | Срок отбора проб, дни | Количество особей |
|---|---|--|-----------------------|-------------------|
| <b>Овцы</b> , порода «Куйбышевская», возраст 18 месяцев, живая масса 30–40 кг |   |  |                       |                   |
| 9   | Биологический контроль<br>(обычный рацион)            | –  | 60                    | 3                 |
| 10  | Диоксин<br>(2,3,7,8-ТХДД)                             | 1/200 ЛД <sub>50</sub><br>(1,0 мкг/кг м. т.)   | 60                    | 3                 |
| 11  | Диоксин<br>(2,3,7,8-ТХДД)                             | 1/400 ЛД <sub>50</sub><br>(0,5 мкг/кг м. т.)   | 60                    | 3                 |
| 12  | Диоксин<br>(2,3,7,8-ТХДД)                             | 1/800 ЛД <sub>50</sub><br>(0,25 мкг/кг м. т.)  | 60                    | 3                 |
| 13  | Диоксин<br>(2,3,7,8-ТХДД)                             | 1/1000 ЛД <sub>50</sub><br>(0,2 мкг/кг м. т.)  | 60                    | 3                 |
| 14  | сочетано<br>Диоксин<br>(2,3,7,8-ТХДД) +<br>Т-2 токсин | 1/1000 ЛД <sub>50</sub><br>(0,2 мкг/кг м. т.)<br>2 ПДК<br>(200 мкг на 1 кг<br>массы корма в<br>сутки или<br>0,2 мг/кг) | 60                    | 3                 |

Животных выводили из эксперимента в соответствии с Международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использованием лабораторных животных Хельсинкской декларации 1975 года и ее пересмотренным вариантом 2000 года.

Посредством методов световой и просвечивающей (трансмиссионной) электронной микроскопии изучали клетки паренхимы печени и почек кроликов, свиней и овец. Обработка проб осуществлялась по отработанной нами схеме (А.В. Иванов и др., 2011) получения ультратонких срезов (табл. 3.1.2).

**Основные этапы подготовки материала  
для ультраструктурных исследований**

| <b>Этап</b>              | <b>Компоненты, оборудование</b>   |
|--------------------------|---|
| Фиксация                 | 1 %-й раствор глутарового альдегида (Serva, ФРГ) на 0,1 М фосфатном буфере (рН = 7,4), при t = 4 °С, 12 часов   |
| Промывка буфером         | 0,1 М фосфатный буфер (рН = 7,4), 2 раза по 10 минут  |
| Фиксация                 | 2 %-й тетраоксид осмия OsO <sub>4</sub> (Московский химзавод) на 0,1 М фосфатном буфере (рН = 7,4), при комнатной температуре, 2 часа   |
| Промывка буфером         | 0,1 М фосфатный буфер (рН = 7,4), 2 раза по 10 минут  |
| Дегидратация             | Этиловые спирты восходящей концентрации – 30, 50, 70, 80, 96 %-е – 2 раза по 10 минут; абсолютные спирты 100(I), 100(II), 100(III) – 2 раза по 15 минут каждый; ацетон – 2 раза по 15 минут |
| Пропитка смолами         | Ацетон + эпоновые смолы, в течение 3 суток и 3 соотношений: (2 : 1); (1 : 1); (1 : 2)   |
| Заливка в капсулы        | Эпоновые смолы  |
| Полимеризация            | Отверждение в термостате при t = 30 °С, t = 45 °С и t = 60 °С по 24 часа при каждом из температурных режимов  |
| Полутонкая резка         | Микротом LKB-III 8800 (Швеция)  |
| Ультратонкая резка       | Микротом Reichert-Jung Ultracut-E 6524-01 (Австрия)   |
| Контрастирование сеточек | Уранилацетат 2 часа при t = 45 °С, цитрат свинца 1,5 минуты в присутствии щелочи при комнатной температуре  |
| Съемка на фотопленку     | Электронный микроскоп JEM 100 CX-II (“Jeol” Japan); фототехническая пленка Agfa orthochromatic  |
| Оцифровка снимков        | Сканер Epson perfection 4990 photo с разрешением 600 dpi  |
| Морфометрия снимков      | Программы ACDSee Pro v.6. и Axio Vision Rel. 4.8 (Carl Zeiss)   |

Для получения непредвзятой рандомизированной выборки морфометрических параметров перинуклеарного пространства, митохондрий и пероксисом гепатоцитов животных применялись классические методики выбора полей зрения на срезах. Ширину ПНП в нанометрах измеряли у всех ядер в случайных полях зрения в местах максимального отдаления наружной мембраны от внутренней. Методом систематических квадратов на площади снимка 100 мкм<sup>2</sup> проводили расчеты количества митохондрий и пероксисом, а также площади их сечения.

*Для статистической обработки применялись:*

1. *Описательная статистика* включала вычисление средней ( $M$ ), стандартной ошибки ( $m$ ), среднеквадратического отклонения ( $\delta$ ).
2. Наличие различий групповых средних оценивалось по *t-тесту Манна–Уитни*, статистически значимыми считались различия при  $p < 0,05$ .

## **3.2. Ультраструктурные исследования паренхимы печени и почек кроликов после хронического воздействия токсикантов**

### **3.2.1. Ультратонкие исследования гепатоцитов**

*Группа биологического контроля.* Ядра локализуются в центральных частях клеток, округло-овальной формы с диффузным расположением хроматина (рис. 3.2.1.1). ПНП равномерной ширины по всему периметру ядра, отчетливо просматриваются ядрышки и поры. Имеются двуядерные клетки. Митохондрии в основном удлиненной формы с четкими ламеллярными кристами и с плотным матриксом. Межмембранное расстояние крист равномерно по всей их длине. Цитоплазма средней электронной плотности, с большим количеством гликогена. Визуализируются пероксисомы и аппарат Гольджи. Гладкий эндоплазматический ретикулум хорошо наличествует по всему объему клетки, грЭПС с четко видимыми рибосомами развита в околядерной зоне.

***Гепатоциты кроликов после воздействия диоксина в дозе 1/200 ЛД<sub>50</sub>.*** Ядра гепатоцитов в основном овальные, но встречаются и нетипичной формы (рис. 3.2.1.2). Конденсированный хроматин виден в основном по периферии ядра. Среди фибриллярного или вокруг конденсированного хроматина повсеместно регистрируются скопления интерхроматиновых гранул. В одном ядре иногда встречается несколько ядрышек. ПНП у ряда ядер локально увеличено и достигает ширины 180 нм. Ядерная оболочка имеет многочисленные поры. Цитоплазма гепатоцитов просветленная, вакуолизированная, отмечаются отдельные полирибосомы. Редко попадаются розетки гликогена. Четко просматривается гладкий и гранулярный эндоплазматический ретикулум с большим количеством рибосом и набухшими каналами, фрагментирован. Аппарат Гольджи встречается часто и имеет большое количество мелких цистерн. Митохондрии увеличены в размерах, округло-овальной формы и имеют хлопьевидный матрикс. Кристы распределены в основном ближе к периферии, в центре митохондрий фактически не присутствуют. Много вторичных лизосом и остаточных телец.

***Гепатоциты кроликов после воздействия ацетата свинца в дозе 1/10 ЛД<sub>50</sub>.*** Ядра гепатоцитов неправильной формы с преобладанием конденсированного хроматина, располагающегося диффузно по всему ядру, появляются редкие скопления интерхроматиновых гранул. Также часто встречаются множественные инвагинации кариолеммы, глубоко вдающиеся внутрь ядра. Перинуклеарное пространство умеренно увеличено. Его ширина в среднем составляет 120 нм. В сравнении с контрольной группой, в цитоплазме гепатоцитов митохондрии с хлопьевидным матриксом высокой электронной плотности и единичными кристами. В некоторых митохондриях просматриваются плотные гранулы. Цитоплазма содержит многочисленные вакуоли (рис. 3.2.1.3), каналы гладкого ЭПР. Хорошо выражен гранулярный ЭПР с набухшими каналами. В цитоплазме мало гликогена, имеют место липидные включения, много пероксисом с кристаллическими структурами удлиненной формы. Аппарат Гольджи визуализируется крайне редко.

*Гепатоциты кроликов после сочетанного воздействия диоксида и ацетата свинца в дозах 1/200 ЛД<sub>50</sub> и 1/10 ЛД<sub>50</sub>. Ядра гепатоцитов сильно изменены. Меняется упаковка хроматина, много плотно упакованного хроматина по периферии. Ядрышки встречаются редко, мало ядерных пор. ПНП местами достигает ширины 390 нм. Матрикс митохондрий электронно-плотный, хлопьевидный. Мембраны митохондрий визуализируются как размытые, кристы наблюдаются в основном по периферии. В матриксе некоторых митохондрий просматриваются плотные гранулы. По всей цитоплазме распределено очень большое количество мелких и крупных вакуолей с электронно-прозрачным содержимым. Жировых включений и гликогена мало (рис. 3.2.1.4). Отмечаются телолизосомы, остаточные тела и МЛТ. Присутствует грЭПР с набухшими цистернами. Изредка отслеживаются каналы гладкого эндоплазматического ретикулума и фрагменты аппарата Гольджи.*

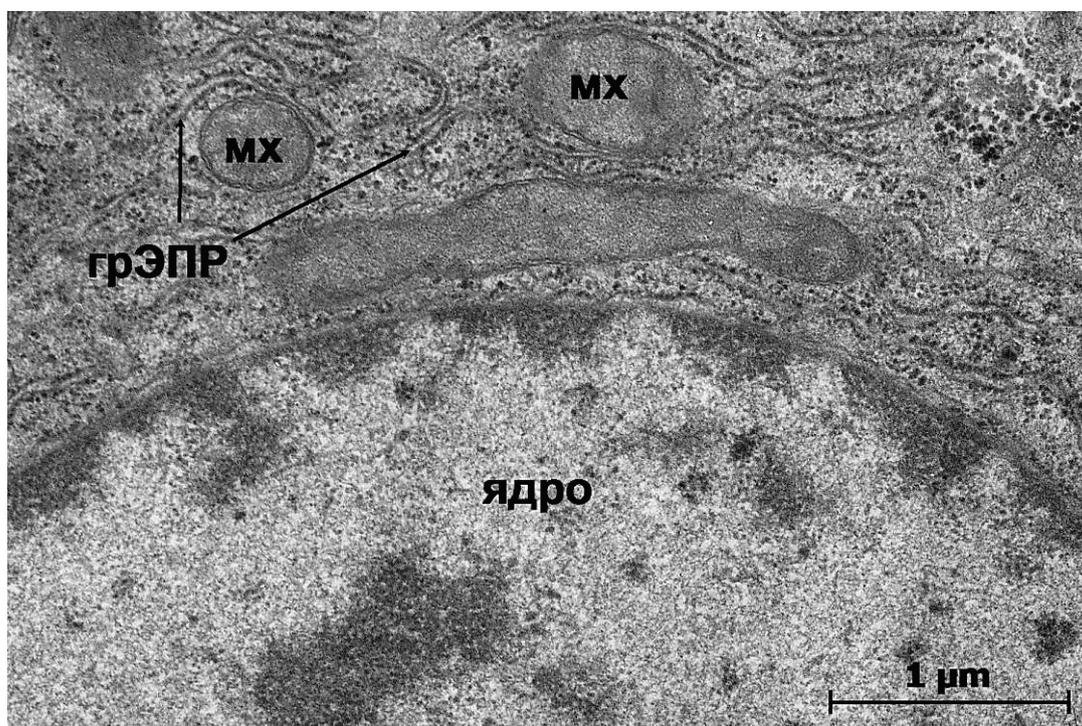


Рис. 3.2.1.1. Часть гепатоцита кролика группы биологического контроля  
Условные обозначения: грЭПР – гранулярный эндоплазматический ретикулум,  
МХ – митохондрии

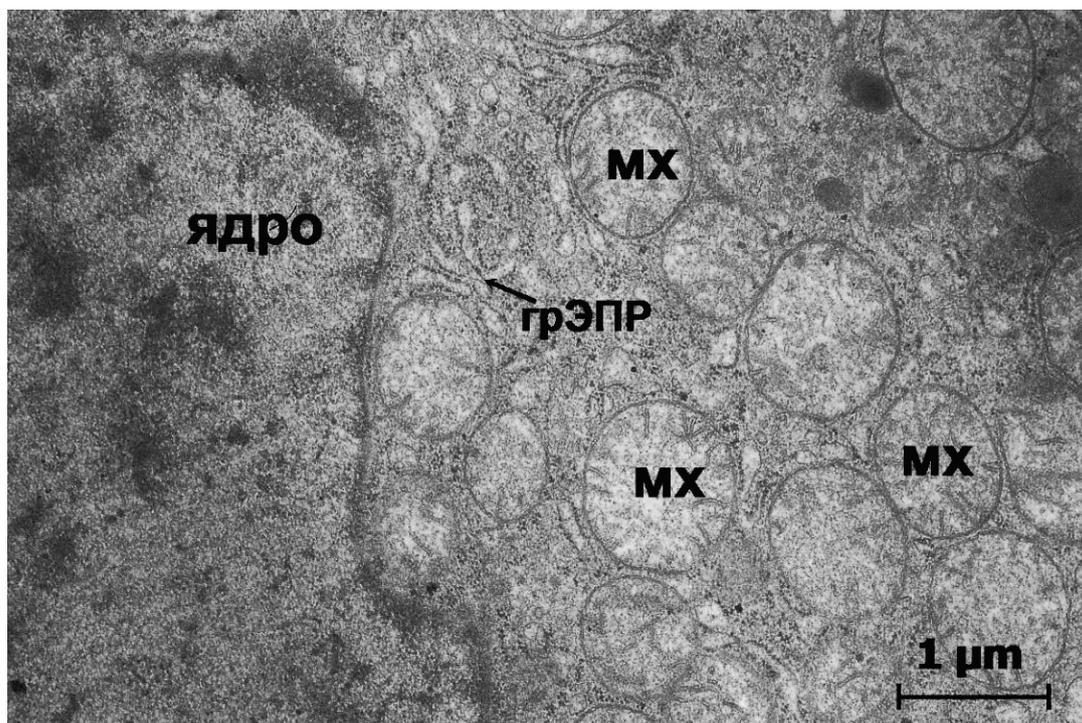


Рис. 3.2.1.2. Часть гепатоцита кролика после воздействия диоксина в дозе 1/200 ЛД<sub>50</sub>

*Условные обозначения:* МХ – митохондрии, грЭПР – гранулярный эндоплазматический ретикулум

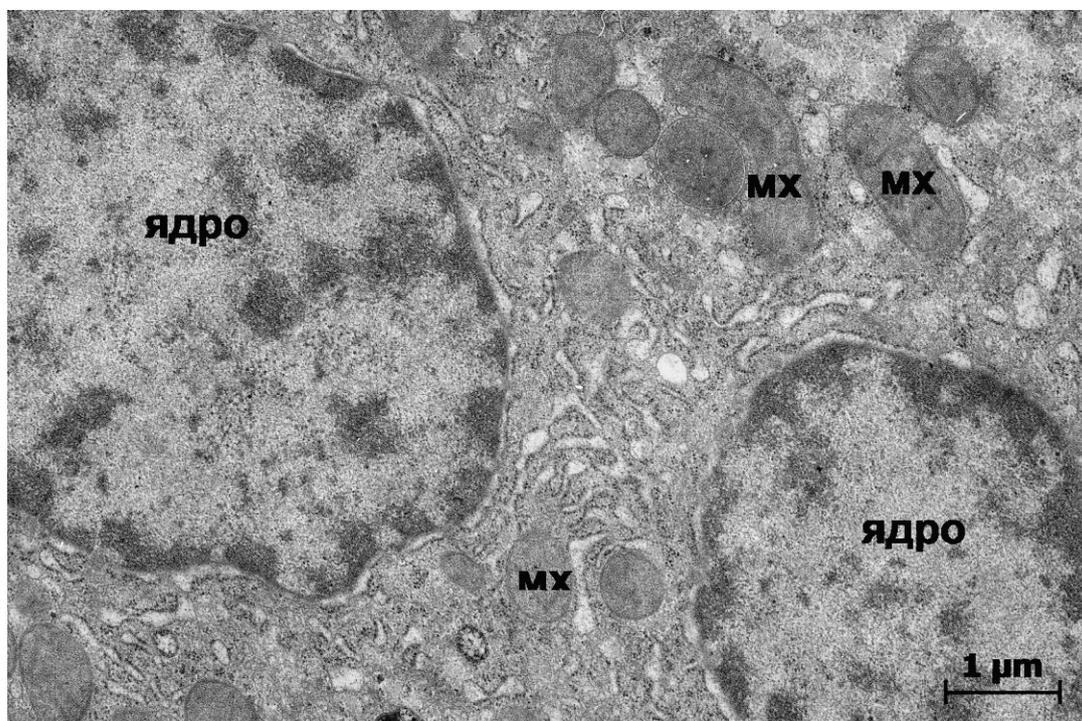


Рис. 3.2.1.3. Часть гепатоцита кролика после воздействия ацетата свинца в дозе 1/10 ЛД<sub>50</sub>

*Условные обозначения:* МХ – митохондрии

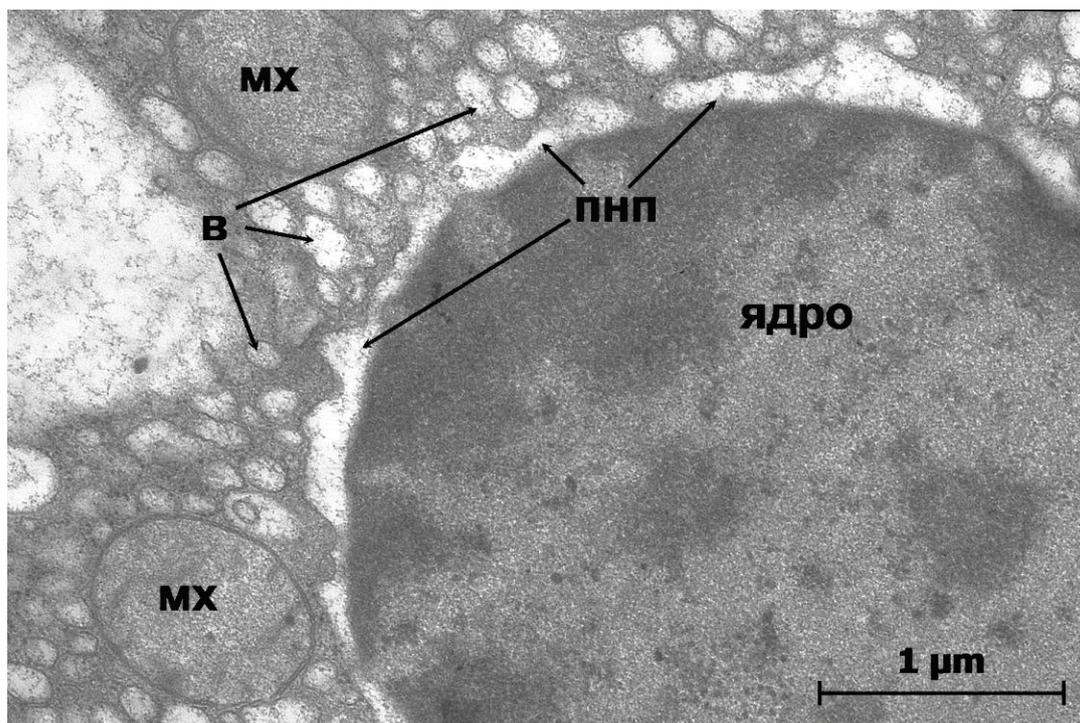


Рис. 3.2.1.4. Часть гепатоцита кролика после сочетанного воздействия диоксина в дозе 1/200 ЛД<sub>50</sub> и ацетата свинца в дозе 1/10 ЛД<sub>50</sub>  
Условные обозначения: ПНП – перинуклеарное пространство, В – вакуоли, МХ – митохондрии

### 3.2.2. Морфометрический анализ перинуклеарного пространства ядер гепатоцитов кроликов

На снимках группы биологического контроля после проведения морфометрических расчетов перинуклеарное пространство ПНП имеет относительно равномерную ширину по всему периметру ядра с наибольшими показателями 45 нм (рис. 3.2.2.1).

После длительной хронической интоксикации диоксином в дозе 1/200 от ЛД<sub>50</sub> в ядерном аппарате гепатоцитов кроликов происходят существенные изменения перинуклеарного пространства в сторону его расширения относительно группы биологического контроля в 4 раза, до 180 нм (на 300 %).

После хронического воздействия ацетата свинца в дозе 1/10 от ЛД<sub>50</sub> расширение перинуклеарного пространства ядер гепатоцитов кроликов составляет до 120 нм (на 166,7 %).

Наиболее пагубное воздействие на морфофункциональное состояние ядер гепатоцитов кроликов оказывает сочетанное воздействие диоксина в дозе 1/200 от ЛД<sub>50</sub> и ацетата свинца в дозе 1/10 от ЛД<sub>50</sub>. Ширина ПНП в ряде участков достигает 390 нм (на 766,7 %), что почти в 9 раз больше, чем в группе биологического контроля.

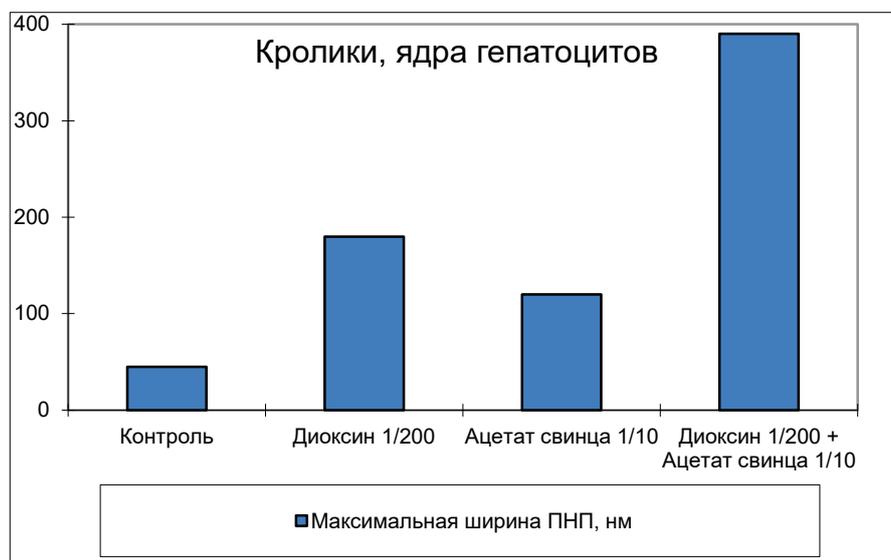


Рис. 3.2.2.1. Ширина перинуклеарного пространства ядер гепатоцитов кроликов контрольной и опытных групп

### 3.2.3. Морфометрический анализ митохондрий и пероксисом гепатоцитов кроликов

Анализ количественных и морфометрических расчетов графически представлен на рис. 3.2.3.1 и 3.2.3.2.

По результатам морфометрических измерений митохондрий и пероксисом кроликов группы биологического контроля среднее количество митохондрий на 100 мкм<sup>2</sup> фрагмента гепатоцита составляет 14,64 при средней площади сечения отдельной митохондрии 0,36 мкм<sup>2</sup>; пероксисом – 6,8 и 0,17 мкм<sup>2</sup> соответственно.

У кроликов после длительной хронической интоксикации диоксином в дозе 1/200 от ЛД<sub>50</sub> отмечается снижение среднего количества митохондрий до 12,51, но увеличение средней площади сечения до

0,74 на 100 мкм<sup>2</sup>; по состоянию пероксисом наблюдается та же тенденция – 4,42 и 0,29 мкм<sup>2</sup> соответственно ( $p < 0,05$ ).

После хронического воздействия ацетата свинца в дозе 1/10 от ЛД<sub>50</sub> выявляется увеличение количества митохондрий на 49,2 % ( $p < 0,05$ ), средняя площадь сечения относительно контрольной группы не изменяется – 0,36 мкм<sup>2</sup> ( $p > 0,05$ ). Количество пероксисом снижается по сравнению с контрольной группой на 82,5 %, а средняя площадь сечения увеличивается на 16,0 % ( $p < 0,05$ ).

После длительной хронической сочетанной интоксикации диоксином в дозе 1/200 от ЛД<sub>50</sub> и ацетатом свинца в дозе 1/10 от ЛД<sub>50</sub> среднее количество митохондрий относительно группы биологического контроля снижается на 49,2 %, а средняя площадь сечения – на 5,6 % ( $p < 0,05$ ). Количество пероксисом по сравнению с контрольной группой понижается на 42,8 %, а средняя площадь сечения увеличивается на 17,6 % ( $p < 0,05$ ).

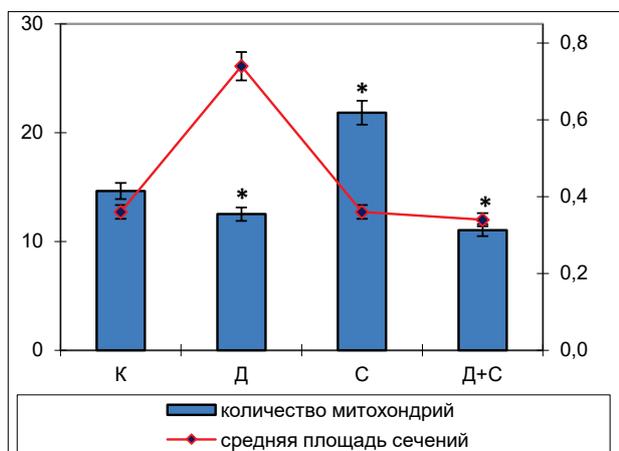


Рис. 3.2.3.1. Морфометрические показатели митохондрий гепатоцитов кроликов. Левая ось ординат – количество митохондрий на 100 мкм<sup>2</sup> снимка, правая ось ординат – средняя площадь сечений митохондрий (в мкм<sup>2</sup>), ось абсцисс – группы животных, \* –  $P < 0,05$  по сравнению с контрольным значением

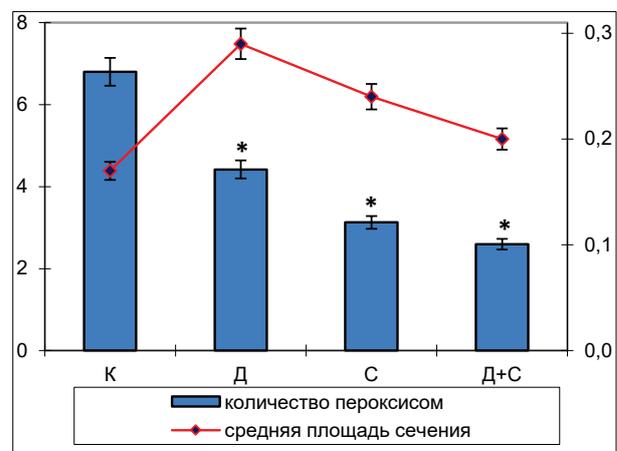


Рис. 3.2.3.2. Морфометрические показатели пероксисом гепатоцитов кроликов. Левая ось ординат – количество пероксисом на 100 мкм<sup>2</sup> снимка, правая ось ординат – средняя площадь сечений пероксисом, ось абсцисс – группы животных, \* –  $P < 0,05$  по сравнению с контрольным значением

Условные обозначения: к – контроль, д – диоксин, с – ацетат свинца, дс – диоксин + ацетат свинца

### 3.2.4. Ультратонкие исследования клеток коркового слоя почек

*Корковое вещество почек кроликов контрольной группы. Эпителиоциты проксимальных канальцев почек.* Ядро округлой формы с хроматином средней электронной плотности. Конденсированный хроматин распределен по периферии ядра. Отчетливо просматриваются ядрышки. Перинуклеарное пространство одинаковой ширины на всей протяженности ядерной оболочки. Цитоплазма средней электронной плотности. Митохондрии в основном продолговатой формы средних размеров (рис. 3.2.4.1). Удлиненные митохондрии, располагающиеся в непосредственной близости от складок клеточной мембраны базальной части клетки, достигают длины 4 мкм. Матрикс умеренной электронной плотности. Кристы отчетливо просматриваются. Межмембранное расстояние крист равномерно по всей их длине. Ламеллярные кристы компануются параллельными рядами. Складки плазматической мембраны базальной части клетки имеют высокую контрастность и отчетливо видны. Они далеко вдаются вглубь клетки, доходят до ядра эпителиоцита. Протяженность лабиринта составляет 160 мкм к 5 мкм базальной пластинки. Редко встречается аппарат Гольджи с мелкими цистернами и эндоплазматический ретикулум. Цитоплазма заполнена небольшим количеством мелких вакуолей с содержимым различной электронной плотности, которые можно диагностировать как пиноцитозные пузырьки. Апикальная часть эпителиоцитов имеет большое количество микроворсинок с хорошо развитыми актиновыми филаментами.

*Фильтрационный барьер почечных клубочков.* Средняя толщина базальной мембраны фильтрационного барьера почечных клубочков кроликов имеет 285 нм. Среднее количество ножек подоцитов на 3 мкм базальной пластинки фильтрационного барьера составляет 12,5 мкм. Отмечаются четко выраженные фильтрационные щели между ножками подоцитов (рис. 3.2.4.2). Их ядра неправильной формы с хроматином средней электронной плотности. Конденсированный хроматин

равномерно расположен по всему объему ядра. Цитоплазма подоцитов заполнена большим количеством митохондрий с матриксом средней электронной плотности. Кристы митохондрий равномерны. Часто встречаются цистерны гранулярного эндоплазматического ретикулума, свободные рибосомы и комплекс Гольджи. В трабекулах хорошо просматривается актиновый цитоскелет.

*Корковое вещество почек кроликов после воздействия диоксина в дозе 1/200 ЛД<sub>50</sub>. Эпителиоциты проксимальных канальцев почек.* Ядра эпителиоцитов в основном округлой формы с хроматином средней электронной плотности. Иногда ядра неправильной формы. Наблюдаются участки конденсированного хроматина в приграничной зоне ядерной мембраны, скопления интерхроматиновых гранул по всей карิโอплазме. Хорошо видны ядрышки. Перинуклеарное пространство неравномерное, местами увеличенное, достигает ширины 97 нм. Отмечается гетерогенная реакция митохондрий на воздействие диоксином. Одни заполнены матриксом низкой электронной плотности. В некоторых кристы располагаются по периферии, а матрикс электронно-прозрачен (рис. 3.2.4.3). В целом на снимках преобладают митохондрии с полным отсутствием крист, при этом они имеют довольно большой диаметр, около 2 мкм. Можно диагностировать набухание митохондрий. Много пероксисом. Складки плазматической мембраны базальной части клеток характеризуются участками с расширенным межмембранным пространством. Складок чуть меньше, но они имеют глубокую протяженность, доходят до околядерной зоны эпителиоцитов. Средняя длина мембраны лабиринта отличается от контроля, что составляет 136,4 мкм к 5 мкм базальной пластинки. Вся цитоплазма равномерно заполнена очень большим количеством мелких вакуолей. В цитоплазме некоторых эпителиоцитов проксимальных канальцев имеются липидные капли, вторичные лизосомы, много пероксисом. Также присутствуют большие вакуоли с хлопьевидным содержимым.

*Фильтрационный барьер почечных клубочков.* Средняя толщина базальной мембраны фильтрационного барьера почечных клубочков

кроликов имеет 187 нм. Среднее количество ножек подоцитов на 3 мкм базальной пластинки фильтрационного барьера составляет 7,5, происходит слияние цитоподий. Отмечаются расширенные фильтрационные щели и отслоение эндотелия от базальной пластинки. Ядра подоцитов неправильной формы с хроматином средней электронной плотности. Конденсированный хроматин компануется как по периферии, так и в центральной части ядра. Ядрышки хорошо различимы. Митохондрии подоцитов сильно увеличены и имеют электронно-прозрачный матрикс. В большинстве кристы вовсе отсутствуют. В митохондриях, где есть кристы, они находятся по периферии внешней мембраны. Встречаются цистерны гранулярного эндоплазматического ретикулума, отдельные полирибосомы. В большинстве трабекул хорошо просматривается актиновый цитоскелет (рис. 3.2.4.4).

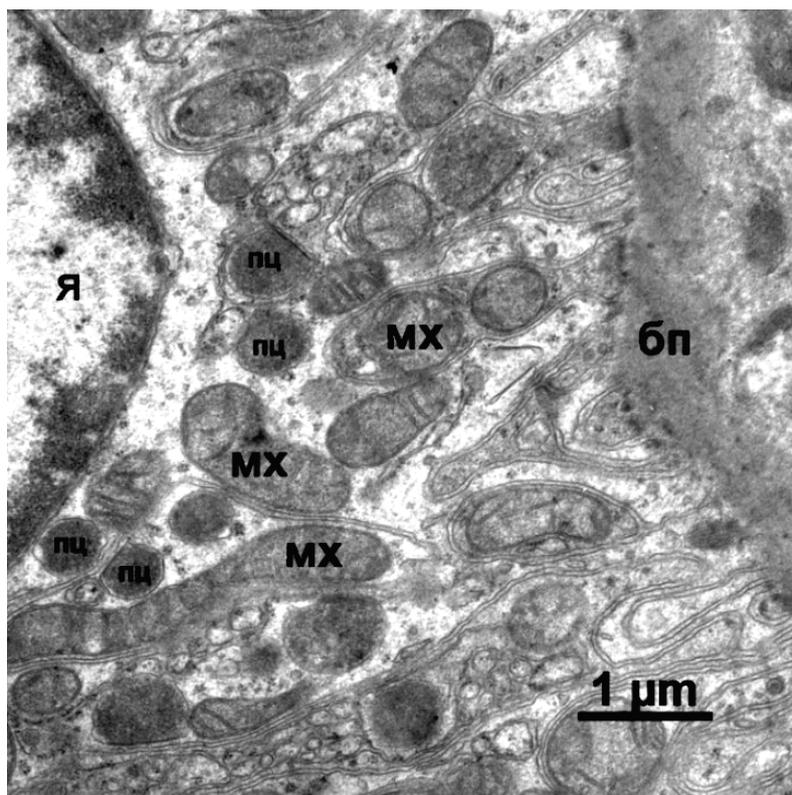


Рис. 3.2.4.1. Часть эпителиоцита проксимального канальца почки кролика контрольной группы

Условные обозначения: Я – ядро, МХ – митохондрии, БП – базальная пластинка, ПЦ – пиноцитозные пузырьки

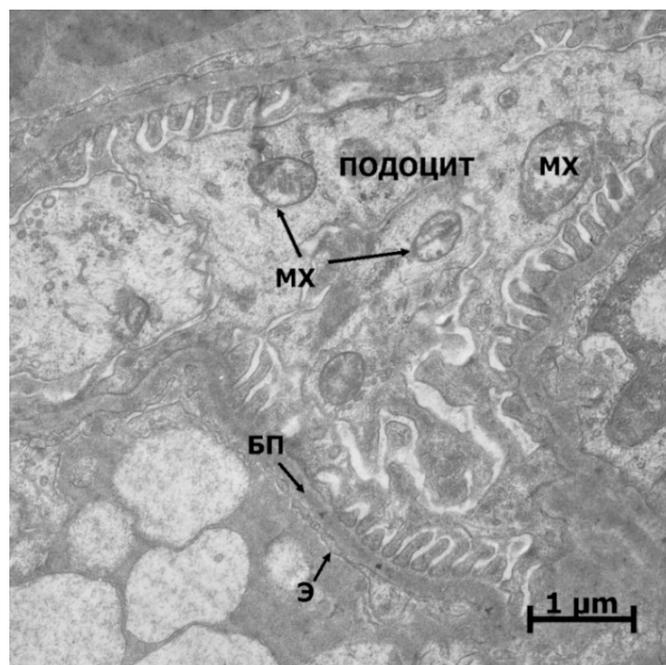


Рис. 3.2.4.2. Часть подоцита почечного клубочка кролика контрольной группы

Условные обозначения: МХ – митохондрии, БП – базальная пластинка, Э – эндотелий

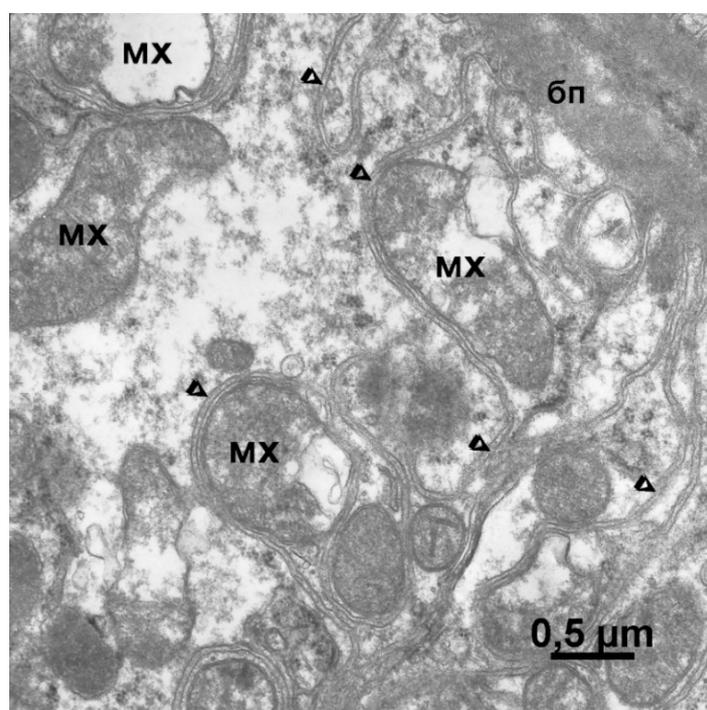


Рис. 3.2.4.3. Часть эпителиоцита проксимального канальца кролика после воздействия диоксина в дозе 1/200 ЛД<sub>50</sub>

Условные обозначения: МХ – митохондрия, БП – базальная пластинка, стрелками указаны складки плазматической мембраны базальной части клетки

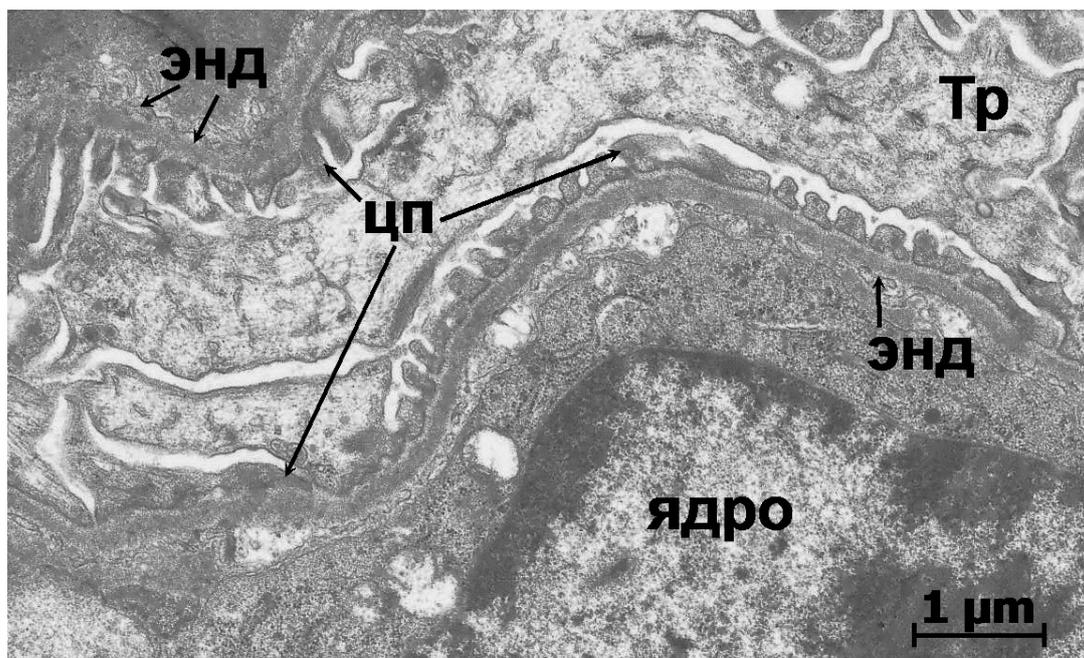


Рис. 3.2.4.4. Участок коркового слоя почек кролика после воздействия диоксина в дозе 1/200 ЛД<sub>50</sub>

Условные обозначения: Энд – эндотелий, ЦП – цитоподии, Тр – трабекула

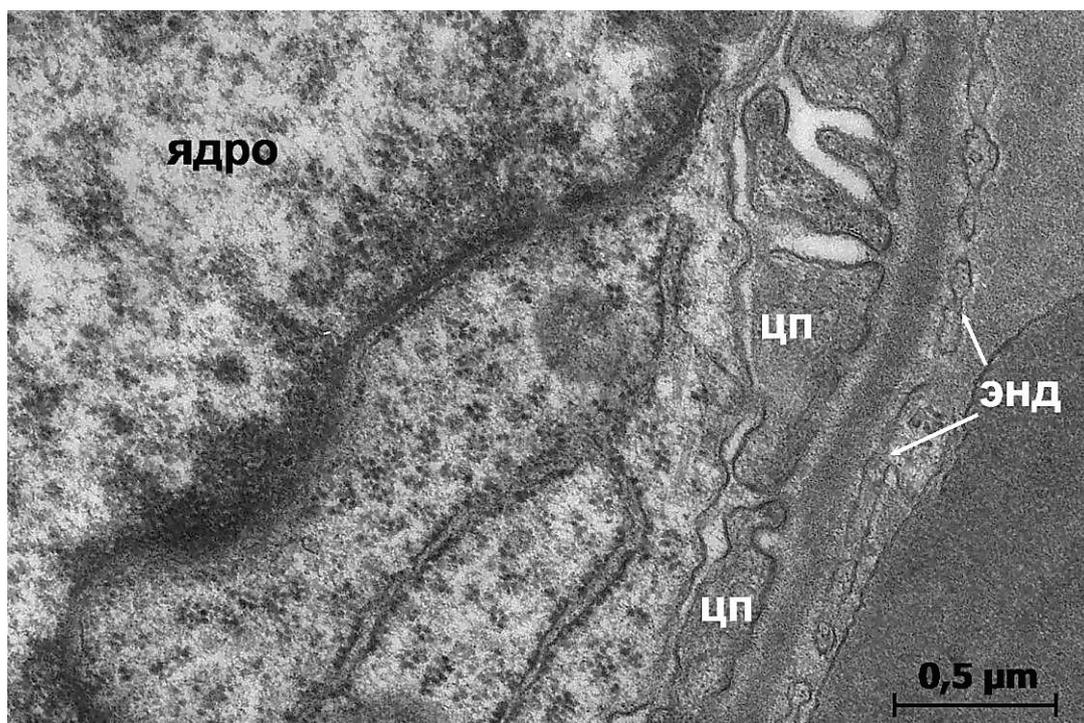


Рис. 3.2.4.5. Участок коркового слоя почек кролика после воздействия ацетата свинца в дозе 1/10 ЛД<sub>50</sub>

Условные обозначения: ЦП – цитоподии, Энд – эндотелий

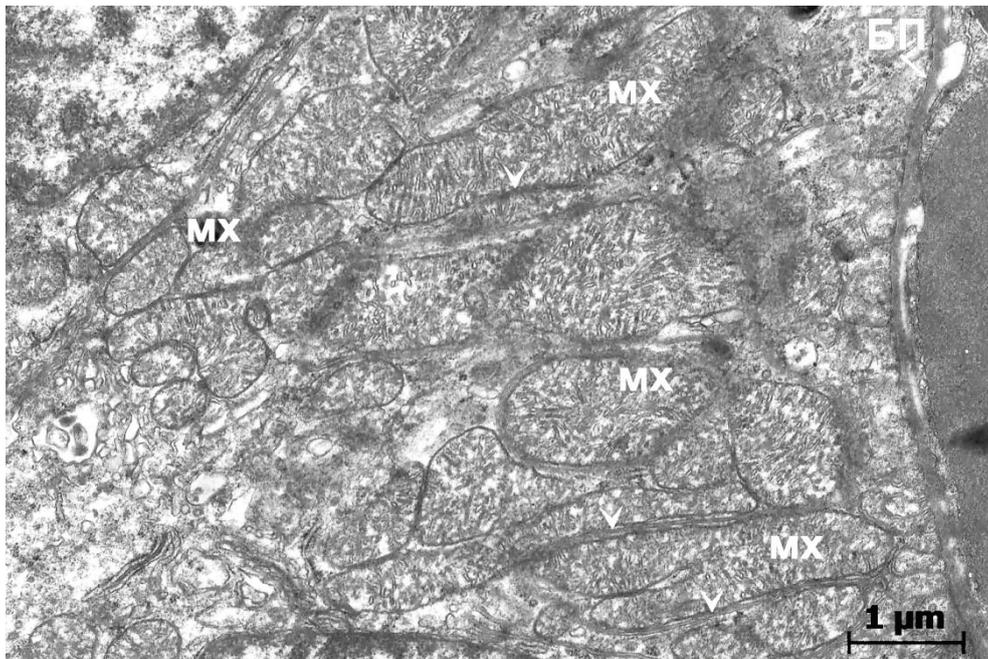


Рис. 3.2.4.6. Участок проксимального канальца кролика после воздействия ацетата свинца дозе 1/10 ЛД<sub>50</sub>

Условные обозначения: МХ – митохондрии, БП – базальная пластинка, стрелками обозначена складчатость мембраны базальной части клетки

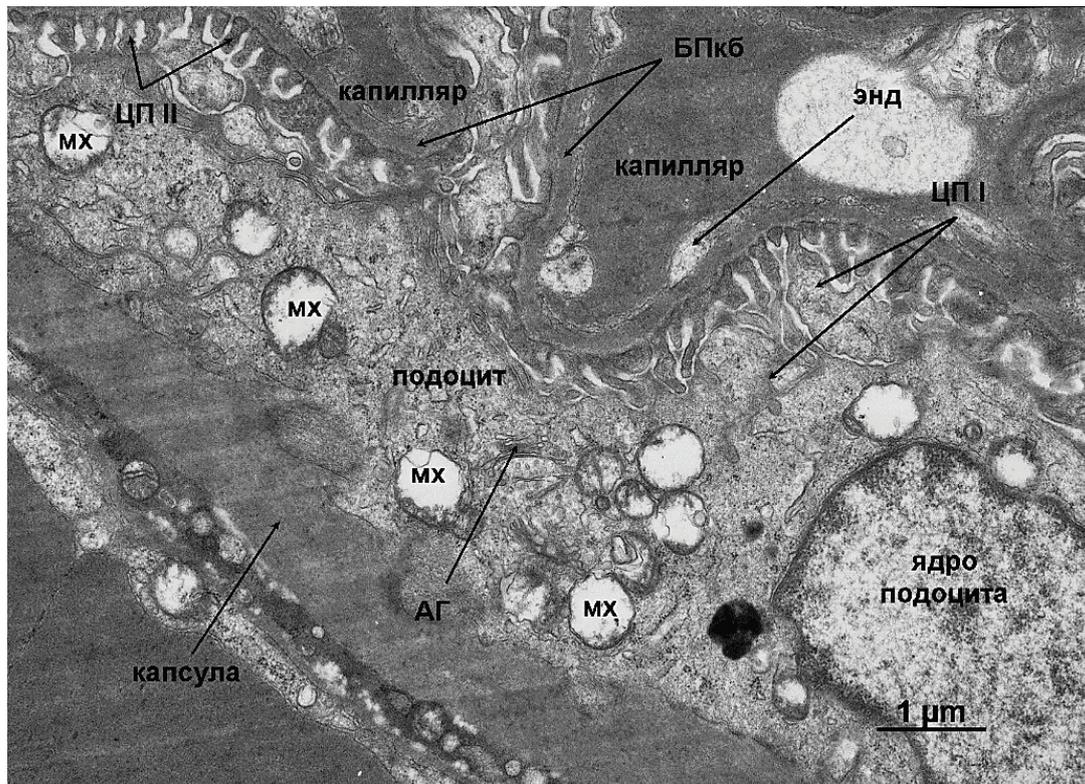


Рис. 3.2.4.7. Участок почечного клубочка кролика после сочетанного воздействия диоксина в дозе 1/200 ЛД<sub>50</sub> и ацетата свинца в дозе 1/10 ЛД<sub>50</sub>

Условные обозначения: МХ – митохондрии, ЭНД – эндотелий, АГ – аппарат Гольджи, БПкб – базальная пластинка фильтрационного барьера клубочка, ЦП – цитоподии подоцитов первого и второго порядка

*Корковое вещество почек кроликов после воздействия ацетата свинца в дозе 1/10 ЛД<sub>50</sub>. Эпителиоциты проксимальных канальцев коркового слоя почек. Ядра эпителиоцитов в основном имеют неправильную форму. Гетерохроматин расположен равномерно по всей площади ядра, иногда отмечаются скопления интерхроматиновых гранул. Ширина перинуклеарного пространства в среднем составляет 35 нм. Оно имеет относительно равномерную ширину на всем своем протяжении. Эпителиоциты с множеством митохондрий с хорошо выраженным полиморфизмом. Первый тип. Матрикс митохондрий имеет электронно-светлую структуру, ламеллярные кристы, хаотично расположены. Отмечены митохондрии бубликовидной формы.*

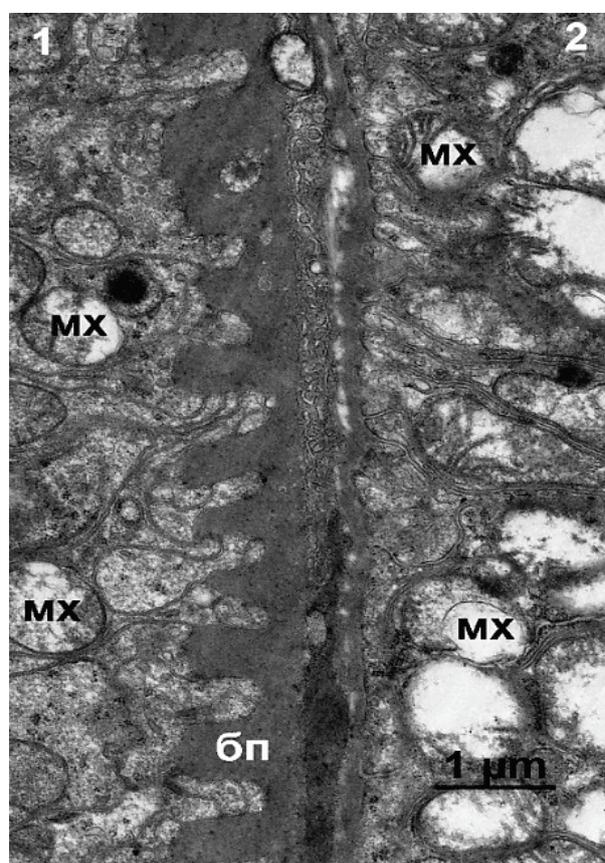
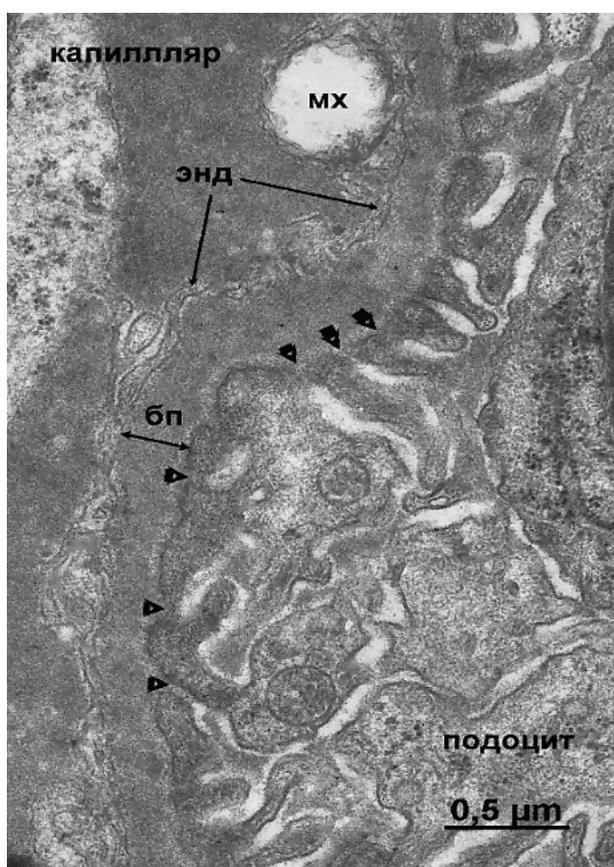


Рис. 3.2.4.8 (слева). Часть фильтрационного барьера почечного клубочка кролика после сочетанного воздействия диоксина в дозе 1/200 ЛД<sub>50</sub> и ацетата свинца в дозе 1/10 ЛД<sub>50</sub>. Короткими стрелками показаны фильтрационные щели

Рис. 3.2.4.9 (справа). Выпячивания базальной пластинки на фрагменте проксимального канальца кролика после воздействия диоксина и ацетата свинца.

1 – проксимальный каналец; 2 – дистальный каналец

Условные обозначения: МХ – митохондрии, БП – базальная пластинка, ЭНД – эндотелий

Межмембранное расстояние крист непостоянно на всем протяжении и составляет от 15 до 30 нм (рис. 3.2.4.5). Второй тип. Митохондрии плотно наполнены ламеллярными и трубчатыми набухшими кристами. Во многих клетках складки лабиринта плотно заполнены митохондриями этого типа, для которых характерен высокий энергетический уровень. Третий тип. Деструктивные митохондрии с просветленным матриксом и малым количеством коротких крист. В митохондриях этой группы кроликов отмечены плотные мелкие гранулы. Вблизи микроворсинок эпителиоцитов проксимальных канальцев почек присутствует много деструктивных митохондрий с отсутствующими кристами. Складки базальной плазмалеммы высокой протяженности. Она составляет в среднем 96,6 мкм относительно 5 мкм базальной пластинки эпителиоцита, что на 40,7 % меньше интактной группы животных. Аппарат Гольджи встречается редко. Очень много пероксисом, отмечаются телозисомы.

*Фильтрационный барьер почечных клубочков.* Базальная мембрана фильтрационного барьера почечных клубочков кроликов имеет толщину в среднем 207 нм. Среднее количество ножек подоцитов на 3 мкм базальной пластинки фильтрационного барьера составляет 8,3, происходит слияние цитоподий (рис. 3.2.4.6). Отмечаются расширенные фильтрационные щели и нарушение эндотелия фильтрационного барьера. Ядра подоцитов неправильной формы с хроматином средней электронной плотности. Конденсированный хроматин имеет место по периферии кариолеммы. Ядрышки не обнаруживаются. Митохондрий в подоцитах намного меньше, чем в эпителиоцитах, они с электронно-плотным матриксом и у многих выявляются признаки деструкции. Цитоплазма подоцитов равномерно заполнена отдельными цистернами гранулярного эндоплазматического ретикулума. Встречаются комплекс Гольджи с небольшими цистернами, пероксисомы, отдельные полирибосомы. В ряде трабекул цитоскелет хорошо развит, а в некоторых почти отсутствует.

*Корковое вещество почек кроликов после сочетанного воздействия диоксина и ацетата свинца в дозах 1/200 ЛД<sub>50</sub> и 1/10 ЛД<sub>50</sub>.* Эпителиоциты проксимальных канальцев коркового слоя почек. Ядра эпителиоцитов округлой формы. Хроматин средней электронной плотности. Хроматин чаще всего распределен равномерно по всему объему

ядра. Ядрышки хорошо различимы. Перинуклеарное пространство равномерное по всей протяженности кариолеммы. Цитоплазма просветленная. Гранулярный эндоплазматический ретикулум плохо развит. Митохондрии эпителиоцитов имеют либо электронно-прозрачный хлопьевидный матрикс с короткими кристами по периферии, либо деградированные кристы в виде остаточных мембран. При этом регистрируются мелкие митохондрии с плотным матриксом и четкими кристами. Митохондрии эпителиоцитов размером от 0,5 до 2,5 мкм. В цитоплазме присутствует большое количество пероксисом с электронно-плотным содержимым. Аппарат Гольджи почти не встречается. Складки базальной плазмалеммы редкие, но протяженные. Длина лабиринта составляет 56,7 мкм относительно 5 мкм базальной пластинки эпителиоцита, что на 65,6 % меньше интактной группы животных. Базальная пластинка образует фестоны (рис. 3.2.4.7). Гладкая эндоплазматическая сеть представлена мелкими каналами. В цитоплазме повсеместно встречается много пероксисом и телолизосом.

*Фильтрационный барьер почечных клубочков.* Базальная мембрана фильтрационного барьера почечных клубочков кроликов после сочетанного воздействия диоксина и ацетата свинца имеет толщину в среднем 209 нм. Среднее количество ножек подоцитов на 3 мкм базальной пластинки фильтрационного барьера составило 7,0. Отмечаются суженные фильтрационные щели. Присутствует отслоение эндотелия от базальной пластинки фильтрационного барьера и его фрагментирование. Ядра подоцитов неправильной формы с хроматином средней электронной плотности. Конденсированный хроматин расположен по периферии кариолеммы. Ядрышки хорошо различимы. Митохондрии подоцитов имеют электронно-прозрачный матрикс, что говорит о процессах деструкции (рис. 3.2.4.8–3.2.4.9). Цитоплазма электронно-плотная, встречаются полирибосомы, комплекс Гольджи с небольшими цистернами и гранулярный эндоплазматический ретикулум.

### **3.3. Ультраструктурные исследования паренхимы печени и почек свиней после хронического воздействия токсикантов**

#### **3.3.1. Ультратонкие исследования гепатоцитов**

*Группа биологического контроля.* Ядра клеток печени имеют округлую форму и находятся в центральной части клетки. Эухроматин равномерно распределен по ядру в виде фибриллярного и мелкоглобулярного вещества (рис. 3.3.1.1). Участки конденсированного хроматина отдельными участками хаотично располагаются в центральной области. Встречаются ядрышки. Перинуклеарное пространство не расширено, четко просматривается межмембранное пространство с большим количеством пор. Гранулярный ЭПР четко выражен, располагается этажерками в цитоплазме, образует плотные контакты с пероксисомами, зачастую окружен митохондриями. Митохондрии крупные, округлые, отдельные трубчатые кристы имеют место в плотном матриксе. Цитоплазма средней электронной плотности, заполнена розетками гликогена, встречаются фрагменты гладкого ЭПР.

*Гепатоциты свиней после воздействия диоксина в дозе 1/400 ЛД<sub>50</sub>.* Встречаются двуядерные гепатоциты, структура упаковки хроматина не меняется. Отмечаются некоторые признаки детоксикации: увеличенное количество пероксисом, причем некоторые имеют контакты с митохондриями, набухание цистерн грЭПР, появляются мелкие вакуоли, цитоплазма заполнена розетками гликогена. Митохондрии округлой формы с просветленным хлопьевидным матриксом, мало крист, на некоторых профилях полностью отсутствуют (рис. 3.3.1.2).

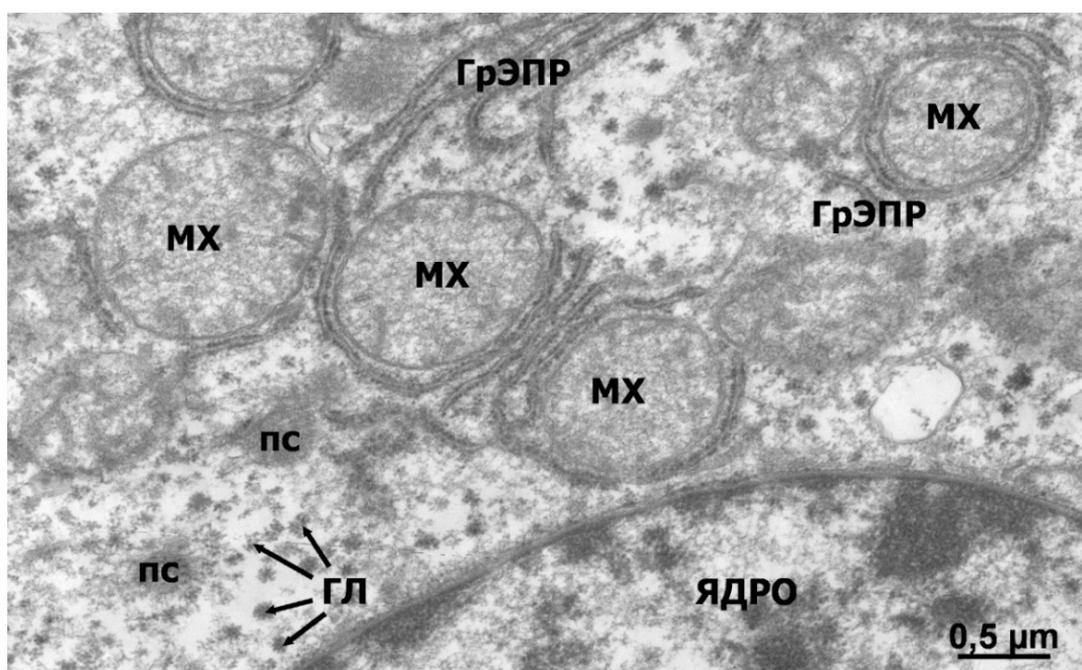


Рис. 3.3.1.1. Фрагмент гепатоцита свиньи контрольной группы  
*Условные обозначения:* МХ – митохондрии, ГрЭПР – гранулярный  
 эндоплазматический ретикулум, ПС – пероксисомы, ГЛ – гликоген

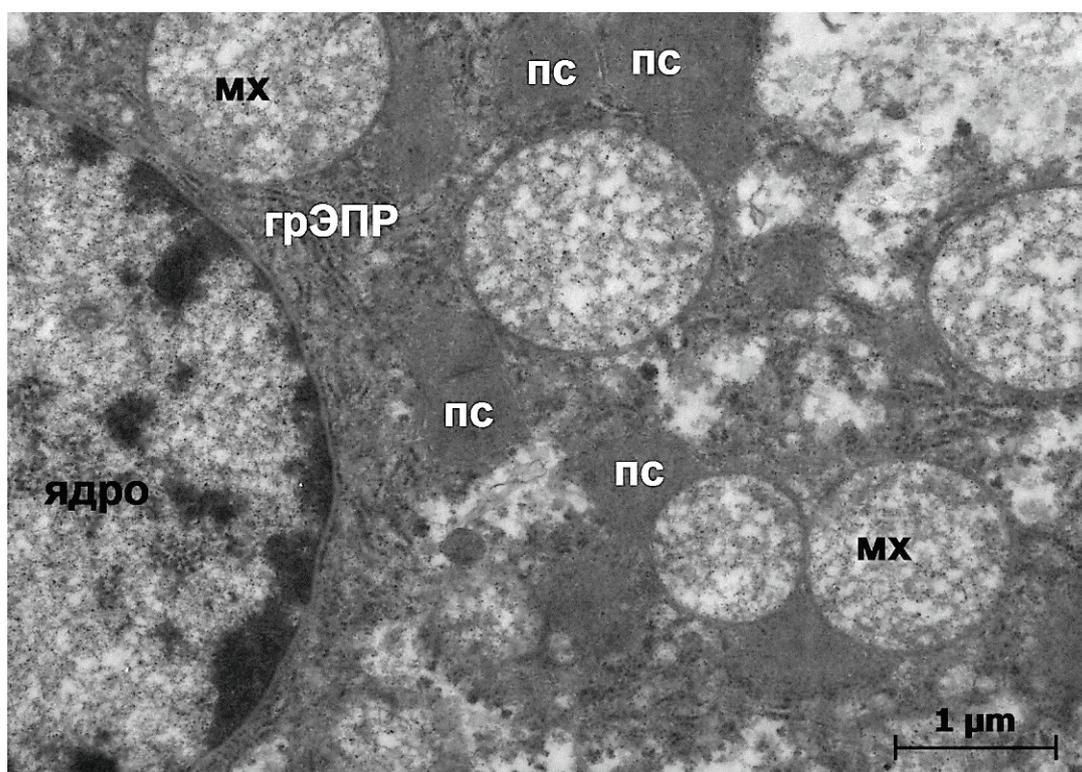


Рис. 3.3.1.2. Участок гепатоцита свиньи группы,  
 получавшей диоксин в дозе 1/400 ЛД<sub>50</sub>  
*Условные обозначения:* МХ – митохондрии, ГрЭПР – гранулярный  
 эндоплазматический ретикулум, ПС – пероксисомы

**Гепатоциты свиней после воздействия Т-2 токсина в дозе 2 ПДК.** Встречаются двуядерные гепатоциты. В ядерном аппарате преобладает фибриллярный хроматин. Среди фибриллярного или вокруг конденсированного хроматина повсеместно регистрируются скопления интерхроматиновых гранул. Имеется ядрышко, ядерных пор много.

По сравнению с контролем меньше гликогена (рис. 3.3.1.3) и цистерн грЭПР, который располагается чаще вокруг митохондрий в околоядерной зоне. Митохондрии с небольшим количеством крист, у которых с трудом просматривается межмембранное пространство, и плотным матриксом. Форма различна – от округло-овальных до удлиненно-изогнутых. Чуть больше пероксисом. Обращает на себя внимание неравномерная цитоплазма: встречаются просветленные участки с коагулированным цитозолем практически без рибосом.

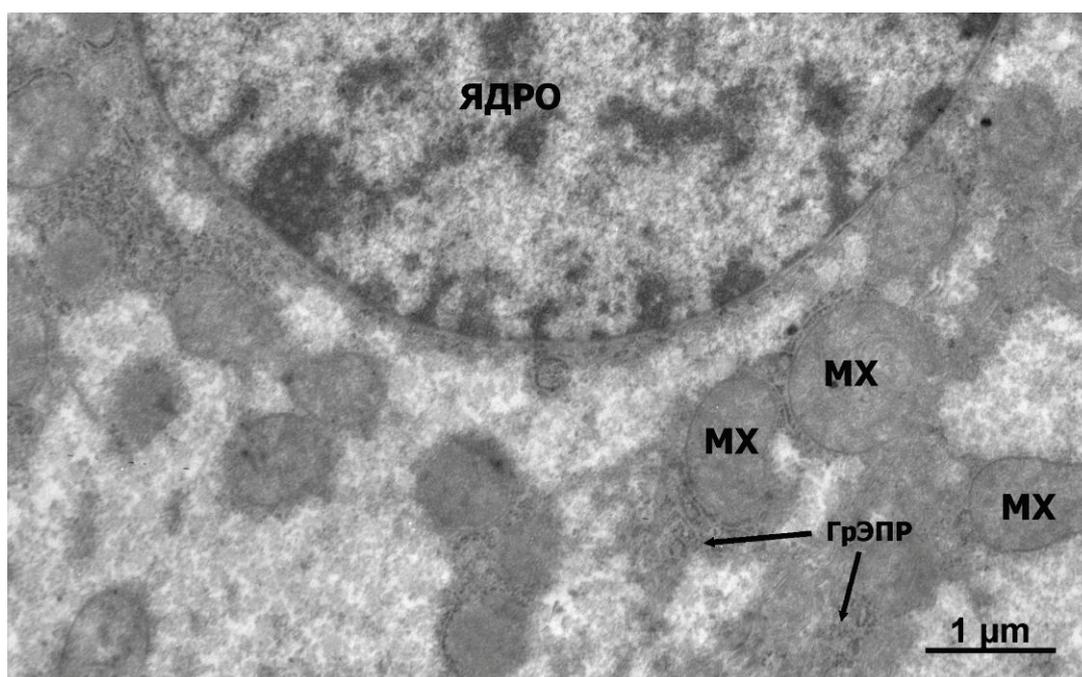


Рис. 3.3.1.3. Участок гепатоцита свиньи группы, получавшей Т-2 токсин в дозе 2 ПДК

Условные обозначения: МХ – митохондрии, ГрЭПР – гранулярный эндоплазматический ретикулум

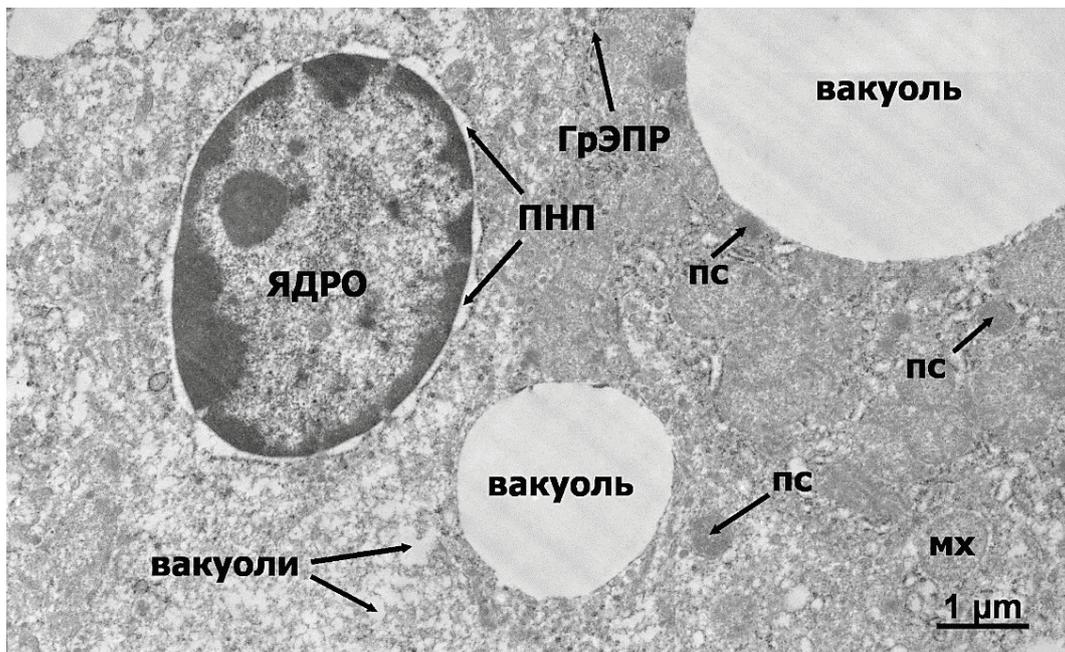


Рис. 3.3.1.4. Часть гепатоцита свиньи группы, получавшей сочетано диоксин в дозе 1/400 ЛД<sub>50</sub> и Т-2 токсин в дозе 2 ПДК

Условные обозначения: МХ – митохондрии, ПНП – перинуклеарное пространство, ГрЭПР – гранулярный эндоплазматический ретикулум, ПС – пероксисомы

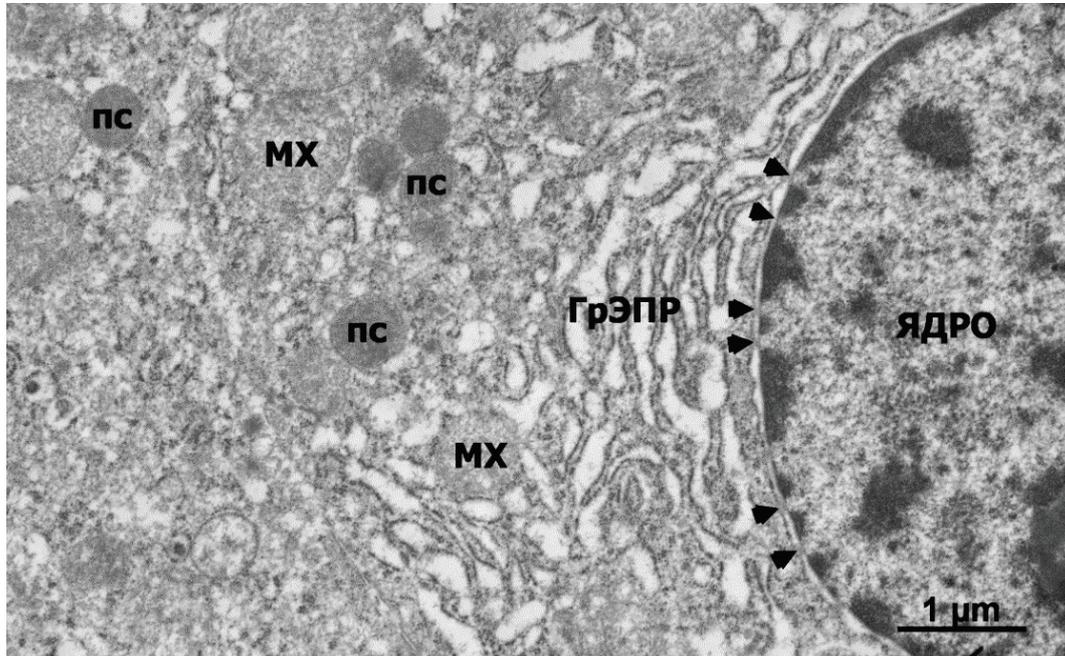


Рис. 3.3.1.5. Часть гепатоцита свиньи группы, получавшей сочетано диоксин в дозе 1/400 ЛД<sub>50</sub> и Т-2 токсин в дозе 2 ПДК

Условные обозначения: МХ – митохондрии, ГрЭПР – гранулярный эндоплазматический ретикулум, ПС – пероксисомы; стрелками указаны ядерные поры

*Гепатоциты свиней после сочетанного воздействия диоксина и Т-2 токсина в дозах 1/400 ЛД<sub>50</sub> и 2 ПДК.* В некоторых клетках отмечаются патологические процессы: очень крупные вакуоли, просветление цитоплазмы, конденсирование хроматина, набухание перинуклеарного пространства, резкое уменьшение грЭПР, мелкая вакуолизация цитоплазмы, отсутствие гликогена (рис. 3.3.1.4).

В большинстве клеток визуализируются процессы, которые, скорее всего, можно отнести к адаптационно-компенсаторным: появление мелкоглобулярного эухроматина, много ядерных пор, набухание цистерн грЭПР (рис. 3.3.1.5), увеличение пероксисом, много митохондрий с единичными кристами.

### **3.3.2. Морфометрический анализ перинуклеарного пространства ядер гепатоцитов свиней**

На снимках группы биологического контроля морфометрические расчеты демонстрируют перинуклеарное пространство ПНП относительно равномерной ширины по всему периметру ядра с наибольшими показателями 50 нм (рис. 3.3.2.1).

После длительной хронической интоксикации диоксином в дозе 1/400 от ЛД<sub>50</sub> в ядерном аппарате гепатоцитов свиней перинуклеарное пространство увеличивается относительно группы биологического контроля на 20 % (до 60 нм).

Длительное хроническое воздействие Т-2 токсина в дозе 2 ПДК, наоборот, приводит к тому, что происходит уменьшение ширины перинуклеарного пространства ядер на 20 % (40 нм).

Наиболее сильное влияние на морфофункциональное состояние ядер гепатоцитов свиней оказывает сочетанное воздействие диоксина в дозе 1/400 от ЛД<sub>50</sub> и Т-2 токсина в дозе 2 ПДК. Ширина ПНП в ряде участков достигает 210 нм (на 320,0 %), что более чем в 4 раза больше, чем в группе биологического контроля.

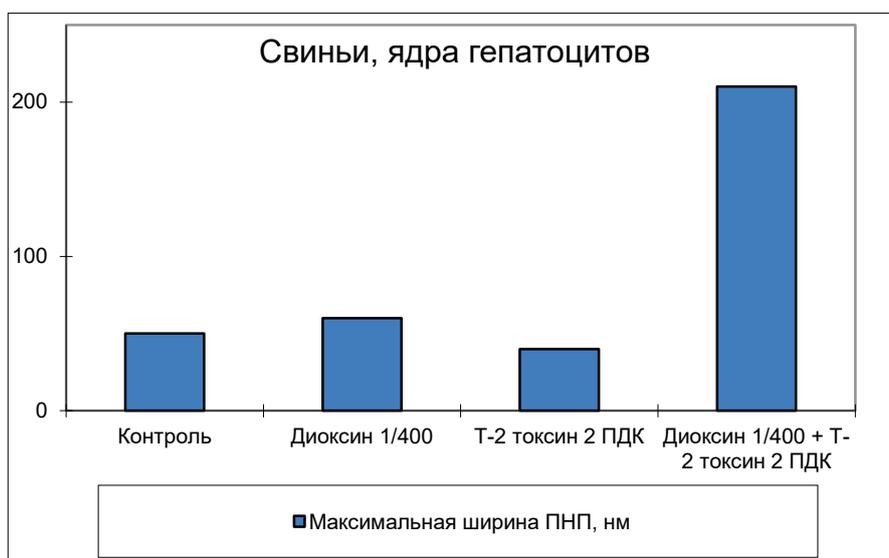


Рис. 3.3.2.1. Ширина перинуклеарного пространства ядер гепатоцитов свиней контрольной и опытных групп

### 3.3.3. Морфометрический анализ митохондрий и пероксисом гепатоцитов свиней

Анализ количественных и морфометрических расчетов графически представлен на рис. 3.3.3.1 и 3.3.3.2.

Морфометрические измерения митохондрий и пероксисом свиней группы биологического контроля показывают, что среднее количество митохондрий на 100 мкм<sup>2</sup> фрагмента гепатоцита составляет 18,05 при средней площади сечения отдельной митохондрии 0,7 мкм<sup>2</sup>; пероксисом – 4,74/0,16 мкм<sup>2</sup> соответственно.

После длительной хронической интоксикации свиней диоксином в дозе 1/400 от ЛД<sub>50</sub> наблюдается снижение количества митохондрий и средней площади их сечения относительно группы биологического контроля на 60,2 и 15,5 % соответственно ( $p < 0,05$ ). При этом количество пероксисом увеличивается на 54,2 %, а средняя площадь их сечения повышается на 18 % ( $p < 0,05$ ).

Длительная интоксикация Т-2 токсином в дозе 2 ПДК приводит к снижению количества митохондрий и средней площади их сечения относительно группы биологического контроля на 19,2 и 38,6 % соответственно ( $p < 0,05$ ). Сходная ситуация наблюдается по состоянию

пероксисом – снижение их количества и средней площади сечения на 44,1 и 28,5 % соответственно ( $p < 0,05$ ).

По результатам морфометрических измерений группы с комплексной интоксикацией (диоксин 1/400 от ЛД<sub>50</sub> + Т-2 токсин 2 ПДК) количество митохондрий и средней площади их сечения относительно группы биологического контроля снижается на 73,4 и 42,9 % соответственно ( $p < 0,05$ ). Количество пероксисом при этом существенно увеличивается – на 69,5 %, а средняя площадь их сечения снижается на 28,5 % ( $p < 0,05$ ).

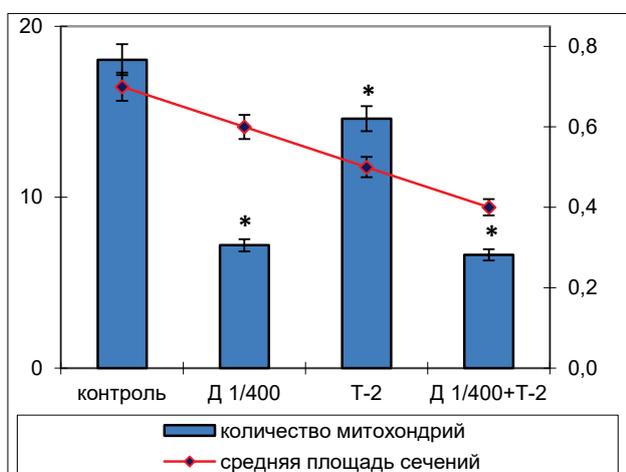


Рис. 3.3.3.1. Морфометрические показатели митохондрий гепатоцитов поросят. Левая ось ординат – количество митохондрий на 100 мкм<sup>2</sup> снимка, правая ось ординат – средняя площадь сечения митохондрий (в мкм<sup>2</sup>), ось абсцисс – группы животных, \* –  $P < 0,05$  по сравнению с контрольным значением

Условные обозначения: Д 1/400 – диоксин 1/400 от ЛД<sub>50</sub>, Т-2 – Т-2 токсин 2 ПДК, Д 1/1000 + Т-2 – диоксин 1/400 от ЛД<sub>50</sub> + Т-2 токсин 2 ПДК

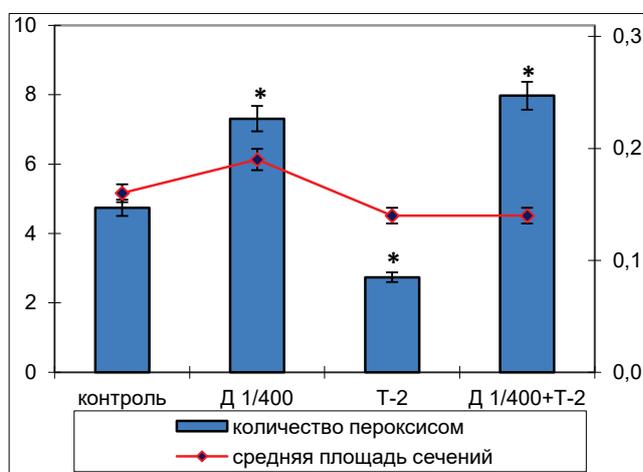


Рис. 3.3.3.2. Морфометрические показатели пероксисом гепатоцитов поросят. Левая ось ординат – количество пероксисом на 100 мкм<sup>2</sup> снимка, правая ось ординат – средняя площадь сечения пероксисом (в мкм<sup>2</sup>), ось абсцисс – группы животных, \* –  $P < 0,05$  по сравнению с контрольным значением

### 3.3.4. Ультратонкие исследования клеток коркового слоя почек

*Клетки коркового слоя почек свиней контрольной группы. Эпителиоциты проксимальных канальцев почек. Ядро клеток проксимальных*

канальцев округлой формы с хроматином средней плотности. Конденсированный хроматин локализуется по периферии ядра. В ядерной оболочке просматриваются ядерные поры. На апикальной части эпителиоцитов имеется большое количество микроворсинок (рис. 3.3.4.1а). С наружной стороны микровилли располагается электронно-плотный материал – гликокаликс. Микроворсинки значительно увеличивают поверхность клеточных мембран, усиливая тем самым процесс реабсорбции, который происходит в эпителиоцитах проксимального канальца. Цитоплазма эпителиоцита насыщена лизосомами и пиноцитозными пузырьками, возможно, в них содержатся аминокислоты, белки, полисахариды, гидролазы, дегидрогеназы, так как в проксимальном отделе происходит реабсорбция аминокислот, витаминов, глюкозы и большей части воды.

Плазматическая мембрана базальной части проксимального канальца образует складки в глубокие слои цитоплазмы, которые (рис. 3.3.4.1б) могут достигать до ядерной зоны. Между складками обнаруживается много митохондрий округлой либо удлинённой формы с большим количеством пластинчатых крист, что говорит об активной генерации АТФ, необходимой для транспорта веществ.

*Фильтрационный барьер почечных клубочков.* На ультратонком срезе клубочка просматривается скопление капилляров, окруженных клетками подоцитов (рис. 3.3.4.2 а, б). Каждый подоцит состоит из трех частей: «тело» клетки, первичные и вторичные отростки. В основной части подоцита видно ядро округлой или неправильной формы с хроматином средней плотности. Конденсированный хроматин равномерно располагается по всему объему ядра. Ядро окружено ядерной оболочкой с ядерными порами. Гиалоплазма подоцита мелкозернистая с низкой электронной плотностью. В цитоплазме в малых количествах встречаются митохондрии округлой формы с небольшим количеством крист, отдельные каналы шероховатого эндоплазматического ретикулума, диктиосомы аппарата Гольджи. От ядродержащей части отходят первичные отростки – трабекулы. Далее перпендикулярно им отходят вторичные отростки – цитоподии. Они тесно прилегают друг к другу.

Ножки соседних цитоподий образуют на поверхности базальной мембраны капилляра щелевую диафрагму, через которую идет процесс фильтрации плазмы крови и образование первичной мочи. Подоциты выполняют функцию регуляции растяжимости клубочкового капилляра, препятствуя его излишнему расширению под действием транскапиллярного давления. А также ограничивают прохождение отрицательно заряженных белков, осуществляемое анионным зарядом подоцита и щелевой диафрагмы.

Через фильтрационный барьер почечного клубочка осуществляется процесс ультрафильтрации. Он состоит из фенестрованных капилляров, базальной пластинки эндотелия и щелевых диафрагм, образующихся между ножками подоцитов. Цитоплазма эндотелия средней электронной плотностью с мелковезикулярным содержимым. На ультратонких срезах просматривается трехслойная базальная мембрана. Ее наружные слои мелкозернистые электронно-светлые, а средние имеют электронно-плотное содержимое. Средняя толщина базальной пластинки фильтрационный барьера почечных клубочков свиней составила 160–180 нм. Отмечаются четко выраженные фильтрационные щели между цитоподиями, которые плотно прилегают к базальной пластинке.

***Клетки коркового слоя почек свиней после воздействия диоксина в дозе 1/400 ЛД<sub>50</sub>.*** В первую очередь пострадали эпителиоциты проксимальных канальцев, особенно в группе животных, получавших диоксин в дозе 1/400 ЛД<sub>50</sub>. Происходит нарушение структуры митохондрий (рис. 3.3.4.3), отмечается резкое просветление центральной части. По периферии располагаются обрывочные кристы. Много пероксисом, лабиринт базальной мембраны просматривается отдельными фрагментами. Ядра эпителиоцитов округлой или неправильной формы. Конденсированный хроматин занимает как пристеночное положение, так и хаотично расположен по центральной части ядра. Наблюдаются ядрышки, одно или два, на периферии ядра. Центральная часть ядрышка выделяется мелко-глобулярной структурой. Перинуклеарное пространство представляет собой равномерную тонкую

полоску между ядерными мембранами. Много ядерных пор. В *подоцитах* отмечается потеря малых цитоподий.

**Клетки коркового слоя почек свиней после воздействия диоксида в дозе 1/800 ЛД<sub>50</sub>.** В *подоцитах* отмечается потеря малых подоцитов, меньшее количество фильтрационных щелей на единицу длины фильтрационного барьера. В клетках проксимальных канальцев митохондрии (рис. 3.3.4.4) с хлопьевидным матриксом округлой формы с отдельными кристами (стоит отметить, что и в контрольной группе животных встречаются митохондрии с признаками нарушенной структуры).

**Клетки коркового слоя почек свиней после воздействия T-2 токсина в дозе 2 ПДК.** Очень интересные и яркие проявления ответной реакции отмечаются в клетках проксимальных и дистальных канальцах коркового слоя поросят. Соседние клетки в тканях зачастую имеют индивидуальные ультраструктурные особенности. Отмечается резкий полиморфизм митохондрий в пределах одной клетки: рядом с набухшими митохондриями можно наблюдать митохондрии с плотным матриксом и множеством крист (рис. 3.3.4.5).

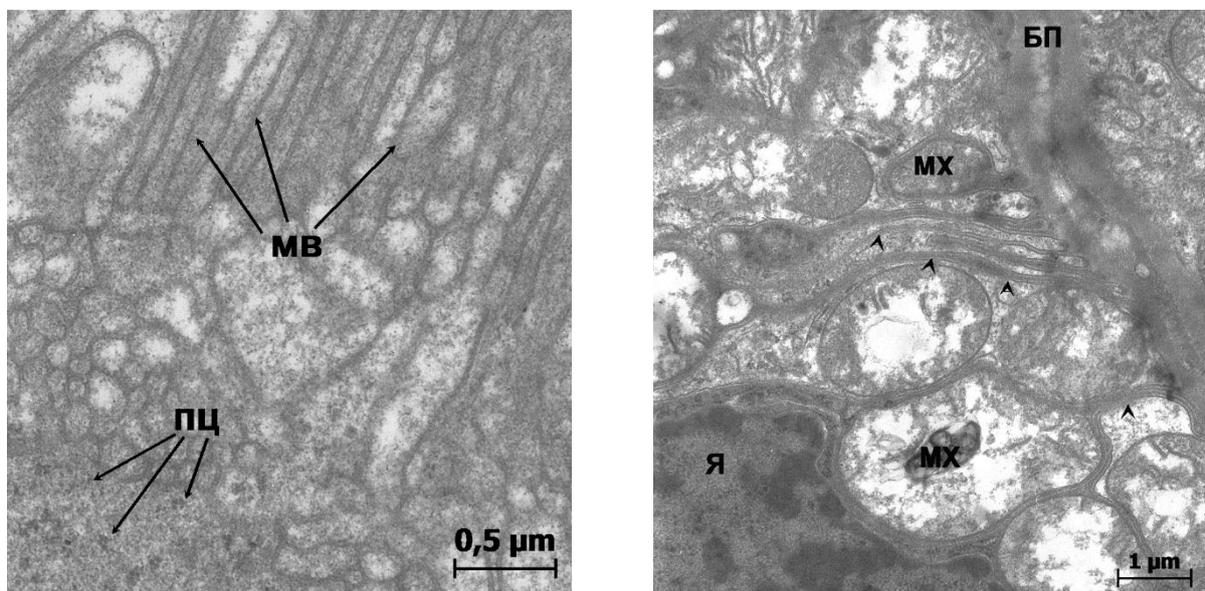


Рис. 3.3.4.1 а, б. Участки эпителиоцитов проксимального канальца свиньи контрольной группы

*Условные обозначения:* МВ – микроворсинки, ПЦ – пиноцитозные пузырьки, Я – ядро, МХ – митохондрии, БП – базальная пластинка, короткими стрелками обозначена складчатость базальной мембраны

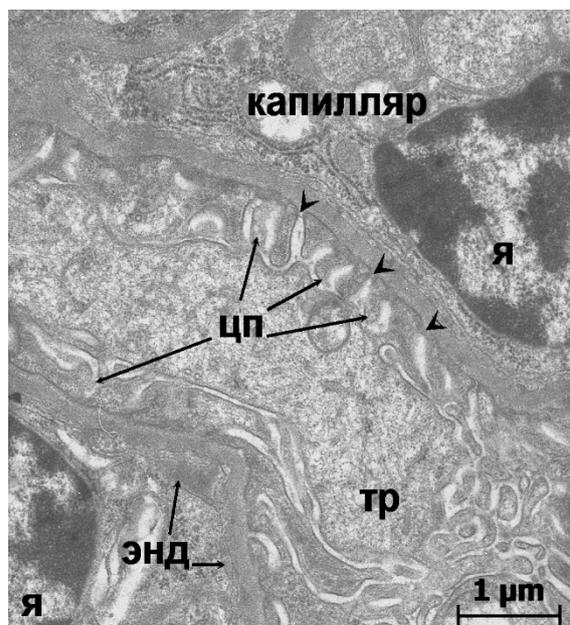
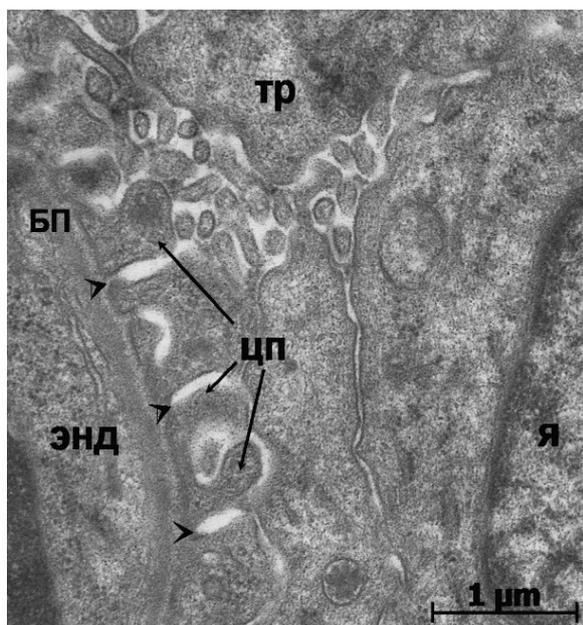


Рис. 3.3.4.2 а, б. Участки подоцитов свиной контрольной группы  
*Условные обозначения:* ЦП – цитоподии подоцита, ЭНД – эндотелий, ТР – трабекула, Я – ядро, стрелками обозначены щелевые диафрагмы

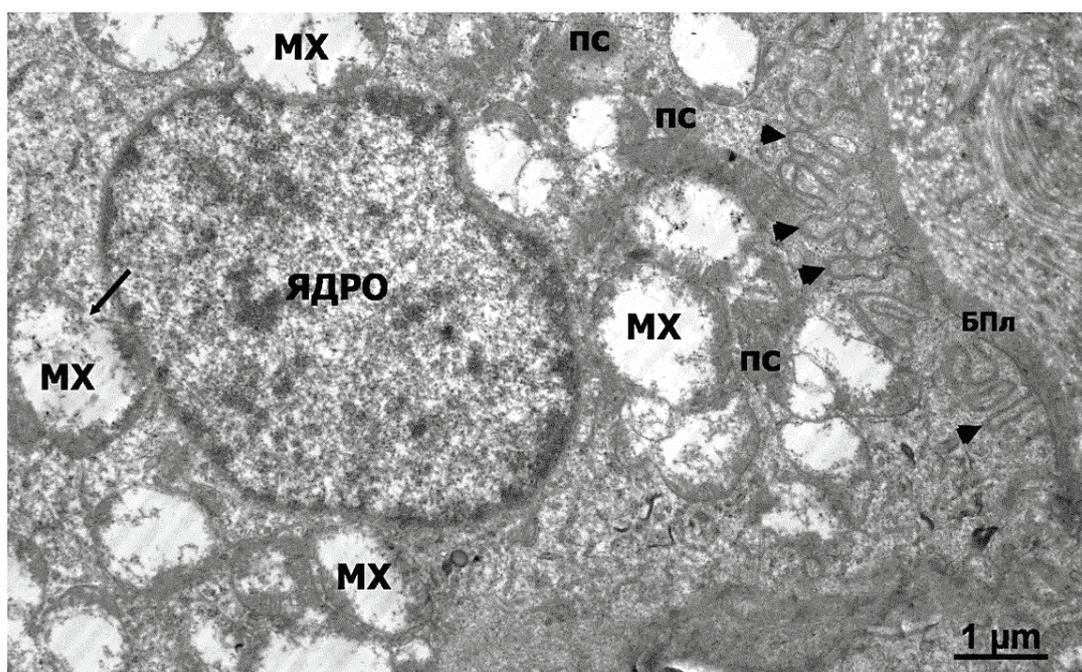


Рис. 3.3.4.3. Эпителиоцит проксимального канальца свиной, получавшей диоксин в дозе 1/400 ЛД<sub>50</sub>  
*Условные обозначения:* МХ – митохондрии, БПл – базальная пластинка, ПС – пероксисомы; короткими стрелками показаны складки клеточной мембраны базальной части клеток, длинной стрелкой показан разрыв мембраны митохондрии

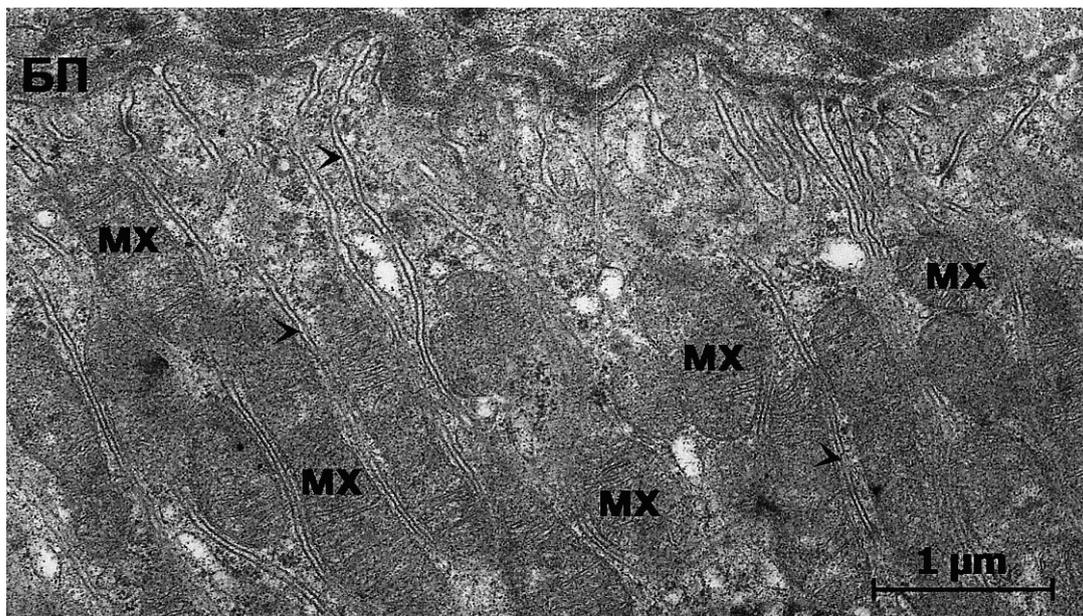


Рис. 3.3.4.4. Участок эпителиоцита опытной свиньи, получавшей диоксин в дозе 1/800 ЛД<sub>50</sub>

Условные обозначения: МХ – митохондрии, БП – базальная пластинка, стрелками обозначены складчатости базальной пластинки

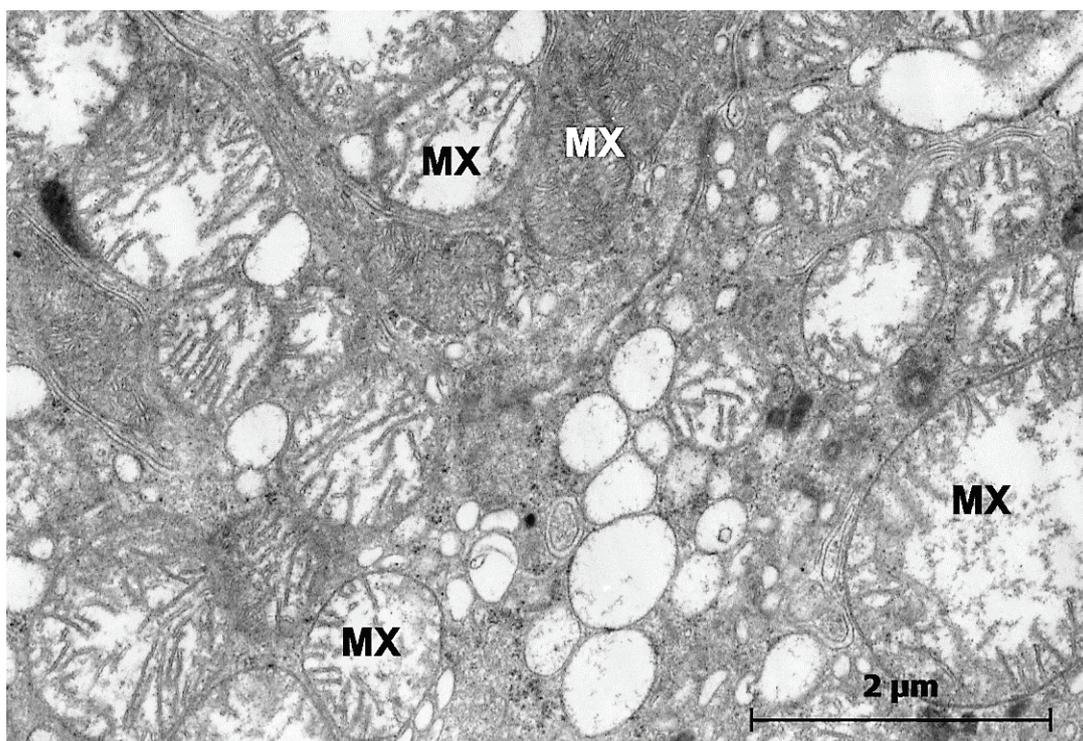


Рис. 3.3.4.5. Часть эпителиоцита проксимального канальца почки свиньи опытной группы после воздействия Т-2 токсина в дозе 2 ПДК

Условные обозначения: МХ (черными цветом) – митохондрии, набухшие с просветленным матриксом, МХ (белым цветом) – митохондрии с плотным матриксом и набухшими трубчатыми кристами

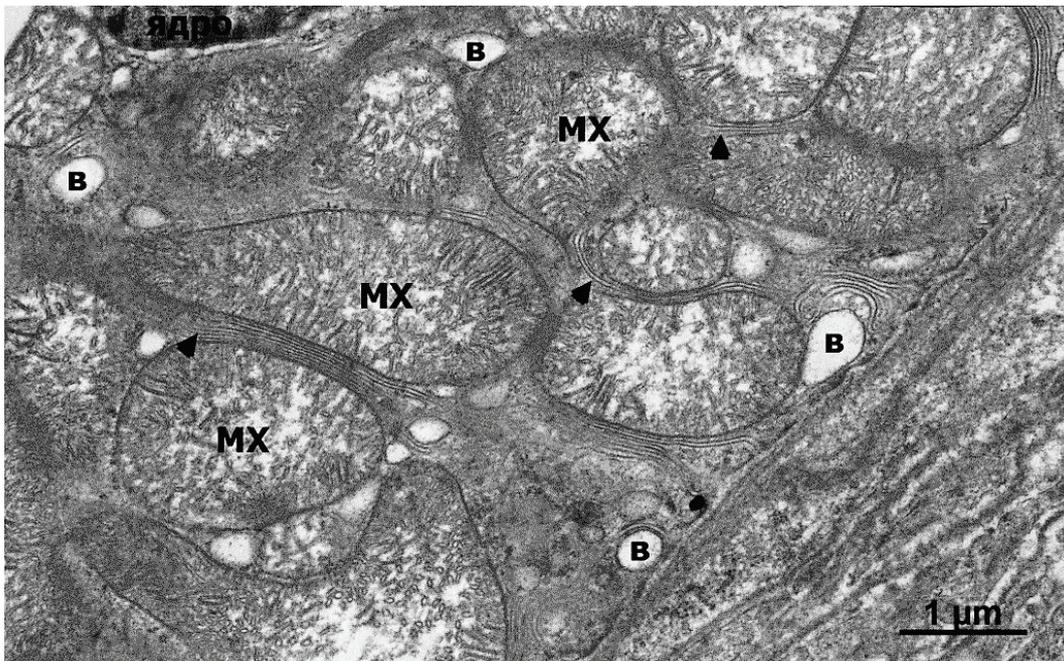


Рис. 3.3.4.6. Фрагмент дистального канальца почки свиньи опытной группы после воздействия Т-2 токсина в дозе 2 ПДК  
 Условные обозначения: МХ – митохондрии, В – вакуоли, стрелками указаны складки клеточной мембраны базальной части

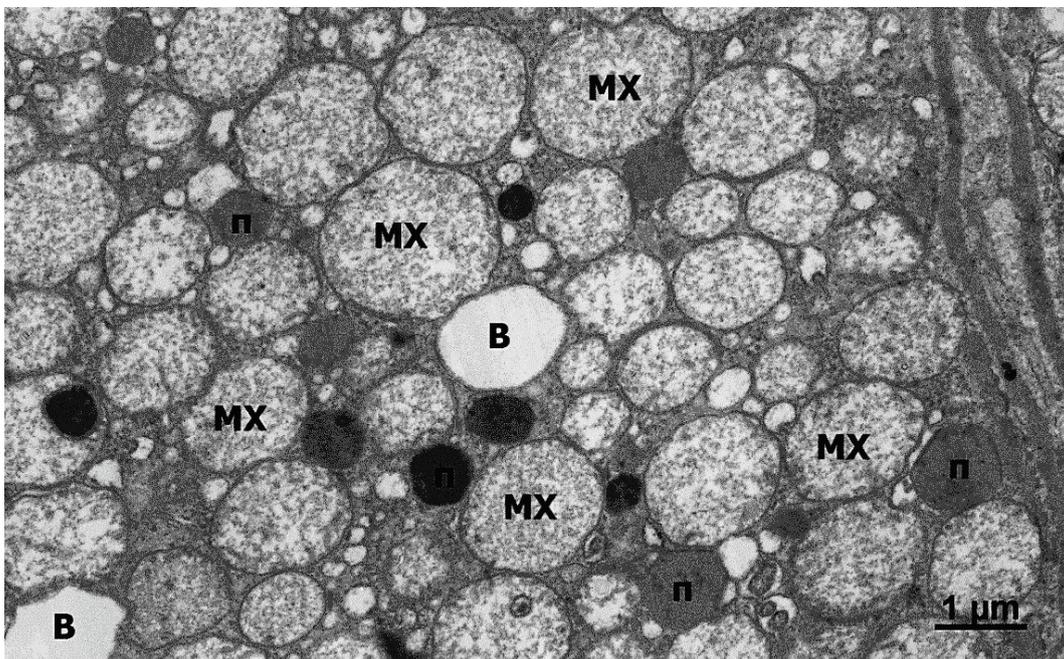


Рис. 3.3.4.7. Часть эпителиоцита проксимального канальца почки свиньи опытной группы после воздействия Т-2 токсина в дозе 2 ПДК  
 Условные обозначения: МХ – митохондрии, П – пероксисомы, В – вакуоли

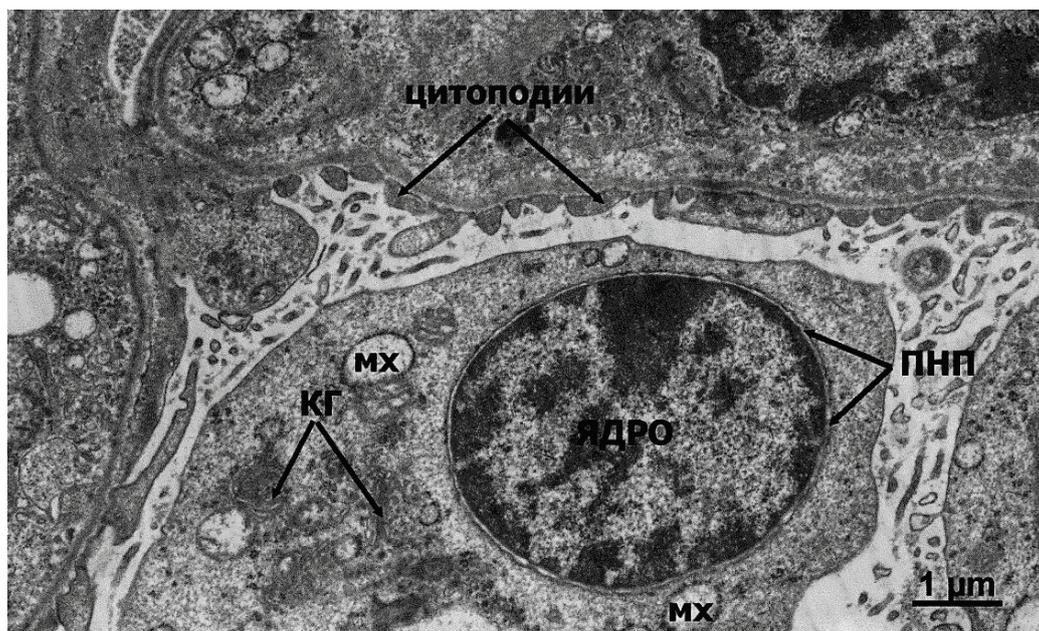


Рис. 3.3.4.8. Часть подоцита почечного клубочка почки свиньи опытной группы после воздействия Т-2 токсина в дозе 2 ПДК  
*Условные обозначения:* МХ – митохондрии, ПНП – перинуклеарное пространство, КГ – комплекс Гольджи

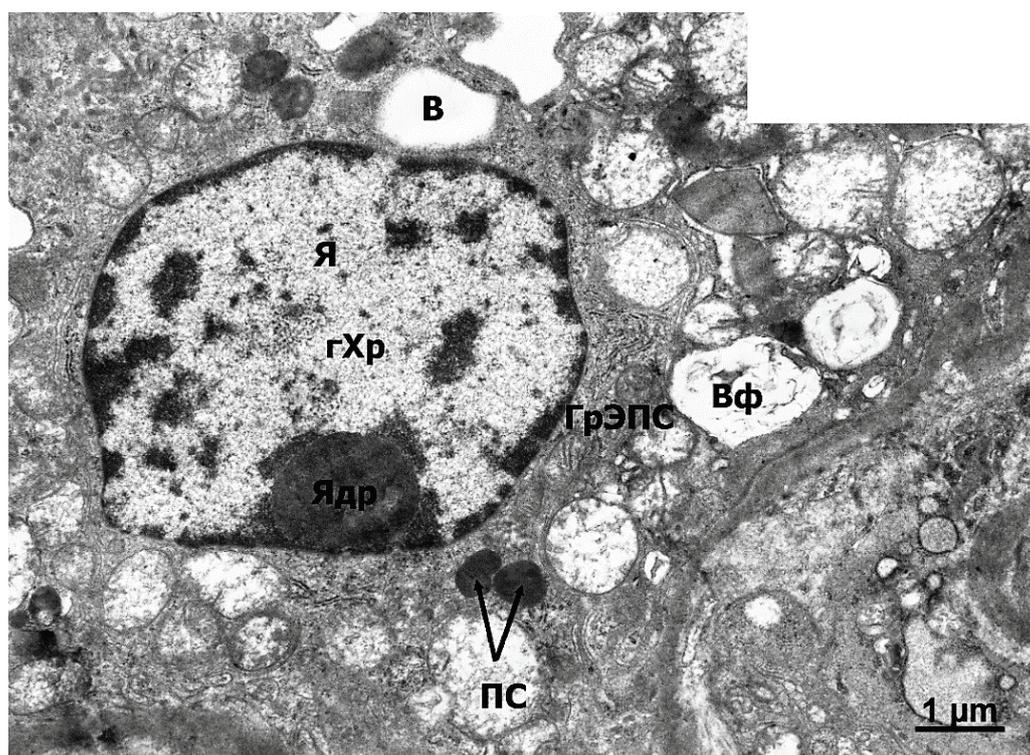


Рис. 3.3.4.9. Часть эпителиоцита проксимального канальца свиньи опытной группы после сочетанного воздействия диоксина и Т-2 токсина в дозах 1/400 ЛД<sub>50</sub> и 2 ПДК  
*Условные обозначения:* В – одномембранные вакуоли, Вф – вакуоли с фибриллярным содержимым, Я – ядро, Ядр – ядрышко, гХр гранулярный хроматин, ПС – пероксисомы, ГрЭПС – гранулярная эндоплазматическая сеть

Уникальную структуру имеют митохондрии после воздействия Т-2 токсина некоторых клеток проксимальных и дистальных канальцев. Набухшие кристы (ламеллярной, трубчатой формы) и матрикс средней или высокой плотности (рис. 3.3.4.6) говорят об активности процессов окислительно-восстановительного фосфорилирования. Наличие таких митохондрий можно отнести к адаптационно-компенсаторным механизмам. Располагаются они между складками клеточной мембраны базальной части клетки и в околядерной зоне. В плотной цитоплазме встречаются мелкие вакуоли различного происхождения, что говорит о протекании различных патологических процессов в клетке. Ядра имеют извилистый контур, увеличенное перинуклеарное пространство, конденсация хроматина в пределах нормы.

В других эпителиоцитах митохондрии (рис. 3.3.4.7) практически не имеют крист, матрикс средней плотности, хлопьевидный.

Среди таких митохондрий встречаются пероксисомы, цитоплазма сильно вакуолизирована. Кроме этого, отмечаются клетки с митохондриями, у которых просматривается большое количество крист на фоне просветленного матрикса.

В *подоцитах* (рис. 3.3.4.8) отмечаются как изменения формы малых цитоподий, так и их слияние. Цитоплазма плотная с фрагментами грЭПР, диктиосомами комплекса Гольджи и пузырьками. Ядра округлые, перинуклеарное пространство в норме. Митохондрии с плотным или светлым матриксом и множеством крист. Клетки с выраженными патологическими процессами не обнаружены. Выявляется набухание пространства почечного клубочка.

***Клетки коркового слоя почек свиней после сочетанного воздействия диоксина и Т-2 токсина в дозах 1/400 ЛД<sub>50</sub> и 2 ПДК.*** В *эпителиоцитах* отмечается большое количество крупных и мелких вакуолей, некоторые вакуоли имеют электронно-прозрачное содержимое, окруженное одинарной мембраной. Наблюдается полиморфизм митохондрий: округлые с просветленным матриксом и отдельными кристами; с плотным матриксом и хорошо развитыми пластинчатыми кристами; митохондрии с полной потерей крист, превращающиеся в вакуоли, ограниченные двойной мембраной. Встречаются одномембранные вакуоли с

фибрилярно-глобулярными элементами на фоне электронно-прозрачного содержимого (рис. 3.3.4.9). В цитоплазме много пероксисом, отдельных цистерн гранулярного ЭПС, пиноцитозных пузырьков. Микроворсинки в норме (рис. 3.3.4.10). В ядрах отмечаются участки с мелкогранулярным хроматином. Небольшое количество конденсированного хроматина хаотично распределено по площади ядра, некоторая часть занимает пристеночное положение. Наблюдаются ядрышки, центральная часть которых заполнена гомогенным мелко-глобулярным содержимым и четко выделяется на фоне ядерного хроматина. Незначительное увеличение перинуклеарного пространства в клетках проксимальных канальцев.

В лимфоцитах капиллярной сети проксимальных канальцев почек увеличивается перинуклеарное пространство. Клетки дистальных канальцев имеют много удлиненных митохондрий с плотным матриксом и небольшим количеством крист.

В *подоцитах* отмечается изменение формы малых цитоподий, дезинтеграция щелевых диафрагм.

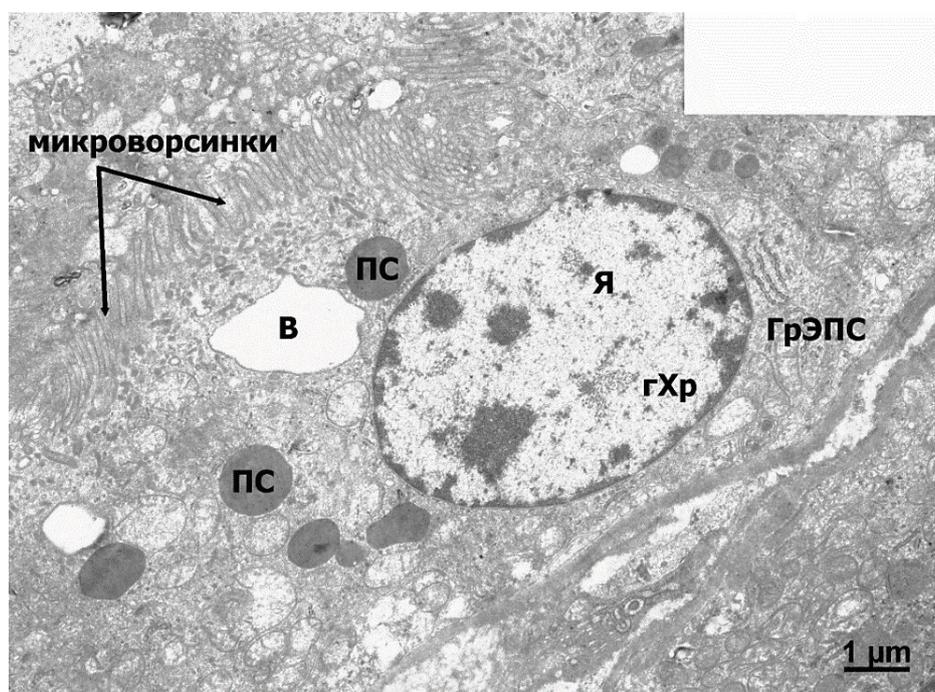


Рис. 3.3.4.10. Часть эпителиоцита проксимального канальца свиньи опытной группы после сочетанного воздействия диоксина и Т-2 токсина в дозах  $1/400$  ЛД<sub>50</sub> и 2 ПДК

Условные обозначения: ПС – пероксисомы, Я – ядро, гХр – гранулярный хроматин, В – одномембранные вакуоли, ГрЭПС – гранулярная эндоплазматическая сеть

### **3.4. Ультраструктурные исследования паренхимы печени и почек овец после хронического воздействия токсикантов**

#### **3.4.1. Ультратонкие исследования гепатоцитов**

*Группа биологического контроля.* Ядра имеют округлую форму с диффузным расположением хроматина средней электронной плотности, в ядерной оболочке присутствуют ядерные поры. Небольшое количество конденсированного хроматина располагается по периферии ядра (рис. 3.4.1.1). На некоторых снимках отчетливо просматриваются ядрышки. Перинуклеарное пространство одинаковой ширины по всему периметру ядра. Митохондрии в основном округлой и продолговатой формы средних размеров. Небольшое количество ламеллярных крист находится в плотном матриксе и равномерно заполняет весь объем митохондрий. В клетках наличествует ЭПР с четко видимыми рибосомами. Гладкий эндоплазматический ретикулум хорошо визуализируется. В цитоплазме встречаются микротельца и аппарат Гольджи с мелкими цистернами. Цитоплазма заполнена небольшим количеством мелких вакуолей с содержимым средней электронной плотности. По всей цитоплазме распределено большое количество гликогена.

*Гепатоциты овец после воздействия диоксина в дозе 1/200 LD<sub>50</sub>.* В гепатоцитах после затравки встречаются ядра неправильной формы, у некоторых из них маргинальное расположение хроматина. Отмечается увеличение перинуклеарного пространства, глубокие инвагинации наружной ядерной оболочки в сторону цитоплазмы.

Внутри некоторых ядер обнаруживаются крупные мембранно-ограниченные вакуоли (рис. 3.4.1.2) с везикулярным содержимым. Имеются ядра в состоянии пикноза. Цитоплазма гепатоцитов сильно вакуолизирована (рис. 3.4.1.3). При этом могут встречаться митохондрии с небольшим количеством пластинчатых крист в просветленном матриксе или вакуолизированные кристы в электронно-светлом матриксе, отдельные из них имеют признаки глубокой деструкции. В

митохондриях имеются мультиламеллярные или мультивезикулярные образования. Отмечаются набухшие каналы шероховатого и гладкого ЭПР. Изменения в гепатоцитах говорят о деструктивных процессах при токсическом воздействии диоксина в дозе 1/200 ЛД<sub>50</sub> на печень овец, свидетельствующих о нарушениях функциональной активности.

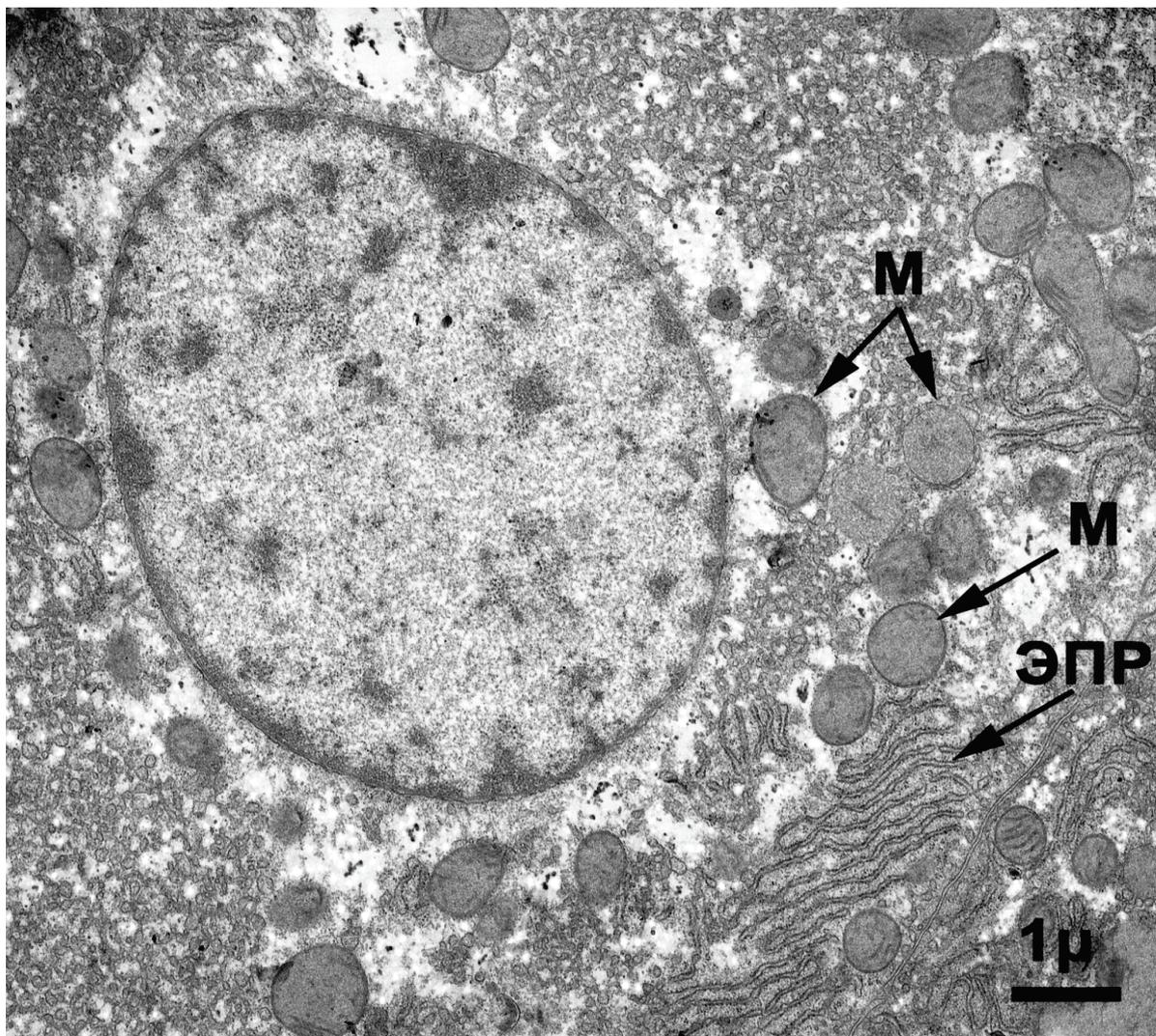


Рис. 3.4.1.1. Часть гепатоцита овцы группы биологического контроля

*Условные обозначения:* М – митохондрия;  
ЭПР – эндоплазматический ретикулум

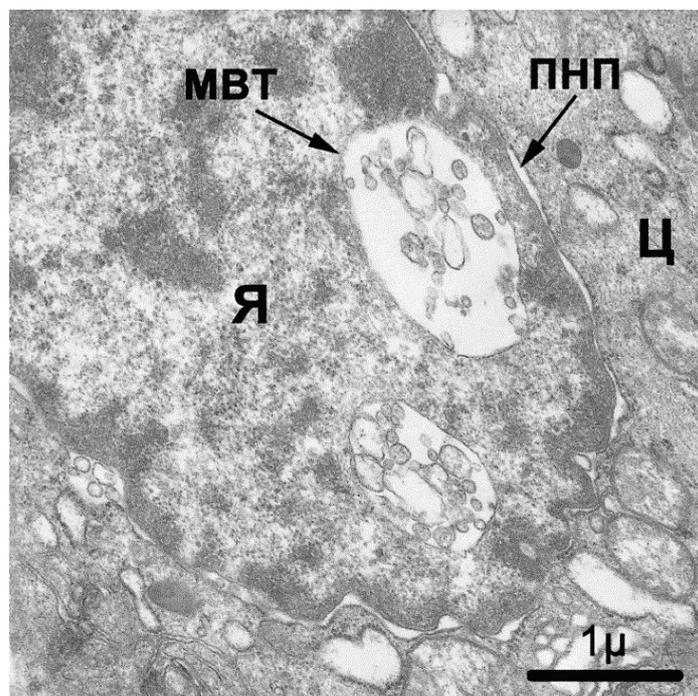


Рис. 3.4.1.2. Ультраструктура участка гепатоцита овцы после затравки в дозе 1/200 ЛД<sub>50</sub> диоксином

*Условные обозначения:* Я – ядро; Ц – цитоплазма; МВТ – мультивезикулярное тело; ПНП – перинуклеарное пространство

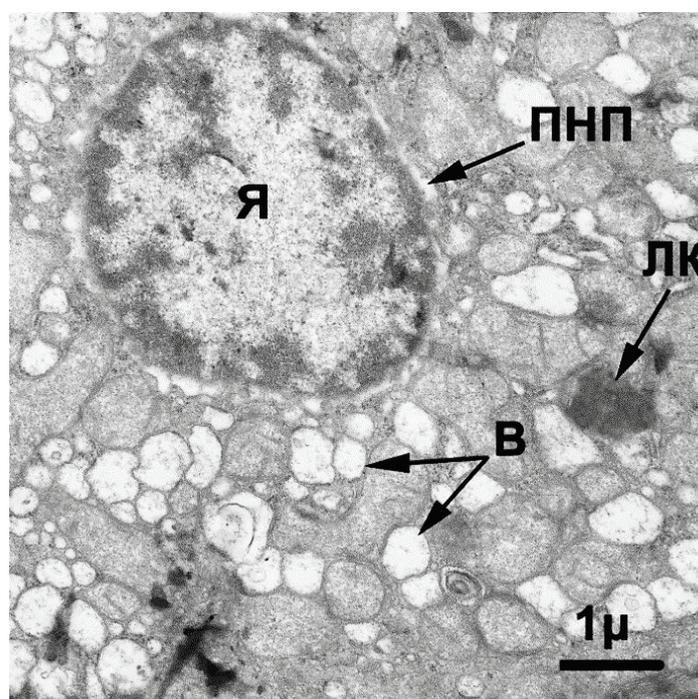


Рис. 3.4.1.3. Ультраструктура участка гепатоцита овцы после затравки в дозе 1/200 ЛД<sub>50</sub> диоксином

*Условные обозначения:* Я – ядро; В – вакуоли; ПНП – перинуклеарное пространство; ЛК – липидные капли

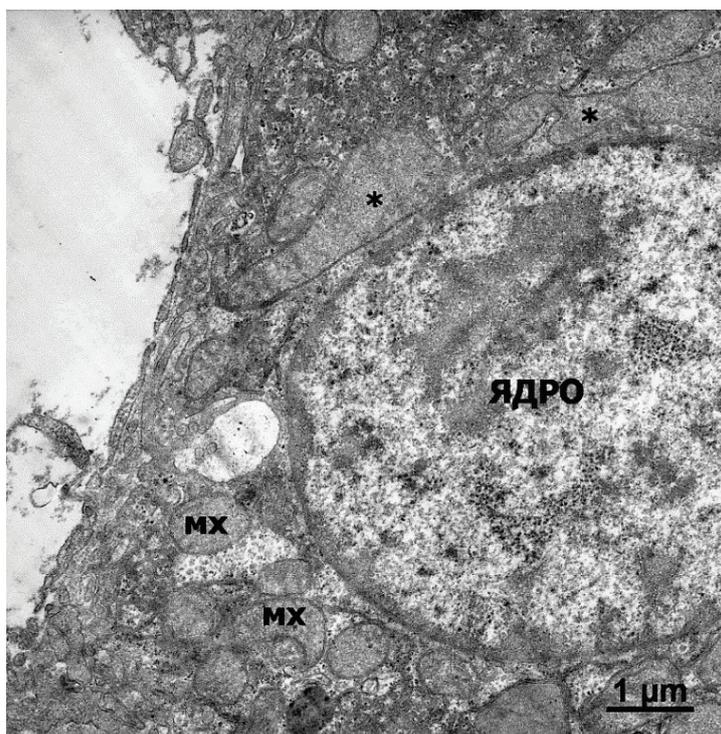


Рис. 3.4.1.4. Околоядерный участок гепатоцита овцы после затравки в дозе 1/400 ЛД<sub>50</sub> диоксином  
 Условные обозначения: МХ – митохондрии; звездочками показаны гигантские митохондрии

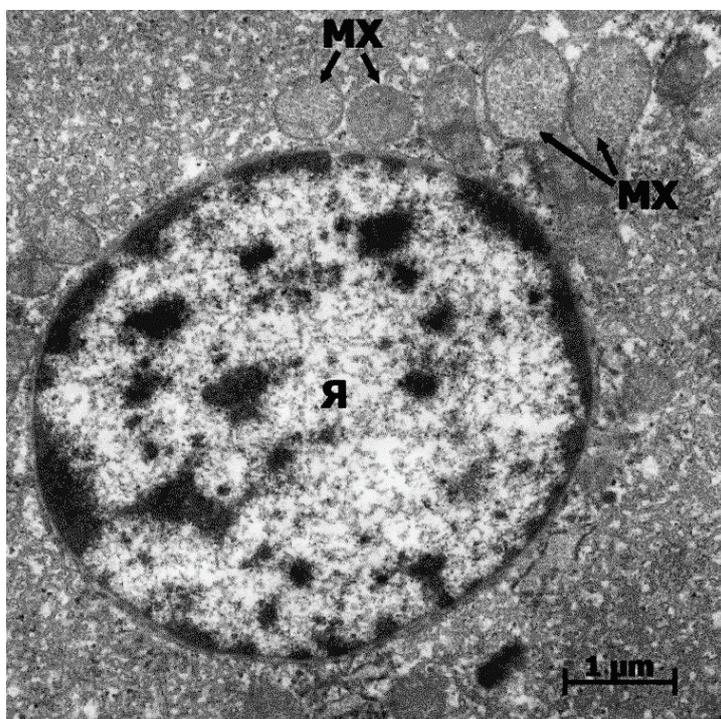


Рис. 3.4.1.5. Околоядерный участок гепатоцита овцы после затравки в дозе 1/800 ЛД<sub>50</sub> диоксином  
 Условные обозначения: Я – ядро; МХ – митохондрии

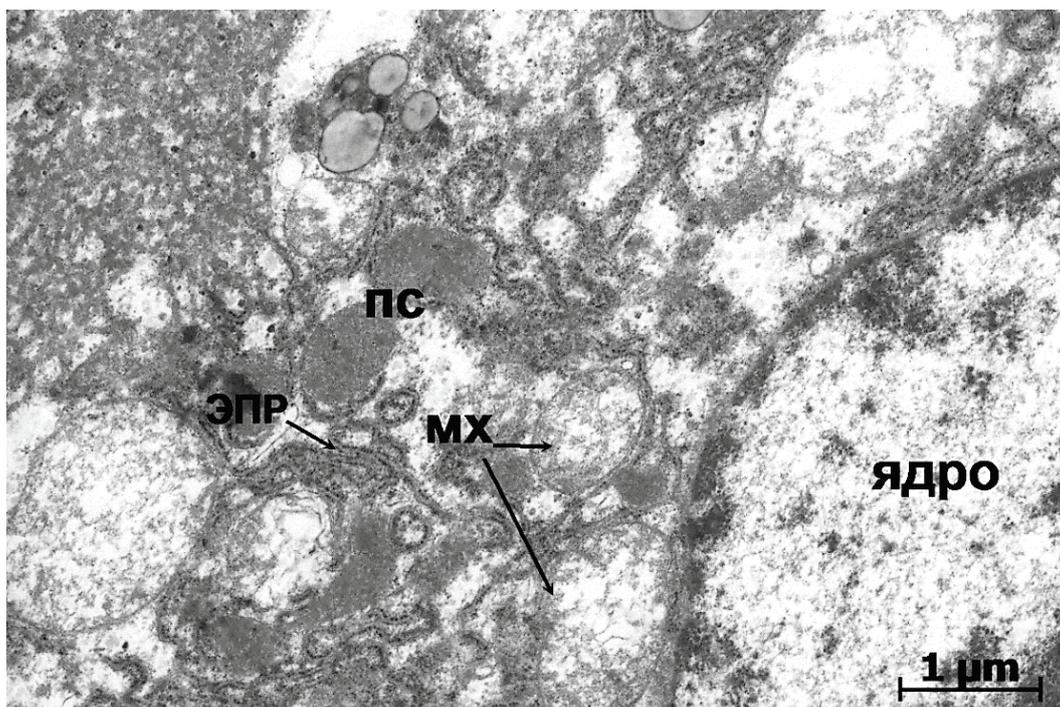


Рис. 3.4.1.6. Участок гепатоцита овцы после затравки  
в дозе 1/1000 ЛД<sub>50</sub> диоксином

Условные обозначения: МХ – митохондрии, ПС – пероксисома,  
ЭПР – эндоплазматический ретикулум

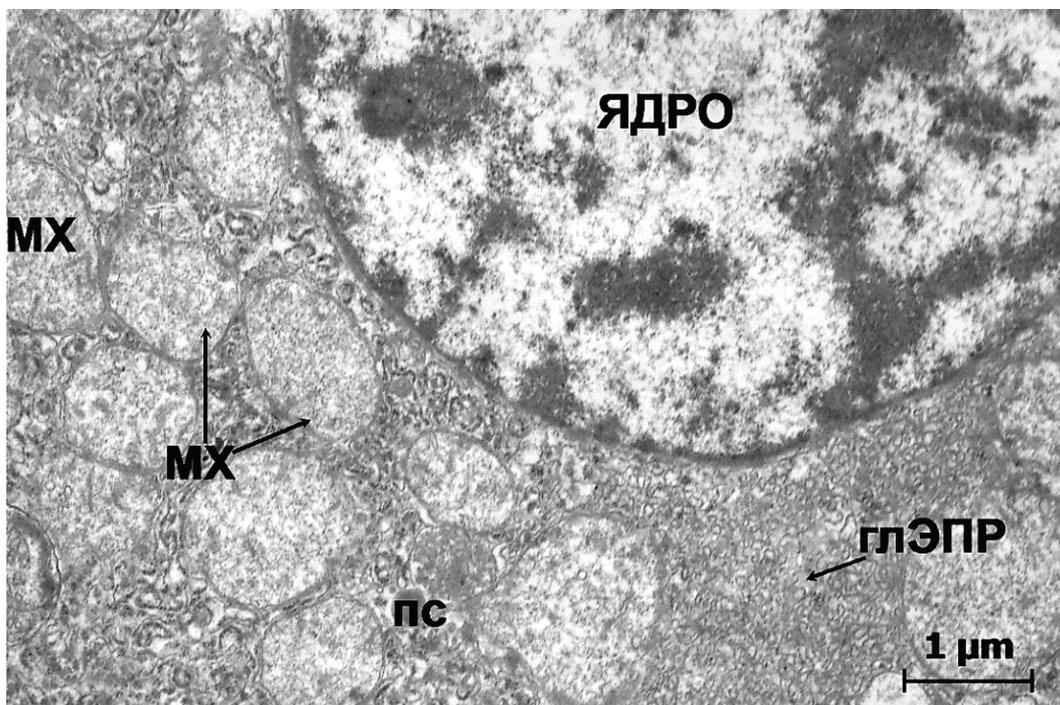


Рис. 3.4.1.7. Участок гепатоцита овцы после затравки диоксином  
в дозе 1/1000 ЛД<sub>50</sub> и Т-2 токсином 2 ПДК

Условные обозначения: МХ – митохондрии, ПС – пероксисома,  
глЭПР – гладкий эндоплазматический ретикулум

***Гепатоциты овец после воздействия диоксина в дозе 1/400 ЛД<sub>50</sub>***. В отличие от контрольной группы животных, в гепатоцитах у овец этой группы (рис. 3.4.1.4) отмечаются неравномерно конденсированный хроматин, большое количество глобулярного хроматина (интерхроматиновые гранулы) на фоне просветленной кариоплазмы.

Цитоплазма частично просветленная и вакуолизированная, отмечается набухание каналов шероховатого и гладкого ЭПР, что, возможно, связано с процессами активного синтеза энзимов, участвующих в процессах детоксикации.

Митохондрии вариабельны, встречаются извитые, «гигантские» формы с плотным матриксом и кристами различных размеров, что говорит об их высокой активности. При этом отдельные митохондрии имеют небольшое количество пластинчатых и вакуолизированных крист. В их электронно-светлом матриксе наблюдаются признаки глубокой деструкции с мультиламеллярными или мультивезикулярными образованиями, распределенными в центре.

***Гепатоциты овец после воздействия диоксина в дозе 1/800 ЛД<sub>50</sub>***. У экспериментальных животных третьей группы в клетках паренхимы печени (рис. 3.4.1.5) ядра правильной формы, конденсированный хроматин расположен хаотично. Кариоплазма просветленная, между мембранами ядерной оболочки ровной линией просматривается перинуклеарное пространство. Гиалоплазма средней электронной плотности. Цитоплазма вакуолизирована. Отмечаются лизосомы с плотным содержимым. Митохондрии округлые или овальные, с плотным, немного хлопьевидным матриксом и небольшим количеством крист. Митохондрии с электронно-прозрачным содержимым встречаются редко. Имеют место «гигантские» формы.

***Гепатоциты овец после воздействия диоксина в дозе 1/1000 ЛД<sub>50</sub>***. В гепатоцитах после затравки ядра имеют округлую форму. Конденсированный хроматин распределен около ядерной мембраны небольшими скоплениями. Ядрышко хорошо просматривается. У некоторых ядер имеются небольшие участки инвагинации кариолеммы. Перинуклеарное пространство равномерное, не имеет участков расширения. Вблизи ядерной оболочки хорошо видны отдельные рибосомы.

В цитоплазме отмечается хорошо развитый гладкий эндоплазматический ретикулум. Цитоплазма заполнена небольшим количеством розеток гликогена. Сильно развита гранулярная эндоплазматическая сеть.

В большинстве митохондрий гепатоцитов кристы либо отсутствуют, либо имеются в очень небольшом количестве. Митохондрии в основном округлой формы (рис. 3.4.1.6). Хлопьевидный матрикс средней электронной плотности. Несмотря на малые дозы диоксина, большинство митохондрий находится в набухшем состоянии.

В цитоплазме гепатоцитов имеется очень большое количество скоплений остаточных мембран и мультиламеллярных тел. Цитоплазма некоторых гепатоцитов просветленная. Встречаются мелкие вакуоли с электронно-прозрачным содержимым.

*Гепатоциты овец после сочетанного воздействия диоксина и T-2 токсина в дозах 1/1000 ЛД<sub>50</sub> и 2 ПДК.* Ядра округлой формы, гетерохроматин локализуется по периферии, эухроматин в центре. Кариоплазма средней электронной плотности. Имеются ядрышки. У некоторых ядер наличествуют участки инвагинации кариолеммы. Перинуклеарное пространство не увеличено, в нем наблюдаются ядерные поры. В цитоплазме отмечается гладкий эндоплазматический ретикулум и небольшое количество розеток гликогена. Сильно развита гранулярная эндоплазматическая сеть. Вместе с тем состояние большинства митохондрий можно характеризовать как неблагоприятное. Несмотря на наличие двойной мембраны, многие из них имеют просветленный матрикс и практически полное отсутствие крист (рис. 3.4.1.7). Кроме того, в цитоплазме имеют место скопления остаточных мембран и мультиламеллярных тел. Также встречаются мелкие вакуоли с электронно-прозрачным содержимым.

### **3.4.2. Морфометрический анализ перинуклеарного пространства ядер гепатоцитов овец**

Морфометрические расчеты изображений группы биологического контроля овец демонстрируют перинуклеарное пространство ПНП

относительно равномерной ширины по всему периметру ядра с наибольшими показателями 40 нм (рис. 3.4.2.1).

После длительной хронической интоксикации диоксином в дозе 1/200 от ЛД<sub>50</sub> в ядерном аппарате гепатоцитов овец перинуклеарное пространство увеличивается в 3,5 раза относительно группы биологического контроля, на 250 % (до 140 нм).

Дозы диоксина 1/400, 1/800 и 1/1000 от ЛД<sub>50</sub> также запускают процессы, приводящие к расширению ПНП ядер гепатоцитов на 175,0, 125,0 и 50 % (до 110, 90 и 60 нм) соответственно.

После длительной хронической комплексной интоксикации диоксином в дозе 1/1000 от ЛД<sub>50</sub> и Т-2 токсином в дозе 2 ПДК перинуклеарное пространство в ряде участков достигает 50 нм (увеличение на 25,0 %).

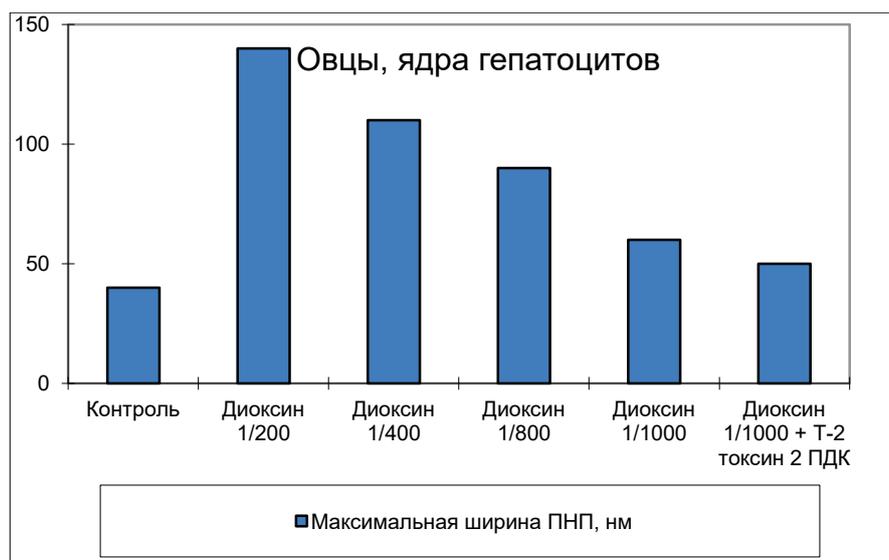


Рис. 3.4.2.1. Ширина перинуклеарного пространства ядер гепатоцитов овец контрольной и опытных групп

### 3.4.3. Морфометрический анализ митохондрий и пероксисом гепатоцитов овец

Анализ количественных и морфометрических расчетов графически представлен на рис. 3.4.3.1 и 3.4.3.2.

Согласно результатам морфометрических измерений митохондрий и пероксисом овец группы биологического контроля среднее количество

митохондрий на  $100 \text{ мкм}^2$  фрагмента гепатоцита составляет 21,41 при средней площади сечения отдельной митохондрии  $0,46 \text{ мкм}^2$ , пероксисом – 4,44 и  $0,25 \text{ мкм}^2$  соответственно.

У овец после длительной хронической интоксикации диоксином в дозе  $1/200$  от  $\text{ЛД}_{50}$  выявляется уменьшение среднего количества митохондрий на 38,2 %, средняя площадь сечения увеличивается на 26,1 %. Количество пероксисом также понижается на 32,2 % при уменьшении относительно контроля средней площади сечения на 8,0 % ( $p < 0,05$ ).

После воздействия более низкой дозы диоксина ( $1/400$  от  $\text{ЛД}_{50}$ ) наблюдаем уменьшение количества митохондрий на 26,4 %, при увеличении средней площади их сечения на 15,2 %. Количество пероксисом снижается на 24,1 % ( $p < 0,05$ ), средняя площадь их сечения, как и в контрольной группе,  $0,25 \text{ мкм}^2$ .

Последствия воздействия на гепатоциты овец диоксина в дозе  $1/800$  от  $\text{ЛД}_{50}$  проявляются снижением количества митохондрий на 21,0 %, средняя площадь сечения увеличивается на 4,3 %. Количество пероксисом понижается на 14,2 %, но при этом средняя площадь их сечения значительно увеличивается на 92,0 % ( $p < 0,05$ ).

После воздействия наиболее низкой из апробированных доз диоксина  $1/1000$  от  $\text{ЛД}_{50}$  количество митохондрий относительно их численности в группе биологического контроля снижается на 11,3 %, средняя площадь сечения не изменяется ( $0,46 \text{ мкм}^2$ ). По состоянию пероксисом наблюдается увеличение их количества на 4,7 % при повышении их средней площади сечения на 40,1 % ( $p < 0,05$ ).

Комплексное воздействие диоксина в дозе  $1/1000$  от  $\text{ЛД}_{50}$  + Т-2 токсина 2 ПДК на гепатоциты овец снижает количество митохондрий на 51,1 % и среднюю площадь их сечения на 10,9 %. На этом фоне количество пероксисом снижается на 24,5 % ( $p < 0,05$ ), средняя площадь сечения пероксисом ( $0,25 \text{ мкм}^2$ ) относительно контрольной группы повышается на 32,0 % ( $p > 0,05$ ).

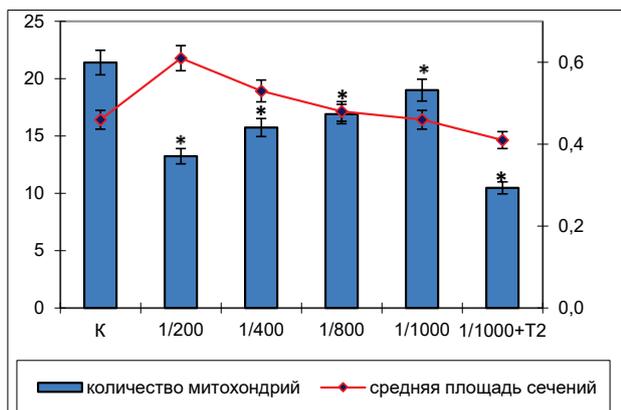


Рис. 3.4.3.1. Морфометрические показатели митохондрий гепатоцитов овец. Левая ось ординат – количество митохондрий на 100 мкм<sup>2</sup> снимка, правая ось ординат – средняя площадь сечения митохондрий (в мкм<sup>2</sup>), ось абсцисс – группы животных, \* –  $P < 0,05$  по сравнению с контрольным значением

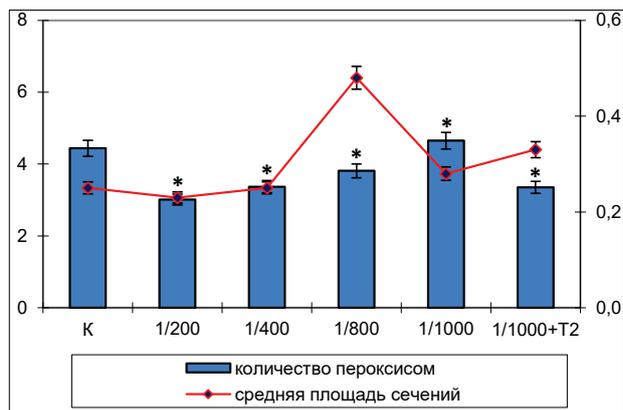


Рис. 3.4.3.2. Морфометрические показатели пероксисом гепатоцитов овец. Левая ось ординат – количество пероксисом на 100 мкм<sup>2</sup> снимка, правая ось ординат – средняя площадь сечения пероксисом (в мкм<sup>2</sup>), ось абсцисс – группы животных, \* –  $P < 0,05$  по сравнению с контрольным значением

Условные обозначения: 1/200 – диоксин 1/200 от ЛД<sub>50</sub>, 1/400 – диоксин 1/400 от ЛД<sub>50</sub>, 1/800 – диоксин 1/800 от ЛД<sub>50</sub>, 1/1000 – диоксин 1/1000 от ЛД<sub>50</sub>, 1/1000 + Т-2 – диоксин 1/1000 от ЛД<sub>50</sub> + Т-2 токсин 2 ПДК

### 3.4.4. Ультратонкие исследования клеток коркового слоя почек

**Клетки коркового слоя почек овец контрольной группы. Проксимальные каналцы.** Ядра клеток, образующих проксимальные каналцы, имеют округлую форму. Хроматин сконденсирован в центре и по периферии ядра. Митохондрии, расположенные вокруг ядра, имеют округлую форму. Кристы отчетливо видны. Содержимое митохондрий средней электронной плотности. Митохондрии распределены в складках плазмалеммы базальной части клетки, имеют вытянутую форму (рис. 3.4.4.1). Кристы также отчетливо просматриваются, матрикс средней электронной плотности. Складки плазмалеммы большой протяженности, доходят до самого ядра. Максимальное межмембранное расстояние в складках – 52 нм. Фильтрационные щели хорошо различимы

между ножками подоцитов (рис. 3.4.4.2). Митохондрии подоцитов с хорошо различимыми кристами, цитоплазма электронно-плотная.

**Клетки коркового слоя почек овец после воздействия диоксина в дозе 1/200 ЛД<sub>50</sub>. Проксимальные канальцы.** Ядра эпителиоцитов, образующих проксимальные канальцы, в основном округлой формы. Перинуклеарное пространство неравномерное. Имеются участки расширения. Конденсированный хроматин располагается по периферии ядерной оболочки. Митохондрии со следами деструкции. Некоторые из них лишены крист, их матрикс электронно-прозрачный. Складки базальной плазмалеммы не протяженные. Митохондрии подоцитов имеют электронно-плотный матрикс. Кристы плохо различимы, нечеткие.

В *подоцитах* (рис. 3.4.4.3) визуализируются просветление цитоплазмы и потеря малых вторичных цитоподий, соответственно, уменьшение количества фильтрационных пор.

**Клетки коркового слоя почек овец после воздействия диоксина в дозе 1/400 ЛД<sub>50</sub>.** Ядра эпителиоцитов проксимальных канальцев имеют неправильную форму. Конденсированный хроматин размещен по периферии ядерной оболочки. Перинуклеарное пространство местами увеличено. Митохондрии эпителиоцитов также имеют увеличенные размеры и округлую форму. Кристы четко выражены. Небольшая часть митохондрий без крист. Матрикс средней электронной плотности. Встречаются митохондрии с сильно просветленным матриксом. В некоторых клетках вблизи ядра расположен сильно развитый гладкий эндоплазматический ретикулум. В свою очередь, гранулярный эндоплазматический ретикулум плохо выражен. Складки базальной плазмалеммы эпителиоцитов имеют небольшую протяженность. Цитоплазма изобилует мелкими электронно-светлыми вакуолями. Встречаются крупные вакуоли с хлопьевидным содержимым (рис. 3.4.4.4).

В *подоцитах* наблюдается частичное просветление цитоплазмы и незначительная потеря малых вторичных цитоподий.

**Клетки коркового слоя почек овец после воздействия диоксина в дозе 1/800 ЛД<sub>50</sub>.** Ядра эпителиоцитов, образующих проксимальные

канальцы почек, имеют округлую форму. Хроматин равномерно распределен в ядре. Имеются ядрышки. Митохондрии средней электронной плотности (рис. 3.4.4.5). Кристы хорошо просматриваются. В клетках наблюдаются крупные вакуоли с хлопьевидным содержимым. Цитоплазма подоцитов почти электронно-прозрачная с большим содержанием микрофиламентов. В митохондриях подоцитов отчетливо видны кристы. Матрикс средней электронной плотности. Встречается хорошо развитый аппарат Гольджи с большим количеством цистерн. В дистальных канальцах визуализируется снижение количества складок плазмалеммы. Хроматин ядер клеток, образующих дистальные канальцы, равномерно размещен внутри ядра, в отличие от контрольного варианта, где хроматин сконденсирован по периферии ядра.

В *подоцитах* наблюдается частичное просветление цитоплазмы (рис. 3.4.4.6). В митохондриях встречаются МЛТ, пероксисомы, мелкие вакуоли. Базальная пластинка хорошо просматривается. Отмечается некоторое слияние ножек подоцитов.

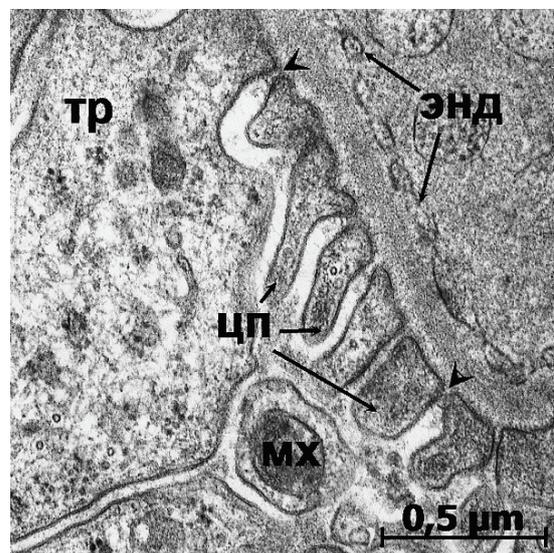
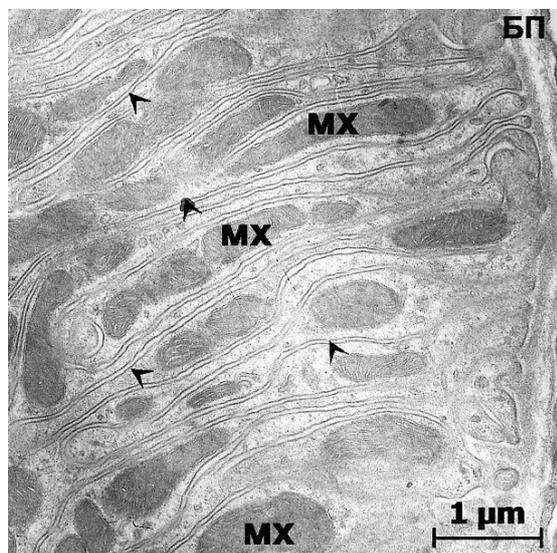


Рис. 3.4.4.1 (слева). Кортикальная зона почек, участок эпителиоцита проксимального канальца, стрелками обозначены складки базальной мембраны

Рис. 3.4.4.2 (справа). Кортикальная зона почек, участок подоцита, стрелками обозначены щелевые диафрагмы

*Условные обозначения:* ТР – трабекула, ЦП – цитоподии, ЭНД – эндотелий, МХ – митохондрии, БП – базальная пластинка

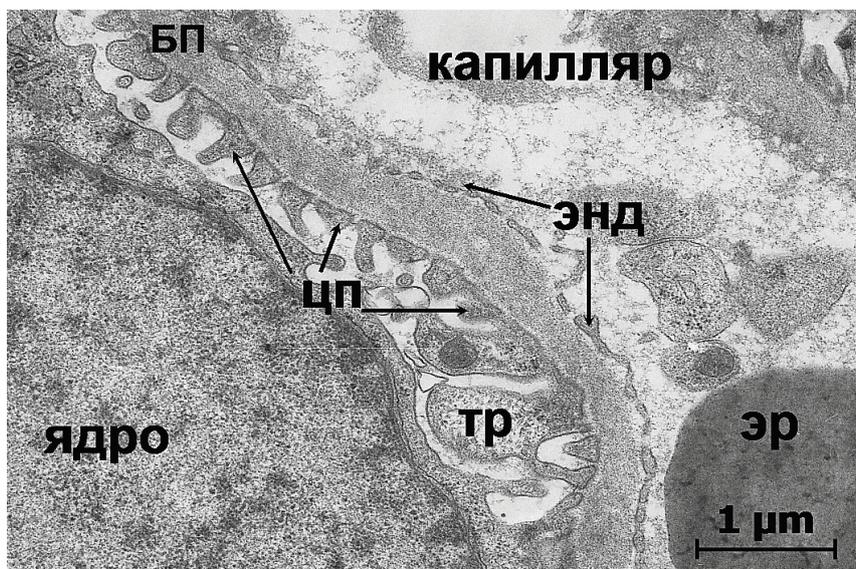


Рис. 3.4.4.3. Участок подоцита гломерулы почек овец после интоксикации диоксином в дозе 1/200 ЛД<sub>50</sub>

Условные обозначения: ЦП-цитоподии, БП – базальная пластинка, ТР – трабекула, ЭНД – эндотелий, ЭР – эритроцит

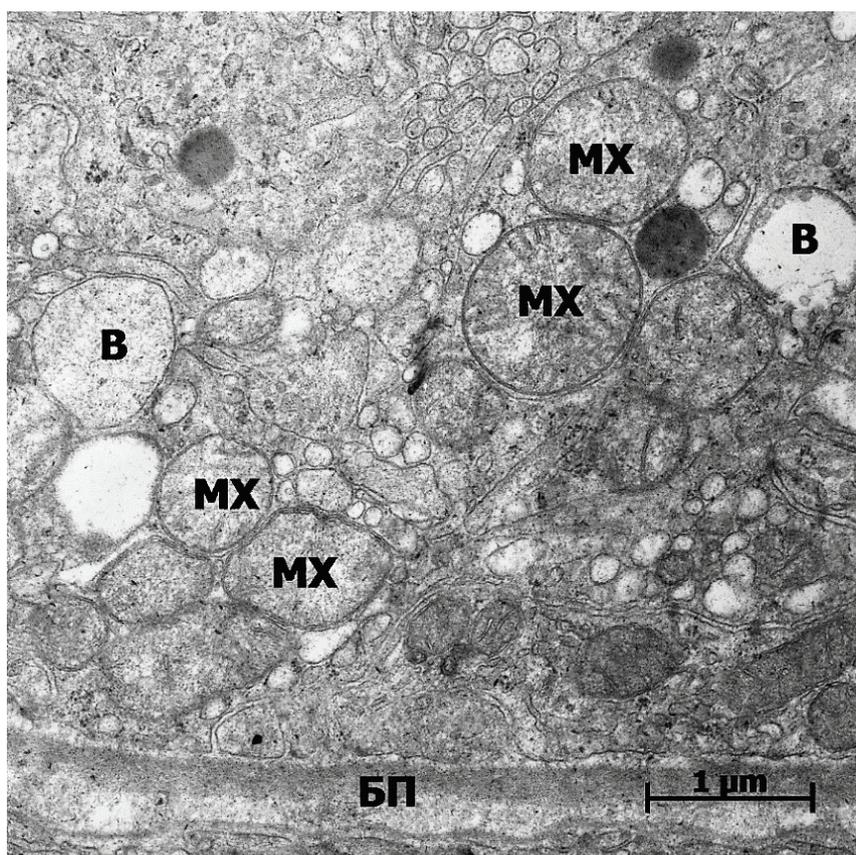


Рис. 3.4.4.4. Участок эпителиоцита проксимального канальца овец после затравки диоксином в дозе 1/400 ЛД<sub>50</sub>

Условные обозначения: БП – базальная пластинка, ЭНД – эндотелий, В – вакуоли, МХ – митохондрии

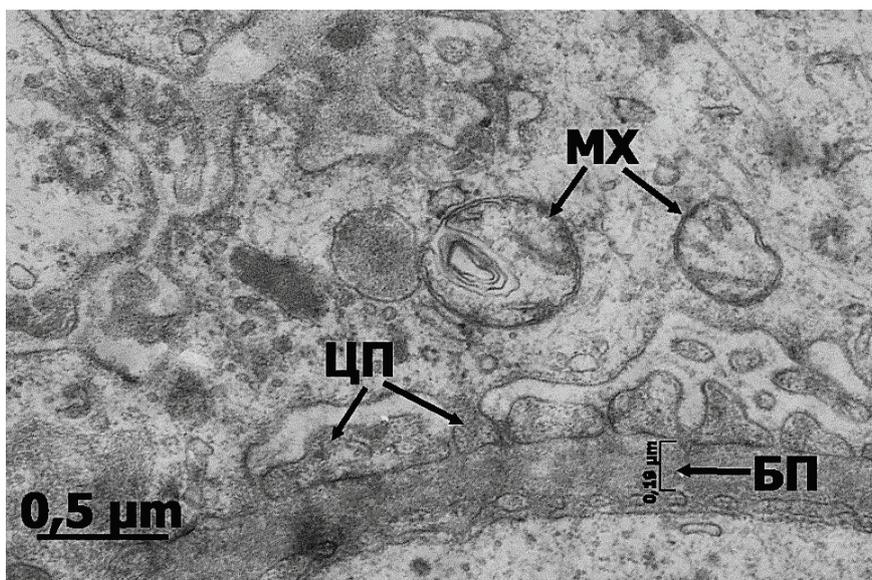


Рис. 3.4.4.5. Участок подоцита почки овцы после затравки диоксином в дозе 1/800 ЛД<sub>50</sub>

Условные обозначения: БП – базальная пластинка, ЦП – цитоподии, МХ – митохондрии

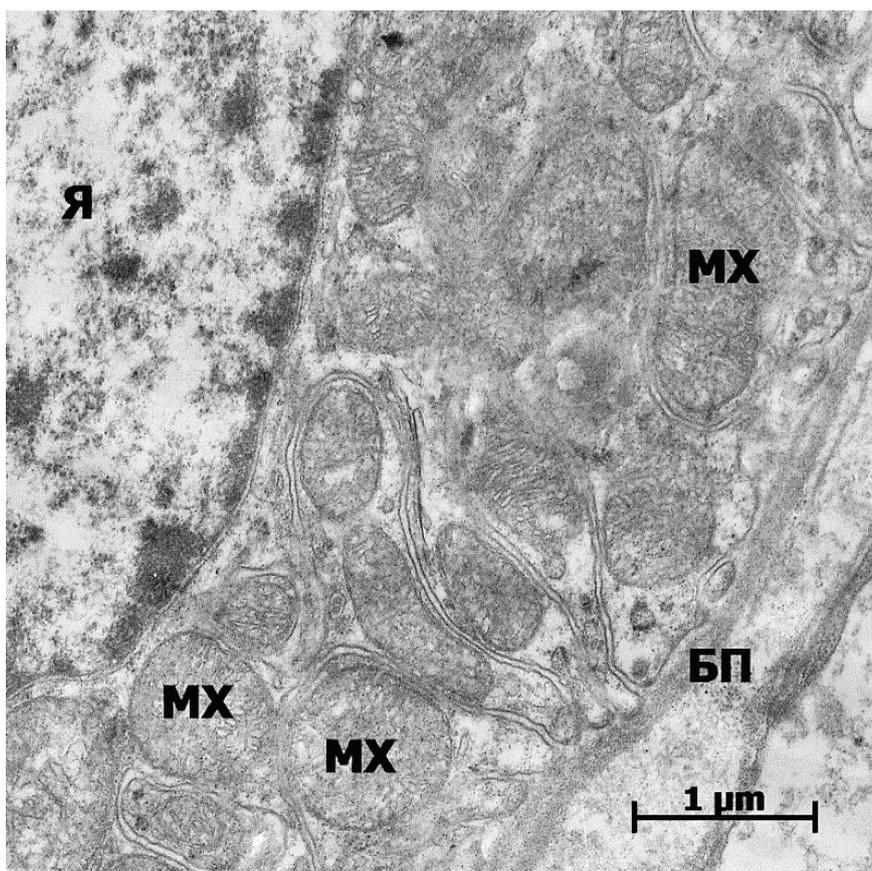


Рис. 3.4.4.6. Участок эпителиоцита проксимального канальца овец после затравки диоксином в дозе 1/800 ЛД<sub>50</sub>

Условные обозначения: Я – ядро, БП – базальная пластинка, МХ – митохондрии

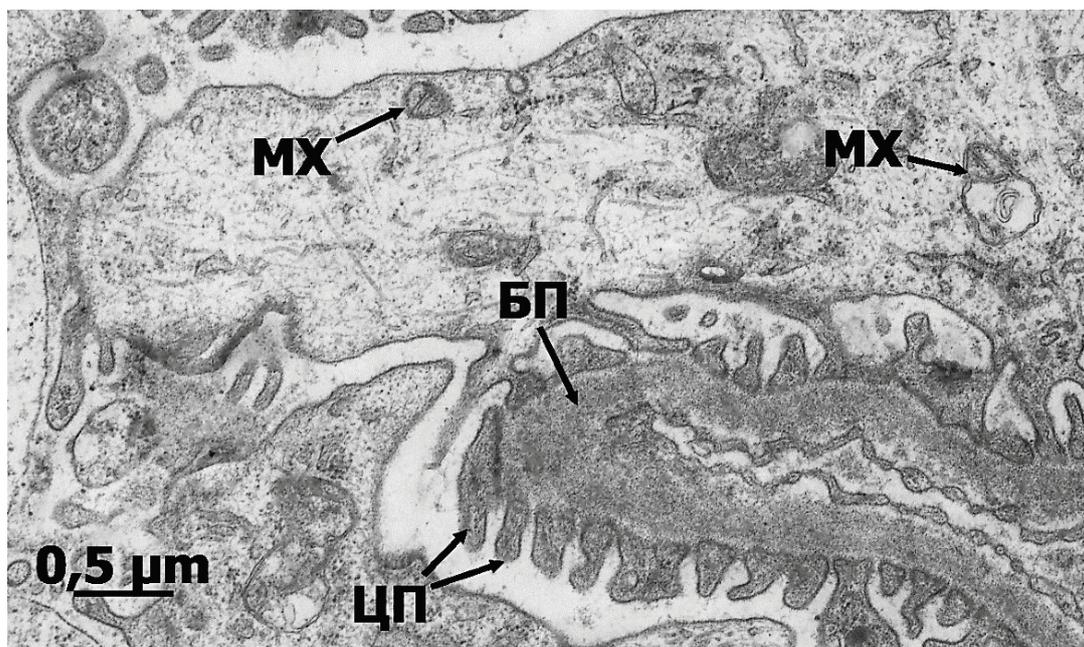


Рис. 3.4.4.7. Участок подоцита после затравки диоксином в дозе 1/800 ЛД<sub>50</sub>

Условные обозначения: ЦП – цитоподии,  
МХ – митохондрии, БП – базальная пластинка



Рис. 3.4.4.8. Участок эпителиоцита проксимального канальца почек овец  
после затравки диоксином в дозе 1/1000 ЛД<sub>50</sub>

Условные обозначения: БП – базальная пластинка, МХ – митохондрии,  
стрелками обозначены складчатости базальной пластинки

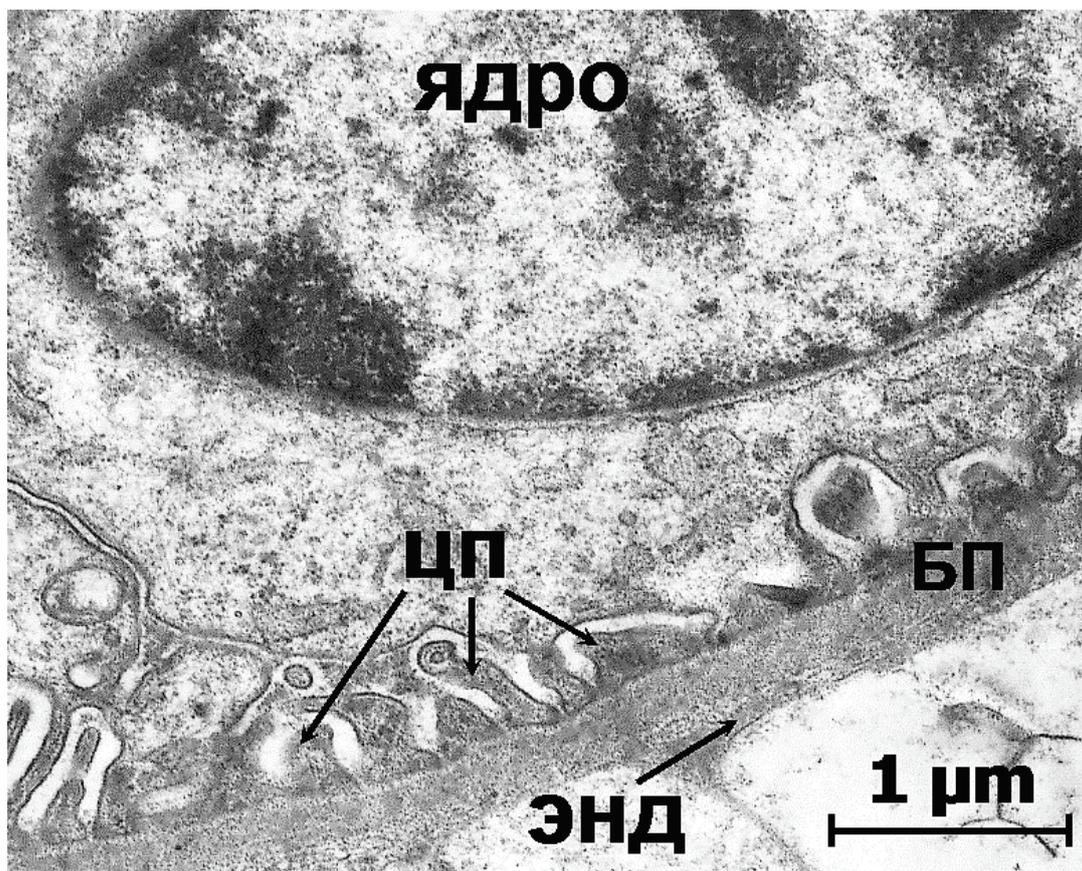


Рис. 3.4.4.9. Участок подоцита гломерулы коркового вещества почек овец после сочетанной затравки диоксином и Т-2 токсином в дозах 1/1000 ЛД<sub>50</sub> и 2 ПДК  
 Условные обозначения: ЦП – цитоподии, БП – базальная пластинка, ЭНД – эндотелий

***Клетки коркового слоя почек овец после воздействия диоксида в дозе 1/1000 ЛД<sub>50</sub>. Проксимальные канальцы. Ядра овальной формы. В кариоплазме имеются участки конденсированного хроматина, расположенные хаотично. Вокруг ядра хорошо просматривается гранулярный эндоплазматический ретикулум. Также в цитоплазме встречаются крупные пероксисомы. Митохондрии удлиненной формы, находятся в складках базальной части плазмалеммы. Кристы четко видны (рис. 3.4.4.7). Матрикс средней электронной плотности. Складки мембраны вдаются вглубь клетки, доходя до ядра, с четкими границами, без расширений. Крупные вакуоли редки. Деинтегрированных митохондрий нет.***

*Подоциты.* Ядра овальные. Митохондрии (рис. 3.4.4.8) с четко выраженными пластинчатыми кристами. Матрикс средней электронной плотности. Часто встречается аппарат Гольджи.

*Клетки коркового слоя почек овец после сочетанного воздействия диоксина и T-2 токсина в дозах 1/1000 ЛД<sub>50</sub> и 2 ПДК. Эпителиоциты проксимальных канальцев почек.* Ядра округло-овальной, иногда неправильной формы. Хроматин равномерный, в оболочке четко выраженные ядерные поры. По периферии ядра встречаются свободные рибосомы и полисомы. Цитоплазма средней электронной плотности, имеет гладкий ЭПР. Основная масса митохондрий с двойной мембраной и матриксом средней электронной плотности. Часть митохондрий имеет четко выраженные кристы, у некоторых наличествует хлопьевидный матрикс. Складки лабиринта плазматической мембраны эпителиоцитов очень многочисленны, с высокой протяженностью. Базальная пластинка не равномерная, без четких границ. Вакуолей почти нет.

*Подоциты.* Ядра подоцитов (рис. 3.4.4.9) овальной формы. В митохондриях наличествуют пластинчатые кристы. Матрикс средней электронной плотности. Аппарат Гольджи также встречается.

## 4. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Следствием широкомасштабного развития человеческого социума является постоянно продолжающееся увеличение воздействия множества ксенобиотиков на различные биоценозы. Причем проблема заключается в единовременной сочетанности влияния экотоксикантов и биогенных ядов на различных представителей биосферы земли. И этот факт, несомненно, имеет общемировое значение, а экономические потери, вызванные комплексом причин (загрязнения окружающей среды, заболевания животных, человека и т. д.), исчисляются огромными цифрами. Также известно, что при совместном воздействии на биологические объекты эффект взаимовлияния зачастую может усиливаться. Так называемый потенцирующий эффект в более значительной степени снижает резистентность организма, со всеми вытекающими отсюда негативными последствиями.

В этой связи изучение проявления эффектов сочетанного поступления токсикантов в организм млекопитающих на ультраструктурном уровне представляет немаловажный научный интерес. Необходимо иметь в виду, что, несмотря на некоторые отличия в чувствительности и реакции представителей живой природы на разнообразные токсины, в основе механизмов жизнедеятельности лежат одни и те же клеточные структуры и биохимические процессы. Поэтому можно предположить, что электронно-микроскопические исследования в значительной степени позволят выявить некоторые особенности морфофункционального состояния клеток при воздействии токсикантов различной этиологии и химической природы.

В результате электронно-микроскопических исследований выявлено, что в паренхиме печени и почек кроликов после длительной хронической интоксикации, отдельной и сочетанной, на субмикроскопическом уровне имеются разного рода изменения.

Многие исследователи обоснованно считают печень «органом-мишенью» воздействия большинства токсических веществ. Именно в

печени происходит не только концентрация токсинов, но и их активная метаболизация (Л.А. Федоров, 1993; С.А. Lee et al., 1998; К. Ну, N.J. Bunce, 1999). В силу этих причин в наших исследованиях печень как объект имеет приоритетное значение.

Являясь центром восприятия химических сигналов и управления жизнедеятельностью клетки, ядро и составляющие его субъядерные органеллы рано реагируют на клеточный стресс разной природы. Многочисленные исследования ядра клетки позволяют утверждать, что архитектура ядра тесно связана с многочисленными функциями и, следовательно, изменение его структуры может иметь прогностическую ценность при воздействии тех или иных патогенов на ткань печени (И.Б. Збарский, 1988).

Наружная ядерная мембрана способна образовывать выпячивания в цитоплазму и формировать пузырьки, отрывающиеся от мембраны и переходящие в цитоплазму. Особенно интенсивно подобные процессы, с вовлечением обеих мембран, наблюдаются при некоторых формах гибели клетки, то есть они являются своего рода признаком предапоптозного состояния клетки (В.П. Андреев и др., 2020).

Беря во внимание вышеизложенное, наши морфометрические исследования параметров изменения перинуклеарного пространства кроликов, свиней и овец подтверждают негативность последствий воздействия ряда ксенобиотиков на ядерный аппарат гепатоцитов.

Из апробированных ядов в большей мере на степень расширения ПНП ядер гепатоцитов в опыте на кроликах оказывают диоксин в дозе 1/200 от ЛД<sub>50</sub>, ацетат свинца в дозе 1/10 от ЛД<sub>50</sub> и особенно их сочетанное воздействие, когда ПНП в ряде участков достигает 390 нм (на 766,7 %), что почти в 9 раз больше, чем в группе биологического контроля (45 нм). Данное обстоятельство свидетельствует о крайне тяжелых патологических процессах, вызванных длительным комплексным поступлением хлорорганического соединения и тяжелого металла в организм подопытных кроликов.

В опыте на свиньях наблюдается другая картина, когда после длительной хронической интоксикации диоксином в дозе 1/400 от ЛД<sub>50</sub> в ядерном аппарате гепатоцитов свиней перинуклеарное пространство увеличивается относительно группы биологического контроля только на 20 % (до 60 нм). По всей вероятности, не столь сильные, как на кроликах, изменения связаны с физиологией свиней как животных, имеющих существенное количество жировой ткани и особенность диоксинов депонироваться в ней (Л.А. Федоров, 1993).

Длительное хроническое воздействие Т-2 токсина в дозе 2 ПДК приводит к уменьшению ширины перинуклеарного пространства ядер на 20 % (40 нм). Возможно, такой эффект связан с тем, что в ходе своего рода длительной коэволюции сложился некий каскад реакций воздействия микотоксинов плесневых грибов и формы проявления на эти воздействия в клетках животных. Безусловно, на степень проявления этих реакций влияет доза и продолжительность интоксикации Т-2 токсина.

Но для хронических интоксикаций, как в нашем случае, по всей видимости, Т-2 токсин в первую очередь оказывает эффекты, аналогичные эффектам лучевого поражения, отрицательно влияя на процессы синтеза РНК и ДНК (F. Shokri et al., 2000; K. Obremski et al., 2013), выражающиеся в начальных стадиях прежде всего в перераспределении хроматина и дистрофии ЭПС (А.И. Яковлева и др., 2019), а не в видимых изменениях органоидов клетки, таких как расширение ПНП. Еще в 80-е годы XX века V. Kravchenko et al. (1983) отмечали выраженную разницу в действии Т-2 токсина на ультраструктуру различных органов крыс. Именно в печени Т-2 токсин индуцирует разрушение мембран грЭПР, уменьшает количество рибосом и прогрессивно снижает активность большинства ферментов.

Длительная хроническая интоксикация свиней диоксином в дозе 1/400 от ЛД<sub>50</sub> и Т-2 токсином в дозе 2 ПДК приводит к значительным изменениям перинуклеарного пространства, когда в некоторых местах

оно достигает 210 нм (на 320,0 %), что более чем в 4 раза больше, чем в группе биологического контроля (50 нм).

Морфометрические расчеты изображений экспериментальных групп овец показывают положительную корреляционную зависимость параметров ширины перинуклеарного пространства от доз диоксина. Дозировки 1/400, 1/800 и 1/1000 от ЛД<sub>50</sub> запускают процессы, приводящие к расширению ПНП ядер гепатоцитов на 175,0, 125,0 и 50 % (до 110, 90 и 60 нм) соответственно. В группе биологического контроля ширина ПНП составляет 40 нм.

Проводя некую сравнительную аналогию по трем видам животных, оценке параметра ширины перинуклеарного пространства можно сказать о том, что в апробированных дозах, сочетаниях и длительности интоксикации именно диоксин стимулирует процессы, приводящие к увеличению ПНП у кроликов, свиней и овец. Т-2 токсин обладает обратным эффектом. Физиологические особенности организма свиней в апробированных дозах занижают эффективность воздействия диоксина и Т-2 токсина, но в сочетании этих двух агентов начинают давать сбой.

Стоит отметить, что на овцах после хронической сочетанной интоксикации диоксином в дозе 1/1000 от ЛД<sub>50</sub> и Т-2 токсином в дозе 2 ПДК перинуклеарное пространство в ряде участков увеличивается только на 25 %, что существенно меньше, чем в сочетанной группе данных агентов на свиньях. По всей вероятности, это связано с тем, что жвачные животные более устойчивы к микотоксинам, поскольку микроорганизмы рубца способны их инактивировать (Е.И. Симонова и др., 2020).

При исследовании ультраструктурной организации после 40 дней хронической интоксикации кроликов диоксином в дозе 1/200 от ЛД<sub>50</sub> в гепатоцитах отмечается сильное набухание (более чем в 2 раза) митохондрий. Кроме этого, визуализируется набухание каналов ЭПР. При отравлении крыс и кроликов диоксином в дозах 1/200 и 1/400 от ЛД<sub>50</sub> в течение 10 суток (Ю.А. Зимаков и др., 2003; Е.Л. Матвеева и др.,

2004) методами ультратонких срезов и полярографической оценки отмечают набухание митохондрий и снижение потребления кислорода в реакции окислительного фосфорилирования сукцината.

Наши результаты также согласуются с сообщением E.N. Harrison et al. (1988), которые приводят сведения о том, что при однократном внутрибрюшинном введении диоксина (50 мг/кг) у крыс в гепатоцитах также отмечалось набухание митохондрий и разрушение эндоплазматической сети. Американский патолог N.F. Cheville (2009) в своей монографии «Ультраструктурная патология: сравнительное клеточное обоснование болезни» также отмечает, что интоксикация диоксином характеризуется набуханием митохондрий и дефрагментацией крист. Данную особенность диоксинового влияния на митохондрии гепатоцитов крыс, кроликов отмечает в своих трудах Р.З. Гибадуллин (2000). Причем нарушение митохондриальных крист и шероховатой эндоплазматической сети при токсическом воздействии 2,3,7,8-тетрахлордibenzo-*p*-диоксина отмечали (W.Z. Wu et al., 2001) и в гепатоцитах у gobiocypris – китайского карпа (*Gobiocypris rarus*).

Набухание митохондрий может быть вызвано различными факторами. В первую очередь разобщение окислительно-восстановительного фосфорилирования (М.В. Егорова и др., 2012) и нарушение проницаемости внутренней мембраны для катионов является следствием перекисного окисления липидов, активацией собственной фосфолипазы в условиях гипоксии.

Пероксисомы в гепатоцитах кроликов, интоксицированных диоксином, которые, по сути, защищают клетку от окислительного стресса, также увеличиваются в объеме на 70,0 % ( $p < 0,05$ ), что характеризует повышение оксидазно-каталитической активности клетки, но при этом их количество сокращается на 35,0 % ( $p < 0,05$ ). Кроме того, в гепатоцитах регистрируются остаточные тельца плотной структуры, которые можно диагностировать как автофагосомы, образующиеся вследствие деградации дефективных пероксисом (О.В. Войцеховская, 2013). Снижение количества пероксисом на сороковой день опыта можно считать

вторичным при данной дозе у кроликов. Дефицит энергии в клетках приводит к снижению утилизации химически активного кислорода из-за спада уровня биосинтеза каталаз, которые должны постоянно поступать в пероксисомы. Пероксисомы обновляются каждые 5–6 суток (А.У. Игамбердиев, 2000).

В гепатоцитах кроликов на сороковой день хронической интоксикации ацетатом свинца в дозе  $1/10$  ЛД<sub>50</sub>, по результатам наших исследований, отмечается резкое снижение количества пероксисом на 82,5 % ( $p < 0,05$ ). Это является особенностью свинцового отравления и связано со способностью свинца ингибировать ферменты, встраиваться в металлопротеиды (Н.А. Улахович и др., 2010), какими и являются каталазы пероксисом (Л.Ф. Панченко и др., 1981). Ультраструктура и морфометрический анализ митохондрий показывают более хорошую сохранность этих органелл по сравнению с группой животных, получавших затравку диоксином в дозе  $1/200$  ЛД<sub>50</sub>. Однако, по сведениям S.M. Hasan (2011), в печени у мышей, интоксигированных нитратом свинца, также визуализируется набухание митохондрий и деструкция крист. В клетках печени кроликов на 40-е сутки при интоксикации ацетатом свинца ( $1/10$  ЛД<sub>50</sub>) диагностируются и признаки детоксикации (появляются интерхроматиновые гранулы, набухает ЭПР и увеличивается количество митохондрий) и одновременно дефекты некоторых ультраструктур (расширение ПНП, вакуолизация цитоплазмы).

В гепатоцитах кроликов при сочетанном отравлении диоксином в дозе  $1/200$  ЛД<sub>50</sub> и ацетатом свинца  $1/10$  ЛД<sub>50</sub> отмечается снижение при  $p < 0,05$  количества пероксисом (на 42,8 %). Ультраструктура митохондрий и морфометрический анализ показывают частичное разрушение митохондрий и спад биоэнергетической активности в связи с коагуляцией матрикса, вероятно, связанные с присутствием тяжелых металлов. Наши выводы согласуются с данными M.E. Legare et al., 1993, показывающими, что свинец понижает мембранный потенциал митохондрий, нарушая дыхательную цепь. В митохондриях гепатоцитов групп кроликов, отравленных ацетатом свинца, отдельно или сочетано

с диоксином, зарегистрированы плотные гранулы, которые мы, как и некоторые авторы, диагностируем как фосфаты свинца. Так как известно, что свинец способен вытеснять кальций (Н.А. Улахович и др., 2010), это согласуется с данными научной литературы (M. Birkhead et al., 1982; M.A. Russo et al., 1988; S.M. Hasan, 2011). В клетках печени кроликов при сочетанной интоксикации диоксином и ацетатом свинца проявляются патологические изменения ультраструктур: существенное нарушение ПНП, вакуолизация цитоплазмы, разрушение и фрагментирование ЭПР.

Закономерности деструктивных и компенсаторно-приспособительных изменений после длительной (40 суток) хронической диоксиновой интоксикации (1/200 ЛД<sub>50</sub>) в клетках коркового слоя почек кроликов характеризуются тем, что диоксин в большей степени (по сравнению с действием ацетата свинца) подвергает разрушению митохондрии в эпителиоцитах и подоцитах. Также диоксин существенно нарушает структуру фильтрационного барьера в клубочках: уменьшение при  $p < 0,05$  толщины базальной пластинки (на 43,8 %) и уменьшение при  $p < 0,05$  количества фильтрационных щелей на единицу длины БП (на 37,5 %).

Несмотря на сохранность складчатости базальной плазмалеммы клеток проксимальных канальцев почек, недостаток энергетического ресурса клеток и изменения в структуре фильтрационного барьера могут привести к дестабилизации процессов фильтрации (Я.Ф. Зверев, А.Я. Рыкунова, 2019) и последующей реабсорбции.

В отличие от диоксина, ацетат свинца на сороковой день после хронической интоксикации в дозе 1/10 ЛД<sub>50</sub> в большей степени нарушает цитоскелет эпителиоцитов проксимальных канальцев и, соответственно, ультраструктуру базального лабиринта. Вероятно, это связано, с особенностями специфического действия тяжелых металлов на цитоскелет клеток (А.П. Авцын, В.А. Шахламов, 1979; С.А. Куценко, 2002).

Несмотря на то что механизмы действия заявленных в опытах экотоксикантов различны, субмикроскопические и морфологические

характеристики их воздействия на клетку имеют общие признаки. Во-первых, изменения ядерного аппарата в связи с прямой или опосредованной экспрессией генов отмечены в обоих органах кроликов. При электронно-микроскопических исследованиях это проявляется в формировании интерхроматиновых гранул вокруг конденсированного хроматина. Во-вторых, нарушение мембранных структур (деструкция митохондрий, каналов ЭПР) в связи с усиливающимся процессом накопления свободных радикалов и ПОЛ. В-третьих, освобождающийся кальций из разрушенных митохондрий приводит к нарушению цитоскелета клеток коркового слоя почек, нарушает структуру базального лабиринта и подоцитов. У большинства клеток меняется структура ПНП, а при сочетанном воздействии зарегистрировано отшнуровывание вакуолей от ядерной оболочки.

Диоксин в большей степени, чем ацетат свинца, разрушает клеточные органеллы в печени и почках. Ацетат свинца максимально проявляет свою активность в подоцитах почечных клубочков, специфически нарушая цитоскелет, что совпадает с данными других исследователей (А.П. Авцын, В.А. Шахламов, 1979; С.А. Куценко, 2002). В гепатоцитах при воздействии ацетата свинца в митохондриях проявляется лучшая сохранность крист, чем под воздействием диоксина, но наблюдается дезинтеграция матрикса (ингибирование ферментов). Недостаток энергии приводит к гиперплазии этих органелл. В клетках печени ацетат свинца частично подавляет деятельность пероксисом.

Проведенные на кроликах электронно-микроскопические исследования влияния экотоксикантов показывают: во-первых, что диоксин в большей степени, чем ацетат свинца оказывает влияние на клетки. Во-вторых, ацетат свинца проявляет свое максимальное разрушающее действие на клетках корковой зоны почек.

При исследовании ультраструктурной организации хронического (45 суток) отравления поросят диоксином в испытанной дозе 1/400 от ЛД<sub>50</sub> в гепатоцитах отмечено увеличение количества и объема пероксисом, подтвержденное морфометрическими показаниями. Подобный

результат наблюдается и при сочетанной заправке диоксином и Т-2 токсином 1/400 от ЛД<sub>50</sub> и 2 ПДК, в то время как заправка Т-2 токсином в дозе 2 ПДК снижает количество пероксисом. Эти данные совпадают с уже описанными результатами эксперимента по влиянию диоксина в дозе 1/200 ЛД<sub>50</sub> на гепатоциты кроликов.

Митохондрии гепатоцитов свиней по-разному реагируют на различные дозы ксенобиотиков. При воздействии диоксина в дозах 1/400 ЛД<sub>50</sub> по ультраструктурным характеристикам и морфометрическим подсчетам отмечается снижение энергетической активности гепатоцитов (хлопьевидный матрикс и уменьшение количества митохондрий и их площади сечения на 60,2 и 15,5 % соответственно ( $p < 0,05$ )). При этом количество пероксисом повышается на 54,2 %, а средняя площадь их сечения увеличивается на 18 % ( $p < 0,05$ ). По мнению В.А. Галочкина и др. (2015), вместе с системой микросомальных оксигеназ (в том числе гемопротеинов класса Р450) пероксисомы осуществляют функцию клеточного «чистильщика» за счет нейтрализации вредных побочных продуктов метаболизма (параметаболических факторов) и экотоксикантов, тогда как хроническая аккумуляция последствий воздействия таких вредных факторов может лежать в основе снижения продуктивности и резистентности животных.

Исследование коркового слоя почек свиней показало нарушение фильтрационного барьера гломерул при отравлении диоксином в дозах 1/400 ЛД<sub>50</sub>, и сочетано с Т-2 токсином (1/400 ЛД<sub>50</sub> и 2 ПДК), которое проявляется разрушением клеток эндотелия, исчезновением мелких цитоподий подоцитов. При этих же дозах митохондрии подвергаются деструктивным процессам в большей степени в проксимальных канальцах по сравнению с подоцитами, вероятно, по этой причине страдают процессы вторичной реабсорбции, которые проходят в этих клетках, за счет активного транспорта.

При воздействии Т-2 токсина в дозе 2 ПДК (в большей степени) можно видеть наличие адаптационно-компенсаторных механизмов, где большинство клеток имеет митохондрии в более активном состоянии, чем в контроле.

Электронно-микроскопические исследования паренхимы печени и почек свиней демонстрируют, что максимальные патологические последствия прогрессируют в группе животных длительно, сочетано интоксцированных диоксином и Т-2 токсином (1/400 ЛД<sub>50</sub> и 2 ПДК).

Исследования ультраструктуры паренхимы печени и почек овец после 60-суточной хронической интоксикации демонстрируют различные субмикроскопические изменения, особенно ярко выраженные при воздействии диоксина в дозе 1/200 ЛД<sub>50</sub>.

В отличие от контрольной группы овец, в гепатоцитах после хронического отравления диоксином в дозе 1/200 ЛД<sub>50</sub> встречаются ядра неправильной формы, у некоторых маргинальное расположение хроматина. Отмечаются увеличение перинуклеарного пространства и глубокие инвагинации наружной ядерной оболочки в сторону цитоплазмы. Внутри кариоплазмы отмечается образование крупных мембранно-ограниченных вакуолей. Имеются ядра в состоянии пикноза. Цитоплазма гепатоцитов также сильно вакуолизирована. У других клеток отмечаются набухшие каналы шероховатого и гладкого ЭПР, что, возможно, связано с процессами активного синтеза энзимов, участвующих в процессах детоксикации (Ю.С. Ченцов, 2004). Важно отметить, что в одном из цитируемых исследований (В.А. Fowler et al., 1973) в гепатоцитах крыс также отмечается увеличение элементов гладкого и гранулярного эндоплазматического ретикулумов. В данной дозировке выявляется снижение среднего количества митохондрий на 38,2 %, средняя площадь сечения увеличивается на 26,1 %. Количество пероксисом также понижается на 32,2 % при уменьшении относительно контроля средней площади сечения на 8,0 % ( $p < 0,05$ ).

На овцах после воздействия более низкой дозы диоксина (1/400 от ЛД<sub>50</sub>) наблюдаем уменьшение количества митохондрий на 26,4 % при увеличении средней площади их сечения на 15,2 %. Количество пероксисом снижается на 24,1 % ( $p < 0,05$ ), средняя площадь их сечения, как и в контрольной группе, 0,25 мкм<sup>2</sup>.

При дальнейшем понижении дозировки диоксина (1/800 от ЛД<sub>50</sub>) продолжается снижение количества митохондрий по сравнению с

биологическим контролем на 21,0 %, средняя площадь сечения также продолжает увеличиваться на 4,3 %. Количество пероксисом понижается на 14,2 %, но при этом средняя площадь их сечения значительно увеличивается на 92,0 % ( $p < 0,05$ ).

Стоит отметить, что на этом фоне начинают встречаться извитые «гигантские» митохондрии с плотным матриксом и кристами различных размеров, что говорит об их активной работе и компенсаторно-приспособительных процессах в печени овец, характерных для данных доз диоксина. Согласно литературным источникам, наличие таких митохондрий считается характерным для некоторых функциональных состояний гепатоцитов, например при интоксикации этанолом и другими вредными веществами (А.И. Струков, В.В. Серов, 1995).

После длительного хронического воздействия диоксина в дозе 1/1000 ЛД<sub>50</sub> количество митохондрий относительно их числа в группе биологического контроля снижается на 11,3 %, средняя площадь сечения не изменяется (0,46 мкм<sup>2</sup>). По состоянию пероксисом наблюдается увеличение их количества на 4,7 % при повышении их средней площади сечения на 40,0 % ( $p < 0,05$ ). Это свидетельствует об увеличении оксидазно-каталитической активности клеток. Также в цитоплазме гепатоцитов отмечается очень большое количество скоплений остаточных мембран и мультиламеллярных тел.

Сочетанная хроническая интоксикация диоксином (1/1000 ЛД<sub>50</sub>) и Т-2 токсином в (2 ПДК) запускает процессы, при которых количество митохондрий снижается на 51,1 %, а средняя площадь их сечения – на 10,9 %. При этом количество пероксисом понижается на 24,5 % ( $p < 0,05$ ), средняя площадь сечения пероксисом (0,25 мкм<sup>2</sup>) относительно контрольной группы повышается на 32,0 % ( $p > 0,05$ ).

Немаловажно, что при всех испытанных дозах диоксина, а также при его сочетанном воздействии с Т-2 токсином в гепатоцитах встречаются в том числе митохондрии с небольшим количеством пластинчатых крист в просветленном матриксе или вакуолизированные кристы в электронно-светлом матриксе. Отдельные из них имеют признаки

глубокой деструкции. Такие митохондрии имеют электронно-прозрачное содержимое, в центре которого находятся мультиламеллярные или мультивезикулярные образования. Данное обстоятельство лишнее свидетельствует о том, что многофункциональность печени в существенной степени определяет и ее физиологические нагрузки, так как деструктивные митохондрии, хоть и в небольшом количестве, встречаются даже при влиянии диоксина в дозе 1/1000 ЛД<sub>50</sub>.

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

Исследования коркового слоя почек овец показывают нарушение фильтрационного барьера гломерул при отравлении диоксином в дозах 1/200 ЛД<sub>50</sub>, 1/400 ЛД<sub>50</sub>, 1/800 ЛД<sub>50</sub> и сочетано с Т-2 токсином (1/1000 ЛД<sub>50</sub> и 2 ПДК), которое проявляется разрушением клеток эндотелия, исчезновением мелких цитоподий подоцитов. При этих же дозах митохондрии подвергаются деструктивным процессам в большей степени в проксимальных канальцах по сравнению с подоцитами, вероятно, по этой причине страдают процессы вторичной реабсорбции, которые проходят в этих клетках за счет активного транспорта.

При воздействии диоксина (1/1000 ЛД<sub>50</sub>), сочетано диоксина и Т-2 токсина (1/1000 ЛД<sub>50</sub> и 2 ПДК) в клетках коркового слоя почек визуализируется проявление адаптационно-компенсаторных механизмов.

Электронно-микроскопические исследования клеток органов овец выявили разносторонность цитотоксических проявлений испытанных ксенобиотиков. Наиболее яркие процессы клеточной деструкции происходят в гепатоцитах и эпителиоцитах проксимальных канальцев при воздействии диоксина в дозе 1/200 ЛД<sub>50</sub>.

Таким образом, на основании проведенных исследований сформулированы следующие выводы:

1. Длительные хронические, включая сочетанные, воздействия ксенобиотиков: диоксина в дозе 1/200 ЛД<sub>50</sub> у овец, диоксина и ацетата

свинца  $1/200 \text{ ЛД}_{50} + 1/10 \text{ ЛД}_{50}$  у кроликов, а также диоксина и Т-2 токсина  $1/400 \text{ ЛД}_{50} + 2 \text{ ПДК}$  у свиней – вызывают необратимое повреждение клеточных органелл паренхимы печени и почек, запуская механизмы апоптоза клеток.

2. Электронно-микроскопические исследования и морфометрический анализ демонстрируют, что токсический эффект диоксина в дозе  $1/200 \text{ ЛД}_{50}$  разнообразен, в большей мере проявляется в гепатоцитах – нарушением структур митохондрий, изменениями ядерного аппарата и набуханием каналов эндоплазматического ретикулула. Изменяется перинуклеарное пространство, расширяясь относительно группы биологического контроля в 4 раза, до 180 нм (на 300 %). Снижается среднее количество митохондрий до 12,51, но увеличивается средняя площадь сечения (набухание) до 0,74 на  $100 \text{ мкм}^2$ ; по состоянию пероксисом наблюдается та же тенденция – 4,42 и 0,29  $\text{мкм}^2$  соответственно ( $p < 0,05$ ).

3. Ультраструктурные исследования и морфометрический анализ свидетельствуют, что хроническое воздействие ацетата свинца на организм кроликов в дозе  $1/10 \text{ ЛД}_{50}$  характеризуется органотропностью и в большей степени проявляется в клетках коркового вещества почек – нарушением базального лабиринта эпителиоцитов проксимальных канальцев (при  $p < 0,05$  меньше контрольной группы на 65,6 %). Вместе с тем в печени выявляется существенное увеличение количества митохондрий на 49,2 % ( $p < 0,05$ ), что, возможно, является свидетельством активации процессов детоксикации.

4. Ультраструктурный анализ демонстрирует, что хроническое сочетанное введение кроликам в течение 40 суток диоксина и ацетата свинца в дозах  $1/200 \text{ ЛД}_{50}$  и  $1/10 \text{ ЛД}_{50}$  проявляется выраженными изменениями. В гепатоцитах ПНП достигает ширины 390 нм, что почти в 9 раз больше, чем в группе биологического контроля. Количество митохондрий снижается на 49,2 %, а средняя площадь сечения на 5,6 % ( $p < 0,05$ ). Количество пероксисом понижается на 42,8 %, а средняя площадь сечения увеличивается на 17,6 % ( $p < 0,05$ ). В почках длина

лабиринта составляет 56,7 мкм относительно 5 мкм базальной пластинки эпителиоцита, что на 65,6 % меньше, чем в интактной группе кроликов.

5. Хроническая длительная сочетанная интоксикация свиней диоксином и Т-2 токсином в дозах 1/400 ЛД<sub>50</sub> и 2 ПДК после 45 суток воздействия характеризуется максимальными изменениями ультраструктуры паренхимы печени и почек: увеличение в 4 раза перинуклеарного пространства, резкое уменьшение грЭПР, вакуолизация цитоплазмы. В гепатоцитах количество митохондрий и средняя площадь их сечения уменьшаются на 73,4 и 42,9 % по сравнению с интактными животными ( $p < 0,05$ ).

6. Электронно-микроскопическая визуализация и морфометрический анализ электронограмм, проведенные на свиньях, свидетельствуют, что токсический эффект диоксина в дозе 1/400 ЛД<sub>50</sub> ярко проявляется в митохондриях клеток. Деструкция крист, просветление матрикса с формированием хлопьевидных структур. В гепатоцитах наблюдается снижение количества митохондрий и средней площади их сечения относительно группы биологического контроля на 60,2 и 15,5 % соответственно ( $p < 0,05$ ). На этом фоне количество пероксисом увеличивается на 54,2 %, а средняя площадь их сечения повышается на 18 % ( $p < 0,05$ ), что, по все вероятности, свидетельствует о подключении механизмов нейтрализации вредных побочных продуктов метаболизма интоксикации.

7. Т-2 токсин в дозе 2 ПДК после длительной хронической интоксикации изменяет упаковку хроматина ядер, что указывает на признаки усиления экспрессии генов. Морфологически это выражается в (перераспределении) увеличении неконденсированного хроматина и уменьшении гетерохроматина. В ряде ядер гетерохроматин не визуализируется. При этом происходит уменьшение ширины перинуклеарного пространства на 20 %. Снижается количество митохондрий и средней площади их сечения относительно группы биологического контроля на 19,2 и 38,6 % соответственно ( $p < 0,05$ ). Сходная ситуация наблюдается

по состоянию пероксисом – снижение их количества и средней площади сечения на 44,1 и 28,5 % соответственно ( $p < 0,05$ ).

8. Электронно-микроскопические исследования клеток печени и почек овец показали, что самые существенные структурные перестройки происходят под влиянием диоксина в дозе  $1/200$  ЛД<sub>50</sub>, а также при сочетанном отравлении диоксином и Т-2 токсином ( $1/1000$  ЛД<sub>50</sub> и 2 ПДК). Диоксин в дозах  $1/800$  ЛД<sub>50</sub> и  $1/1000$  ЛД<sub>50</sub> вызывает изменения, которые можно отнести к адаптационным приспособлениям организма при детоксикации.

9. После длительной хронической интоксикации диоксином в дозе  $1/200$  ЛД<sub>50</sub> в ядерном аппарате гепатоцитов овец ПНП увеличивается в 3,5 раза относительно группы биологического контроля – на 250 % (до 140 нм). Среднее количество митохондрий снижается на 38,2 %, площадь сечения увеличивается на 26,1 %; количество пероксисом также понижается на 32,2 % при уменьшении относительно контроля средней площади сечения на 8,0 % ( $p < 0,05$ ).

10. Комплексное воздействие диоксина в дозе  $1/1000$  ЛД<sub>50</sub> + Т-2 токсина 2 ПДК на ультраструктуру гепатоцитов овец приводит к снижению количества митохондрий на 51,1 % и средней площади их сечения на 10,9 %. На этом фоне количество пероксисом уменьшается на 24,5 % ( $p < 0,05$ ), средняя площадь сечения повышается на 32,0 % ( $p > 0,05$ ).

## ЛИТЕРАТУРА

1. Авцын А.П. Ультраструктурные основы патологии клетки / А.П. Авцын, В.А. Шахламов. – М.: Медицина, 1979. – 320 с.
2. Андреев В.П. Клиническая морфология печени: ядерный аппарат гепатоцитов / В.П. Андреев, В.М. Цыркунов, Р.И. Кравчук // Гепатология и гастроэнтерология. – 2020. – Т. 4. – № 2. – С. 126–142. – URL: <https://doi.org/10.25298/2616-5546-2020-4-2-126-142> (дата обращения: 20.03.2023).
3. Вафин И.Ф. Сочетанное действие диоксина и кадмия хлорида на животных и изыскание лечебных средств: автореф. дис. ... канд. биол. наук / И.Ф. Вафин. – Казань, 2010. – 103 с.
4. Вишняков А.И. Ультраструктура клеток костного мозга цыплят при воздействии свинца / А.И. Вишняков // Современные проблемы науки и образования. – 2011. – № 3. – С. 43.
5. Войцеховская О.В. Пути деградации пероксисом в растительных клетках и динамика пероксисомного пула в норме и при углеводном голодании / О.В. Войцеховская // Клеточная биология и биотехнология растений. – Минск, 2013. – С. 68.
6. Галиев Э.А. Токсическое действие диоксина на животных / Э.А. Галиев, В.А. Новиков, Ю.А. Зимаков и др. // Ветеринарный врач. – 2001. – № 4. – С. 44.
7. Галимов Ш.Н. Гормонально-метаболические механизмы нарушения мужской репродуктивной функции при экспериментальной интоксикации диоксинсодержащим гербицидом 2,4 ДА: автореф. дис. ... д-ра мед. наук / Ш.Н. Галимов. – Уфа, 2000. – 49 с.
8. Галочкин В.А. Метаболические и регуляторные функции пероксисом (обзор) / В.А. Галочкин, А.В. Агафонова, В.П. Галочкина, Г.Г. Черепанов // Проблемы биологии продуктивных животных. – 2015. – № 1. – С. 5–24.
9. Гелашвили Д.Б. Принципы и методы экологической токсикологии: учебное пособие / Д.Б. Гелашвили, В.С. Безель, Е.Б. Романова

и др. – Н. Новгород: Изд-во Нижегородского госуниверситета, 2016. – 703 с.

10. Гибадуллин Р.З. Экспериментальное обоснование предельно допустимых концентраций 2,3,7,8-ТХДД в объектах ветеринарного надзора: автореф. дис. ... канд. биол. наук / Р.З. Гибадуллин. – Казань, 2000. – 97 с.

11. Голубев А.И. Цитоморфологические изменения сердечной и скелетной мышечной ткани кроликов при интоксикации свинцом / А.И. Голубев, М.А. Куприянова, М.М. Сальникова, В.Р. Саитов // Состояние и перспективы развития агропромышленного комплекса: в 2 т. – 2020. – С. 475–478.

12. Грызлова Л.В. Морфофункциональные изменения в системе мать-плацента-плод при экзогенном воздействии свинца / Л.В. Грызлова, О.С. Шубина // Фундаментальные исследования. – 2006. – № 1. – С. 103.

13. Евгеньева Т.П. Влияние токсикологических факторов окружающей среды на мышечную ткань рыб, обитающих в низовьях Волги / Т.П. Евгеньева // Второй С.-Петерб. международный экологический форум «Окружающая среда и здоровье человека», Вестник Российской военно-медицинской академии. Прилож. 2(23). – 2008. – С. 104.

14. Егоров В.И. Токсикологическая оценка сочетанного воздействия дециса и Т2 токсина на организм животных и изыскание профилактических средств: автореф. дис. ... канд. биол. наук / В.И. Егоров. – Казань, 2007. – 135 с.

15. Егорова М.В. Механизмы разобщения дыхания в митохондриях сердца при развитии стрептозотоцин-индуцированного диабета на фоне экспериментального инфаркта / М.В. Егорова, С.А. Афанасьев, С.В. Попов // Сибирский медицинский журнал. – 2012. – Т. 27. – № 1. – С. 115–118.

16. Желтов В.А. Диоксины – техногенные загрязнители окружающей среды и их опасность для с.-х. животных / В.А. Желтов, В.Н. Волков, А.Л. Лавров и др. // Проблемы ветеринарной санитарии и экологии: сб. науч. трудов ВНИИВСГЭ. – М., 1995. – С. 107–109.

17. Збарский И.Б. Организация клеточного ядра / И.Б. Збарский. – М.: Медицина, 1988. – 367 с.
18. Зверев Я.Ф. Нарушения клубочкового фильтрационного барьера как причина протеинурии при нефротическом синдроме / Я.Ф. Зверев, А.Я. Рыкунова // Нефрология. – 2019. – Т. 23. – № 4. – С. 96–111. – URL: <https://doi.org/10.24884/1561-6274-2019-23-4-96-111> (дата обращения: 18.03.2023).
19. Зимаков Ю.А. Сохранение ультраструктуры и функций митохондрий печени как критерий безопасности при определении пороговых доз и расчете допустимых уровней 2,3,7,8-ТХДД / Ю.А. Зимаков, Р.З. Гибадуллин, Е.Л. Матвеева // Токсикологический вестник: научно-практический журнал. – 2003. – № 6. – С. 25–29.
20. Иванов А.В. Методические рекомендации по электронно-микроскопическим исследованиям биологических объектов / А.В. Иванов, А.А. Иванов, А.Н. Чернов и др. – Росинформагротех, 2011. – 67 с.
21. Игамбердиев А.У. Роль пероксисом в организации метаболизма растений / А.У. Игамбердиев // Соросовский образовательный журнал. – 2000. – Т. 6. – № 12. – С. 20–26.
22. Куценко С.А. Основы токсикологии: научно-методическое издание / С.А. Куценко. – СПб.: Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, 2002. – 395 с.
23. Ковригин А.О. Морфологические особенности нефрона почки плода в антенатальном периоде у женщин, проживающих на территории с повышенной техногенной нагрузкой / А.О. Ковригин, В.А. Лубенников // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2011. – Ч. 1. – № 3(79). – С. 53–56.
24. Матвеева Е.Л. Ультраструктура внутренних органов при отравлении животных диоксином / Е.Л. Матвеева, М.Я. Трemasов, Ю.А. Зимаков и др. // Ветеринария. – 2004. – № 7. – С. 52–54.
25. Матвеева Е.Л. Морфологическое обоснование применения лечебных и профилактических средств при отравлении животных диоксином, сочетанном воздействии Т-2 токсина и афлатоксина В<sub>1</sub>: автореф. дис. ... д-ра биол. наук / Е.Л. Матвеева. – Казань, 2007. – 270 с.

26. Матвеева Е.Л. Ультраструктура клеток головного мозга при диоксиновой интоксикации / Е.Л. Матвеева, В.Р. Сайтов // Материалы международной научно-практической конференции «Биотехнология: токсикологическая радиационная и биологическая безопасность». – Казань, 2010. – С. 327–329.

27. Матвеева Е.Л. Органотропная оценка сочетанного воздействия Т-2 токсина и афлатоксина В<sub>1</sub> / Е.Л. Матвеева, В.И. Степанов // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2010 – № 1. – С. 201.

28. Нефедова С.А. Эколого-физиологические механизмы адаптации животных к антропогенным воздействиям (на примере Рязанской области): автореф. дис. ... д-ра биол. наук / С.А. Нефедова. – Петрозаводск, 2012. – 46 с.

29. Новиков В.А. Рекомендации по диагностике, лечению и профилактике отравлений животных солями тяжелых металлов и другими токсичными элементами / В.А. Новиков, В.А. Конюхова, М.Я. Тремасов и др. – М.: Росинформагротех, 2006. – 36 с.

30. Панченко Л.Ф. Роль пероксисом в патологии клетки / Л.Ф. Панченко, А.М. Герасимов, В.Д. Антоненков. – М.: Медицина, 1981. – 208 с.

31. Папуниди К.Х. Влияние диоксинов на окружающую среду / К.Х. Папуниди, А.В. Иванов и др. // Второй съезд ветеринарных фармакологов и токсикологов России (Казань, 9–12 июня 2009 г.): материалы съезда. – Казань, 2009. – С. 25–31.

32. Папуниди К.Х. Проблема сочетанных отравлений животных / К.Х. Папуниди, Э.И. Семенов, И.Р. Кадиков // Ветеринария и кормление. – 2018. – № 2. – С. 71–74.

33. Перфилова К.В. Электронная микроскопия клеток печени крыс при влиянии гамма-лучей и 2,3,7,8-TCDD / К.В. Перфилова, М.М. Сальникова, В.Р. Сайтов и др. // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – 2020. – № 10. – С. 99–104.

34. Сальникова М.М. Изучение ультраструктуры коркового вещества тимуса крыс при комбинированном воздействии диоксина и ионизирующего излучения / М.М. Сальникова, И.Р. Кадиков, Г.Ш. Закирова и др. // Ветеринарный врач. – 2018. – № 1. – С. 20–23.

35. Сальникова М.М. Изучение кардиомиоцитов крыс при комбинированном воздействии диоксина, ионизирующей радиации и применении лечебно-профилактических средств / М.М. Сальникова, Г.Ш. Закирова, В.Р. Сайтов и др. // Актуальные проблемы ветеринарной медицины: материалы международной научно-практической конференции, посвященной 90-летию со дня рождения профессора А.А. Киршина. – Казань, 2018. – С. 180–183.

36. Сальникова М.М. Изучение кардиомиоцитов крыс при комбинированном воздействии ацетата свинца, ионизирующей радиации и применении лечебно-профилактических средств / М.М. Сальникова, Е.А. Колганова, В.Р. Сайтов и др. // Актуальные проблемы ветеринарной медицины: материалы международной научно-практической конференции, посвященной 90-летию со дня рождения профессора А.А. Киршина. – Казань, 2018. – С. 184–187.

37. Сальникова М.М. Ультраструктура почек крыс при комбинированном воздействии ацетата свинца, ионизирующей радиации и применении лечебно-профилактических средств / М.М. Сальникова, В.Р. Сайтов, Е.А. Колганова и др. // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – 2018. – № 6. (164). – С. 127–133.

38. Сальникова М.М. Ультраструктура клеток коры головного мозга крыс в норме и при экспериментальном отравлении диоксином / М.М. Сальникова, А.И. Яковлева, В.Р. Сайтов, А.И. Голубев // Морфология. – 2021. – Т. 159. – № 3. – С. 107–115.

39. Семенов Э.И. Фармако-токсикологические аспекты применения энтеросорбентов при сочетанных микотоксикозах: автореф. дис. ... д-ра ветеринар. наук / Э.И. Семенов. – Казань, 2019. – 40 с.

40. Симонова Е.И. Распространение основных микотоксинов в кормовом сырье и их характеристика / Е.И. Симонова, К.М. Кондрашкина, Е.О. Рысцова, М.В. Большакова // Бюллетень науки и практики. – 2020. – Т. 6. – № 1. – С. 168–177. – URL: <https://doi.org/10.33619/10.33619/2414-2948/50> (дата обращения: 18.03.23).

41. Софронов Г.А. Современные взгляды на механизм токсического действия диоксинов и их санитарно-гигиеническое нормирование / Г.А. Софронов, В.Р. Рембовский, А.С. Радилов, Л.А. Могиленкова // Медицинский академический журнал. – 2019. – Т. 19. – № 1. – С. 17–28. – URL: <https://journals.eco-vector.com/MAJ/article/view/15186> (дата обращения: 22.03.23).

42. Струков А.И. Патологическая анатомия / А.И. Струков, В.В. Серов. – М.: Медицина, 1995. – С. 409–410.

43. Тарасова Е.Ю. Ультраструктура гепатоцитов с морфометрическими характеристиками митохондрий при смешанном микотоксикозе белых крыс на фоне применения профилактического комплекса / Е.Ю. Тарасова, Г.С. Кашеваров, В.Р. Сайтов, Л.Е. Матросова // Международный вестник ветеринарии. – 2022. – № 3. – С. 137–143.

44. Томмэ М.Ф. Кормовые рационы и нормы кормления для сельскохозяйственных животных / М.Ф. Томмэ. – М.: Сельхозиздат, 1963. – 384 с.

45. Тремасов М.Я. Спонтанные смешанные микотоксикозы животных / М.Я. Тремасов, П.К. Сметов // Ветеринария. – 1995. – № 3. – С. 20.

46. Тремасов М.Я. Мероприятия по предотвращению воздействия диоксинов на животных // Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии. Сб. науч. трудов / М.Я. Тремасов, В.А. Новиков. – М., 2004. – Т. 116. – С. 219–223.

47. Тутельян В.А. Микотоксины (медицинские и биологические аспекты) / В.А. Тутельян, Л.В. Кравченко. – М.: Медицина, АМН СССР, 1985. – 319 с.

48. Улахович Н.А. Экоотоксиканты: учебно-методическое пособие для лекционного курса «Химия в экологии» / Н.А. Улахович, М.П. Кутырева, Э.П. Медянцева, С.С. Бабкина. – Казань: КГУ, 2010. – 56 с.

49. Фёдоров Л.А. Диоксины как экологическая опасность: ретроспектива и перспективы / Л.А. Фёдоров. – М.: Наука, 1993. – 266 с.

50. Ченцов Ю.С. Введение в биологию клетки / Ю.С. Ченцов. – М.: Академкнига, 2004. – 333 с.

51. Шакирова Г.Р. Особенности сперматогенеза у животных при подострой интоксикации гербицидом 2,4 ДА / Г.Р. Шакирова, А.В. Имашев, Л.У. Тукаева // Проблемы и перспективы развития инновационной деятельности в агропромышленном производстве: тез. докл. Всерос. научно-практической конф. – Уфа, 2007. – С. 243.

52. Шакирова Г.Р. Ультраструктура семенников крыс при интоксикации гербицидом 2,4 ДА и лечении Т-активинном и токоферолом / Г.Р. Шакирова, А.В. Имашев, С.М. Шакирова // Интеграция аграрной науки и производства: состояние, проблемы и пути решения: тез. докл. Всерос. научно-практической конф. – Уфа, 2008. – Ч. 9. – С. 156.

53. Шакурова Н.В. Влияние микотоксинов на ультраструктуру кортикальных элементов нефрона свиней / Н.В. Шакурова, Э.И. Семенов, В.Б. Савва // Ученые записки Казанского университета. Серия: Естественные науки. – 2020. – Т. 162. – № 3. – С. 350–360.

54. Явербаум П.М. Общие вопросы токсического действия свинца / П.М. Явербаум. – Иркутск, 2006. – 344 с.

55. Яковлева А.И. Изучение цитоморфологии печени крыс при воздействии у-облучения / А.И. Яковлева, М.М. Сальникова, В.Р. Саитов, Г.Ш. Закирова // Вестник Марийского государственного университета. – 2019. – № 2. – С. 210–218.

56. Adhikari M. T-2 mycotoxin: toxicological effects and decontamination strategies / M. Adhikari, B. Negi, N. Kaushik et al. // *Oncotarget*. – 2017. – V. 8. – № 20. – P. 33933–33952. – URL: <https://doi.org/10.18632/oncotarget.15422> (accessed: 22.03.23).

57. Agrelo C. Synthesis of DNA in human fibroblasts treated with T-2 toxin and HT-2 toxin (the trichothecenes metabolites of fusarium species) and the effects of hydroxyurea / C. Agrelo, R. Schoental // *Tox. Lett.* – 1980. – V. 5. – № 2. – P. 155–160.

58. Albarenque S.M. T-2 toxin-induced apoptosis in rat keratinocyte primary cultures / S.M. Albarenque, K. Doi // *Exp Mol Pathol.* – 2005. – V. 78. – № 2. – P. 144–149.

59. Andrzejewska A. Does lead acetate intoxication damage acinar cell nuclei in the rat pancreas ultrastructural observations / A. Andrzejewska, B. Szynaka, W. Stokowska, P. Szynaka // *Mater Med Pol.* – 1995. – V. 27. – № 2. – P. 43–46.
60. Badawoud M.H. Effects of exposure to lead on the peripheral motor system of the rat. An ultrastructural study / M.H. Badawoud, S.M. Hassan // *Neurosciences (Riyadh)*. – 2013. – V. 18. – № 1. – P. 52–57.
61. Birkhead M. Intracellular localization of lead in tissues of the mute swan / M. Birkhead, B. Luke, S. Mann // *Tissue Cell.* – 1982. – V. 14. – № 4. – P. 691–701.
62. Bondy G.S. Structure-function relationship of the action of T-2 toxin on bovine platelets / G.S. Bondy, P.A. Gentry, P.K. Basrur // *Fundam Appl Toxicol.* – 1989. – V. 12. – № 1. – P. 109–116.
63. Cao Y. Effect of lead sulfide nanoparticles exposure on calcium homeostasis in rat hippocampus neurons / Y. Cao, H. Liu, Q. Li et al. // *Journal of Inorganic Biochemistry.* – 2013. – V. 126, – P. 70–75. – URL: <https://doi:10.1016/j.jinorgbio.2013.05.008>. (accessed: 07.02.23).
64. Cheville N.F. Ultrastructural pathology: The comparative cellular basis of disease / N.F. Cheville. – Wiley-Blackwell, 2009. – 917 p.
65. De Waal E.J. Ultrastructure of the cortical epithelium of the rat thymus after in vivo exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) / E.J. De Waal, Louk H.P.M. Rademakers, Henk-Jan Schuurman et al. // *Arch. Toxicol. Netherlands.* – 1993. – P. 558–564.
66. Dumková J. Sub-chronic inhalation of lead oxide nanoparticles revealed their broad distribution and tissue-specific subcellular localization in target organs / J. Dumková et al. // *Part. Fibre Toxicol.* – 2017. – V. 14. – № 55. – URL: <https://doi.org/10.1186/s12989-017-0236-y> (accessed: 22.03.23).
67. Fowler B.A. Ultrastructural changes in rat liver cells following a single oral dose of TCDD / B.A. Fowler, G.W. Lucier, H.W. Brown, O.S. McDaniel // *Environ. Health Perspect.* – 1973. – № 5. – P. 141–148.

68. George J.C. Effects of environmental lead poisoning on the breast muscle of the Canada goose: an ultrastructural study / J.C. George, G.L. March, B.A. McKeown // *Cytobios.* – 1983. – V. 36. – № 143. – P. 201–216.
69. Gillis B.S. Analysis of lead toxicity in human cells / B.S. Gillis, Z. Arbieva, I.M. Gavin // *BMC Genomics.* – 2012. – V. 27. – № 13. – P. 344.
70. Gupta B.N. Pathologic Effects of 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin in Laboratory Animals / B.N. Gupta, J.G. Vos, J.A. Moore et al. // *Environmental health perspectives.* – North Carolina, 1973. – P. 125–140.
71. Haedrich J. Bioanalytical screening of low levels of dioxins and dioxin-like PCBs in pig meat (pork) for checking compliance with EU maximum and action levels using highly sensitive “third generation” recombinant H4L7.5c2 rat hepatoma cells / J. Haedrich, C. Stumpf, M.S. Denison // *Environmental Sciences Europe.* – 2021. – V. 33 (1). – URL: <https://doi.10.1186/s12302-021-00474-2> (accessed: 18.03.23).
72. Harrison E.N. Perfluoro-*n*-decanoic acid: induction of peroxisomal beta-oxidation by a fatty acid with dioxin-like toxicity / E.N. Harrison, J.S. Lane, S. Luking et al. // *Lipids.* – 1988. – V. 23. – № 2. – P. 115–119.
73. Hasan S.M. Effect of Lead Toxicity on Liver of Male Albino Mice Ultrastructural Study / S.M. Hasan // *Kufa Med. Journal.* – 2011. – V. 14. – № 1. – P. 214–220.
74. Hruban Z. Diffuse nodular hyperplasia and fibrosis of the liver in lead-poisoned mandrills / Z. Hruban, T. Meehan, R.L. Wollmann et al. // *J. Med. Primatol.* – 1986. – V. 15. – № 4. – P. 245–258.
75. Hu K. Metabolism of polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins by rat liver microsomes / K. Hu, N.J. Bunce // *J. of Biochemical and Molecular Toxicology.* – 1999. – V. 13. – № 6. – P. 307–315.
76. Islam Z. T-2 toxin induces thymic apoptosis in vivo in mice / Z. Islam, M. Nagase, T. Yoshizawa et al. // *Toxicol Appl Pharmacol.* – 1998. – V. 148. – № 2. – P. 205–214.
77. Kaczynska K. Ultrastructural changes in lung tissue after acute lead intoxication in the rat / K. Kaczynska, M. Walski, M. Szereda-Przestaszewska // *J. Electron. Microsc.* – 2011. – V. 60. – № 4. – P. 289–294.

78. Kravchenko L.V. Effect of T-2 toxin on organ ultrastructure and organelle-specific enzyme activity in rats / L.V. Kravchenko, S.I. Khvyliya, L.I. Avren'eva et al. // *Tsitologiya*. – 1983. – V. 25(11). – P. 1264–1269.

79. Lee C.A. 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin induction of cytochrome P450-dependent arachidonic acid metabolism in mouse liver microsomes: evidence for species-specific differences in responses / C.A. Lee, B.R. Kerkvliet, A.B. Rifkind // *Toxicol. appl. Pharmacol.* – 1998. – Nov. – 153 (1). – P. 1–11.

80. Legare M.E. Low-level lead exposure in cultured astroglia: identification of cellular targets with vital fluorescent process / M.E. Legare, R. Barhomi, R.S. Burghart // *Neurotoxicol.* – 1993. – V. 14 (2–3). – P. 267–272.

81. Lei Y. Cellular responses to T-2 toxin and/or deoxynivalenol that induce cartilage damage are not specific to chondrocytes / Y. Lei, Z. Guanghui, W. Xi et al. // *Scientific Reports*. – 2017. – V. 7. – Article number: 2231. – URL: <https://nature.com/articles/s41598-017-02568-5> (accessed: 17.03.2023).

82. Loretta L.C. Opanashuk 2,3,7,8-Tetracholorodibenzo-p-Dioxin Exposure Disrupts Granule Neuron Precursor Maturation in the Developing Mouse Cerebellum / L.C. Loretta, A.M. Williamson, B.D. Thompson et al. // *Toxicological sciences*. – New York. – 2008. – 103(1). – P. 125–136.

83. Ma L. Zearalenone induces mitochondria-associated endoplasmic reticulum membranes dysfunction in piglet Sertoli cells based on endoplasmic reticulum stress / L. Ma, S. Hai, C. Wang, C. Chen et al. // *Ecotoxicology and Environmental Safety*. – 2023. – V. 254. – URL: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2023.114710> (accessed: 17.03.23).

84. Mollenhauer H.H. Ultrastructural lesions induced by T-2 toxin in mice / H.H. Mollenhauer, D.E. Corrier, R.E. Droleskey // *J. Submicrosc. Cytol. Pathol.* – 1989. – V. 21. – № 4. – P. 611–617.

85. Nault R. Lipidomic evaluation of aryl hydrocarbon receptor-mediated hepatic steatosis in male and female mice elicited by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. / R. Nault, K.A. Fader, T.A. Lydic, T.R. Zacharewski // *Chem. Res. Toxicol.* – 2017. – V. 30 (4). – P. 1060–1075. – URL: <https://doi.org/10.1021/acs.chemrestox.6b00430> (accessed: 17.03.23).

86. Navarro-Moreno L.G. Effects of lead intoxication on intercellular junctions and biochemical alterations of the renal proximal tubule cell / L.G. Navarro-Moreno, M.A. Quintanar-Escorza, S. González et al. // *Toxicol In Vitro*. – 2009. – V. 23. – № 7. – P. 1298–1304.

87. Nayakwadi S. Toxicopathological studies on the effects of T-2 mycotoxin and their interaction in juvenile goats / S. Nayakwadi, R. Ramu, A.K. Sharma et al. // *PLoS One*. – 2020. – V. 15(3). – URL: <https://doi.10.1371/journal.pone.0229463> (accessed: 17.03.23).

88. Neri T. The differentiation of cardiomyocytes from mouse embryonic stem cells is altered by dioxin / T. Neri, V. Merico, F. Fiordaliso et al. // *Toxicol. Lett.* – 2011. – May 10. – 202(3) – P. 226–236.

89. Obremski K. The effect of T-2 toxin on percentages of CD4+, CD8+, CD4+CD8+ and CD21+ lymphocytes, and mRNA expression levels of selected cytokines in porcine ileal Peyer's patches / K. Obremski, P. Podlasz, M. Żmigrodzka, A. Winnicka // *Pol. J. Vet. Sci.* – 2013. – V. 16. – P. 341–349.

90. Przybylska-Gornowicz B. The Effects of Deoxynivalenol and Zearalenone on the Pig Large Intestine. A Light and Electron Microscopy Study / B. Przybylska-Gornowicz, B. Lewczuk, M. Prusik et al. // *Toxins*. – 2018. – V. 10(4). – P. 148. – URL: <https://doi.org/10.3390/toxins10040148> (accessed: 17.03.23).

91. Rainey N.E. Synergistic cellular effects including mitochondrial destabilization, autophagy and apoptosis following low-level exposure to a mixture of lipophilic persistent organic pollutants / N.E. Rainey, A. Saric, A. Leberre // *Scientific Reports*. – 2017. – 7(1). – URL: <https://doi:10.1038/s41598-017-04654-0>. (accessed: 03.02.23).

92. Russo M.A. Localization of lead in the kidney and liver of rats treated in vivo with lead acetate: ultrastructural studies on unstained sections / M.A. Russo, S.C. Kapoort, G.D. Van Rossumt // *Br. J. exp. Path.* – 1988. – V. 69. – P. 221–234.

93. Sakamoto M.K. Apoptosis of the intestinal principal cells of *Xenopus* larvae exposed to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin / M.K. Sakamoto,

S. Mima, T. Tanimura // *J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol.* – 1999. – V. 18. – № 4. – P. 289–295.

94. Sha R. Gestational and lactational exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in mice: Neurobehavioral effects on female offspring / R. Sha, Y. Chen, Y. Wang, Y. Luo // *Sci Total Environ.* – 2021. – URL: <https://doi.10.1016/j.scitotenv.2020.141784> (accessed: 17.03.23).

95. Shadmi A. Kidney lesions from mycotoxins as observed by electron microscope / A. Shadmi, T.N. Nobel // *Ann Rech Vet.* – 1981. – V. 12. – № 1. – P. 75–83.

96. Shadmi A. Electro-microscopic observations of liver lesions after intravenous inoculation of mouldy hay extracts / A. Shadmi, B. Griffel // *Ann Rech Vet.* – 1985. – V. 16. – № 3. – P. 201–212.

97. Sharifi A.M. Effect of chronic lead exposure on pro-apoptotic Bax and anti-apoptotic Bcl-2 protein expression in rat hippocampus in vivo / A.M. Sharifi, S.H. Mousavi, M. Jorjani // *Cell Mol Neurobiol* – 2010. – V. 30. – № 5. – P. 769–774.

98. Shelton K.R. The proteins of lead-induced intranuclear inclusion bodies / K.R. Shelton, P.M. Egle // *J. Biol. Chem.* – 1982. – V. 10. – № 257(19). – P. 11802–11807.

99. Shinozuka J. T-2 toxin-induced apoptosis in lymphoid organs of mice / J. Shinozuka, G. Li, W. Kiatipattanasakul et al. // *Exp. Toxicol. Pathol.* – 1997. – V. 49. – № 5. – P. 387–392.

100. Shinozuka J. T-2 toxin-induced apoptosis in hematopoietic tissues of mice / J. Shinozuka, M. Suzuki, N. Noguchi et al. // *Toxicol. Pathol.* – 1998. – V. 26. – № 5. – P. 674–681.

101. Shokri F. In vitro inhibitory effects of antioxidants on cytotoxicity of T-2 toxin / F. Shokri, M. Heidari, S. Gharagozloo, M. Ghazi-Khansari // *Toxicology.* – 2000. – V. 146. – P. 171–176.

102. Sutunkova M.P. The most important inferences from the Ekaterinburg nanotoxicology team's animal experiments assessing adverse health effects of metallic and metal oxide nanoparticles / M.P. Sutunkova,

L.I. Privalova, I.A. Minigalieva et al. // *Toxicology Reports*. – 2018. – V. 5. – P. 363–376.

103. Sutunkova M.P. Electron microscopy study on the transport of lead oxide nanoparticles into brain structures following their subchronic intranasal administration in rats / M.P. Sutunkova, I.A. Minigalieva, I.G. Shelomencev et al. // *Scientific Reports*. – 2022. – V. 12. – Article number: 19444. – URL: <https://nature.com/articles/s41598-022-24018-7> (accessed: 22.03.23).

104. Venkatesh P.K. Induction of apoptosis by fungal culture materials containing cyclopiazonic acid and T-2 toxin in primary lymphoid organs of broiler chickens / P.K. Venkatesh, S. Vairamuthu, C. Balachandran et al. // *Mycopathologia*. – 2005. – V. 159. – № 3. – P. 393–400.

105. Vidal D. In vitro and in vivo toxicity of T-2 toxin, a *Fusarium* mycotoxin, to mouse peritoneal macrophages / D. Vidal, S. Mavet // *Infect Immun*. – 1989. – V. 57. – № 7. – P. 2260–2264.

106. Wu W.Z. Long-term toxic impact of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin on the reproduction, sexual differentiation, and development of different life stages of *Gobiocypris rarus* and *Daphnia magna* / W.Z. Wu, W. Li, Y. Xu, J.W. Wang // *Ecotoxicol Environ Saf*. – 2001. – V. 48. – № 3. – P. 293–300.

107. Wu D. 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin toxicity in the zebrafish embryo: Local circulation failure in the dorsal midbrain is associated with increased apoptosis / D. Wu, T. Hiroki, Y. Koji, T. Shusaku // *Toxicological Sciences*. – 2002. – V. 69. – № 21. – P. 191–201.

108. Wu D. TCDD disrupts hypural skeletogenesis during medaka embryonic development / W. Dong, D.E. Hinton, S.W. Kullman // *Toxicol. Sci*. – 2012. – V. 125. – № 1. – P. 91–104.

109. Zhang L.M. Lipid Peroxidation and Ultrastructural Modifications in Brain after Perinatal Exposure to Lead and/or Cadmium in Rat Pups / L.M. Zhang, X.Z. Lio, H. Lu et al. // *Biomedical and environmental sciences*. – 2009. – V. 22. – P. 423–429.

*Электронное научное издание  
сетевого распространения*

**Саитов** Вадим Расимович,  
**Сальникова** Марина Михайловна,  
**Голубев** Анатолий Иванович,  
**Кашеваров** Глеб Сергеевич,  
**Иванов** Василий Витальевич,  
**Малютина** Людмила Васильевна,  
**Иванов** Вадим Витальевич

**ИЗМЕНЕНИЯ УЛЬТРАСТРУКТУРЫ ПАРЕНХИМЫ  
ПЕЧЕНИ И ПОЧЕК ЖИВОТНЫХ  
ПОСЛЕ ХРОНИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ  
КСЕНОБИОТИКОВ**

Корректор  
***А.Н. Егорова***

Компьютерная верстка  
***М.А. Ахметова***

Дизайн обложки  
***Р.М. Абдрахмановой***

Подписано к использованию 11.04.2023.  
Гарнитура «Times New Roman».  
Заказ 139/3.

Издательство Казанского университета  
420008, г. Казань, ул. Профессора Нужи́на, 1/37  
тел. (843) 206-52-14 (доп. 1705), 206-52-14 (доп. 1704)

