

---

## СТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ОРГАНИЗМЕ КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ ГЕРБИЦИДОМ 2,4-ДА

С.М. Шакирова<sup>1</sup>, Г.Р. Шакирова<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Башкирский государственный аграрный университет  
ул. 50 лет Октября, 34, Уфа, Россия, 450001

<sup>2</sup>Московская государственная академия  
ветеринарной медицины и биотехнологии им. К.И. Скрябина  
ул. Академика Скрябина, 23, Москва, Россия, 109472

При подострой интоксикации гербицидом 2,4-ДА ЛД 50, при макроскопическом обследовании органов у крыс установлены изменения, свойственные отравлению токсическими веществами. Сердечная мышца и почки дряблые, неравномерной окраски. Легкие красно-розового цвета с участками острого ателектаза. Методами световой и электронной микроскопии нами установлено, что гербицид 2,4-ДА обладает политропным влиянием на организм экспериментальных животных. В миокарде обнаружены очаги некроза, где кардиомиоциты имеют нечеткие контуры и слабую окраску. Структурные изменения сопровождаются увеличением числа инфильтраций лимфоцитов и макрофагов. В почках в связи с некротическими и дистрофическими изменениями канальцев нефронов паренхима органа приобретает сероватую окраску. В легких в стенках средних и мелких бронхов локализовались массивные лимфоцитарные инфильтраты. Межальвеолярная соединительная ткань сильно расширена из-за большого количества лейкоцитов. Во всех изученных органах обнаружены расстройства крово- и лимфообращения.

**Ключевые слова:** миокард, почки, легкие, крысы, ультраструктура, гербицид 2,4-ДА

Пестициды занимают одно из первых мест среди различных загрязнителей окружающей среды. К наиболее эффективным и широко применяемым в России гербицидам относится хлорфеноксигербициды, среди которых ведущее место занимают производные 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты (2,4-Д). Гербицид 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты (2,4-ДА) трансформируется до токсических метаболитов, активирует перекисное окисление липидов, способствует нарушению транспортной и рецепторной функции белков клеточных мембран, понижает активность антиоксидантных мембран, обладает иммуно-, гепато-, нейро-, гонадо-токсичными свойствами [5; 7—9; 12; 13].

**Материалы и методы исследования.** Эксперименты выполнены на 120 белых неинбредных половозрелых крысах массой 180—220 г обоего пола. Условия проведения экспериментов были идентичными для контрольных и опытных групп. Препараты вводились в утренние и дневные часы. Согласно рекомендациям ВОЗ (1993) и другим нормативным документам опыты по изучению токсиканта (2,4-ДА) были поставлены на белых крысах, традиционно используемых в токсикологических экспериментах [3; 4]. Животные были разделены на 2 группы: первая группа — контроль (интактные животные). Вторая группа получала токсикант 2,4-ДА.

Токсикант (2,4-ДА) вводили внутрижелудочно с помощью специального зонда. Контрольные животные получали дистиллированную воду внутрижелудочно в том же объеме, что и при введении соответствующих препаратов.

Для затравки использовали коммерческий препарат гербицида, содержащий диметиламинные соли 2,4-Д — 50%, хлорфенолы — около 2%, в том числе 2,4-дихлорфенол — 0,25%, другие хлорорганические соединения — около 1,5%, включая диоксины в средней концентрации 30 мг/кг, в том числе ТХДД — 1 мг/кг (по данным лаборатории Уфимского АО «Химпром»). Подострое отравление моделировали ежедневным внутрижелудочным введением гербицида в дистиллированной воде в течение 28 дней в дозе 42 мг/кг, что соответствует суммарной дозе 1200 мг/кг, то есть ЛД50 [2; 4; 6].

Для гистологических исследований материал фиксировали в забуференном растворе нейтрального 10%-го формалина. Изготавливали парафиновые срезы толщиной 6—7 мкм. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином.

Для исследования методом трансмиссионной электронной микроскопии кусочки образцов фиксировали в 2,5%-м глутаральдегидном фиксаторе на фосфатном буфере Миллонига в течение 2 часов, после промывания в фосфатном буфере под стереомикроскопом проводили препарирование. Далее кусочки органов дофиксировали в 1%-м буферном растворе четырехоксида осмия в течение 1 часа и заливали в эпоксидную смолу аралдит. Ультратонкие срезы изготавливали на ультрамикротоме LKB-3 и изучали на электронном микроскопе JEM—100S.

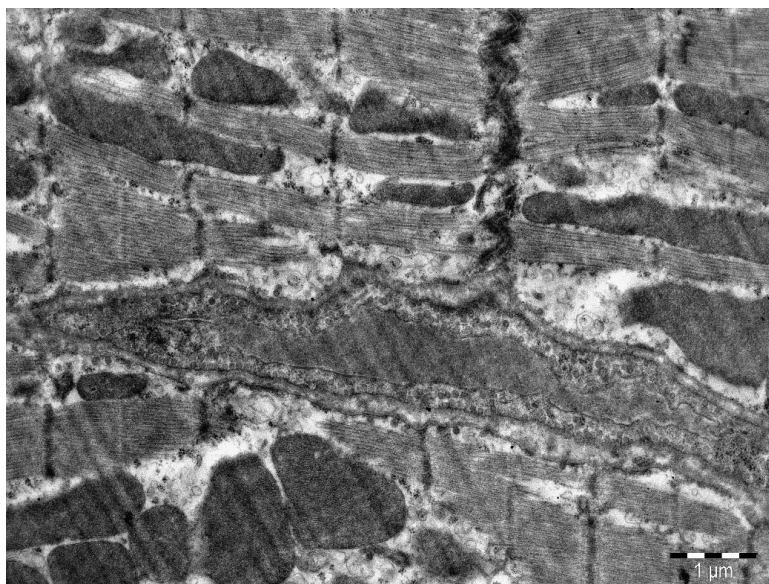
**Результаты исследований.** В миокарде крыс контрольной группы, в центральной части типичного кардиомиоцита расположены 1—2 ядра удлиненной или овальной формы. Периферическую часть цитоплазмы клеток занимают миофибриллы, в которых хорошо видима поперечная исчерченность. Толстые протофибриллы из белка миозина занимают среднюю часть саркомера, а в периферической части сосредоточены тонкие протофиламенты из белка актина. Высокие энергетические потребности миокарда обеспечивает хорошо развитый митохондриальный комплекс. Митохондрии располагаются между миофибриллами, между энергетическим и сократительным аппаратом наблюдается тесная морфофункциональная связь. Гранулярная саркоплазматическая сеть в кардиомиоцитах слабо развита. Рибосомы и полирибосомы располагаются в окооядерной зоне и между миофибриллами. Кардиомиоциты окружены рыхлой соединительной тканью, в которой расположено большое количество кровеносных сосудов. Ядра эндотелиоцитов достаточно часто имеют неправильную форму, содержат крупные ядрышки. В цитоплазме содержится много полисом, протофиламентов и микропиноцитозных везикул.

При макроскопическом обследовании органов у крыс установлены изменения, свойственные отравлению токсическими веществами и наличию симптомов интоксикации. При этом отмечали анемию слизистых оболочек. Печень неравномерно окрашена, с поверхности тусклая, цвет от вишневого до серо-желтого. Сердечная мышца дряблая, неравномерной окраски. Легкие красно-розового цвета с участками острого ателектаза.

Гистологическое исследование миокарда крыс при подострой интоксикации гербицидом 2,4-ДА показали расстройство крово- и лимфообращения, которые сопровождались отеком и декомплексацией кардиомиоцитов, расширением кровеносных капилляров и вен, заполнением их кровью. Отмечалось повреждение внутренней оболочки сердца с образованием многочисленных выступов в полость желудочков и предсердий. В миокарде обнаружены очаги некроза, где кардиомиоциты имеют нечеткие контуры и слабую окраску. В некоторых участках миокарда кардиомиоциты гипертрофированы, а их ядра различаются между собой размерами. Часть ядер увеличивают свой объем и находятся в активном морфофункциональном состоянии. В других клетках отмечается кариопикноз.

В связи с уменьшением количества миофибрилл в клетках слабо выражены поперечная исчерченность и вставочные диски. Эти структурные изменения сопровождаются увеличением числа инфильтраций лимфоцитов, макрофагами.

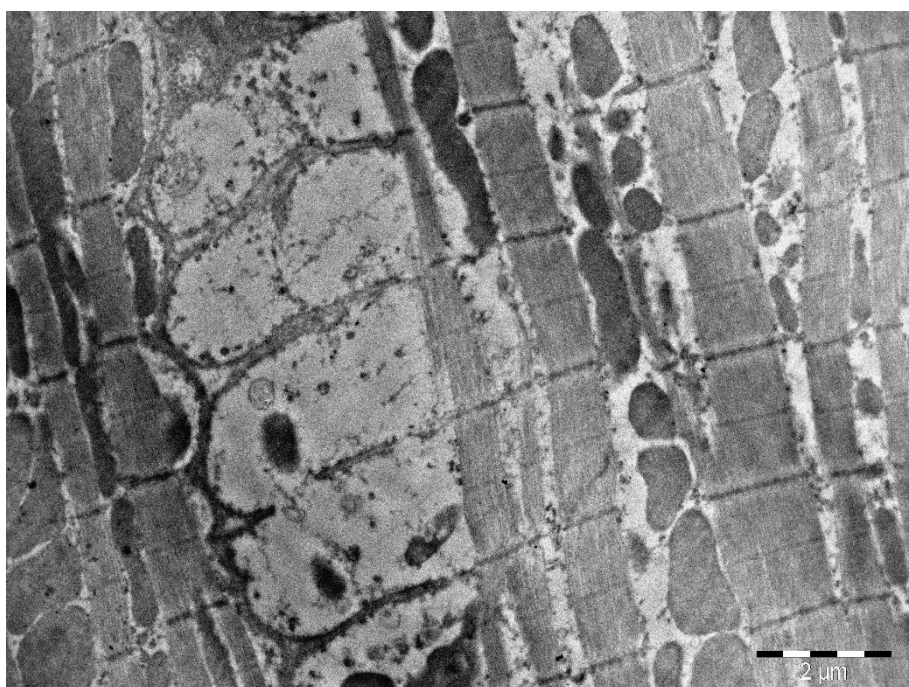
Ультраструктурные исследования показали, что в ряде кардиомиоцитов увеличивается количество митохондрий, как в околоядерной области, так и на периферии цитоплазмы. Митохондрии имеют различные форму и размеры, большинство митохондрий характеризуется высокой электронной плотностью. В некоторых миофибриллах наблюдаются нарушения структурной организации, также характерны участки с внутриклеточным отеком (рис. 2, 3). Нами были обнаружены увеличение отложения осmioфильного материала в области вставочных пластинок, что, вероятно, оказывает влияние на взаимоотношения между кардиомиоцитами (рис. 1). В качестве реактивных изменений можно оценить глубокие инвагинации в ядро и увеличение количества микропиноцитозных везикул в эндотелиоцитах кровеносных капилляров (рис. 4).



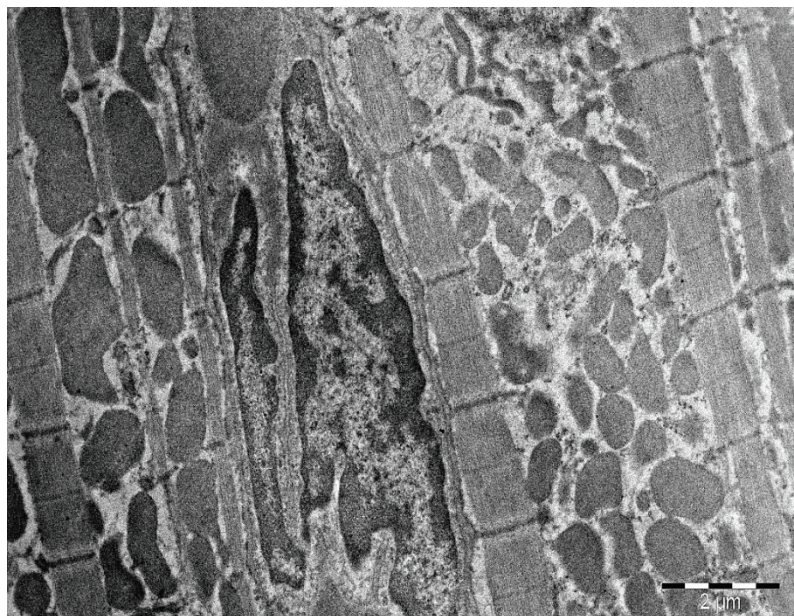
**Рис. 1.** Миокард крысы при интоксикации гербицидом 2,4-ДА.  
Увеличение электронной плотности в области  
вставочного диска в кардиомиоцитах



**Рис. 2.** Миокард крысы при интоксикации гербицидом 2,4-ДА. Внутриклеточный отек в кардиомиоците



**Рис. 3.** Миокард крысы при интоксикации гербицидом 2,4-ДА. Образование бесструктурных зон в кардиомиоците в результате дистрофических изменений миофибрил



**Рис. 4.** Миокард крысы при интоксикации гербицидом 2,4-ДА. Изменение формы ядер эндотелиоцитов в кровеносном капилляре. Компенсаторные изменения в энергетическом аппарате кардиомиоцитов

Таким образом, нами установлено, что повреждающее действие гербицида 2,4-ДА отражается на структурной организации миокарда крыс экспериментальной группы.

В почках наблюдается выраженная гиперемия, которая сопровождается нарушением строения мышечной оболочки стенок артерий и вакуолизацией перинуклеарной области цитоплазмы в гладкомышечных клетках. Данные структурные изменения в стенках кровеносных сосудов негативно влияют на уровень кровоснабжения органа. Вблизи почечной лоханки локализуются значительные лимфоцитарные инфильтрации. В связи с некротическими и дистрофическими изменениями в канальцах нефронов паренхима коркового вещества приобретает сероватую окраску, клетки с нечеткими контурами ядра и цитоплазмы. В почечных тельцах происходит сжатие сосудистых клубочков и внутреннего листка, увеличивается просвет почечного тельца.

В легких крыс после воздействия гербицидом 2,4-ДА у ряда животных наблюдали абсцесс и участки некротизированной ткани легкого, причем размеры и количество очагов некроза варьировали у разных крыс. В собственном слое стенки средних бронхов локализовались массивные лимфогистиоцитарные инфильтраты. Вокруг мелких бронхов также находили плотные скопления гистиоцитов и лимфоцитов со значительным содержанием плазмочитов. В отдельных участках легких стенки альвеол истончены, альвеолы объединяются в более крупные воздушные полости, общая поверхность их уменьшается, что оказывает отрицательное влияние на уровень вентиляции органа. В просвете альвеол и бронхов различного калибра наряду со слущенными эпителиоцитами выявляются лейкоциты.

Межальвеолярная соединительная ткань сильно расширена из-за большого количества лимфоцитов, макрофагов, плазмоцитов, эозинофилов и тучных клеток. Кровеносные сосуды гиперемированы. Изменение структурной организации легких свидетельствует о глубоких нарушениях функции органа.

Таким образом, нами установлены значительные деструктивные изменения в миокарде, в почках и в воздухоносной и респираторной частях легкого при подострой интоксикации гербицидом 2,4-ДА, что снижает уровень газообмена в организме, отрицательно влияет на функциональную деятельность сердечно-сосудистой и мочевыделительной систем.

Установлено значение изменений перекисного окисления липидов (ПОЛ) как общего звена нарушений состояний биологических мембран, биоэнергетики и метаболизма, определяющих тяжесть интоксикации. Одним из доказательств участия ПОЛ в патогенезе интоксикаций является защитная эффективность антиоксидантов [11].

В наших исследованиях в миокарде установлены расстройство крово- и лимфообращения, которые сопровождались отеком кардиомиоцитов. Согласно исследованиям В.А. Мышкина [11], при отравлении карбофосом постинтоксикационные изменения морфологических показателей (объем цитоплазмы, ядра, ядерно-цитоплазменное отношение) кардиомиоцитов, содержание в них ферментов СДГ, ЛДГ и усиление процесса перекисного окисления липидов развиваются параллельно.

В патогенезе интоксикаций различными химическими веществами важную роль играет гипоксия (ишемия). М.В. Биленко [1] показано, что при ишемическом повреждении на клеточном уровне в результате нарушения структуры и функций митохондрий возникают условия для активации процесса ПОЛ в органах. Они способствуют усилению  $O^2$ -радикалгенерирующих систем и выработки активных форм кислорода, которые затем инициируют процесс ПОЛ в мембранах.

А.Ф. Каюмовой [7] проведено изучение характера накопления и патоморфологического изменения внутренних органов при введении разных доз 2,4-ДА. Ею выявлено, что 2,4-ДА обладает способностью легко проникать практически во все ткани организма и метаболизироваться в них. Интоксикация у крыс вызывает обширные морфофункциональные нарушения тканей различных органов, характеризующиеся альтерацией и нарушением тканевого метаболизма, иммунного воспаления в местах отложения 2,4-ДА, которые имели прямопропорциональную зависимость от вводимой дозы препарата. В легких экспериментальных крыс развивается межуточная пневмония. На фоне венозного застоя в легких наблюдаются участки геморрагического инфаркта с кровоизлиянием в альвеолы. Автор приходит к заключению, что состояние системы крови тесно взаимосвязано с патоморфологическими изменениями внутренних органов, вызванных интоксикацией 2,4-ДА.

**Заключение.** Нами установлено, что гербицид 2,4-ДА обладает политропным влиянием на организм экспериментальных животных. В миокарде обнаружены очаги некроза, где кардиомиоциты имеют нечеткие контуры и слабую окраску. Структурные изменения сопровождаются увеличением числа инфильтраций лим-

фоцитов и макрофагов. В почках в связи с некротическими и дистрофическими изменениями в канальцах нефронов паренхима органа приобретает сероватую окраску. В легких у разных крыс очаги некроза варьировали. В стенках средних и мелких бронхов локализовались массивные лимфоцитарные инфильтраты. Межальвеолярная соединительная ткань сильно расширена из-за большого количества лимфоцитов, макрофагов, плазматиков, эозинофилов и тучных клеток. Во всех изученных органах обнаружены расстройства крово- и лимфообращения.

© Шакирова С.М., Шакирова Г.Р., 2016

### **БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК**

- [1] Биленко М.В. Ишемические и реперфузионные повреждения органов. М.: Медицина, 1989.
- [2] Буслович С.Ю. Влияние на организм гербицидов — хлорпроизводных феноксиуксусной кислоты // Здравоохранение Беларуси. 1963. № 9. С. 41—45.
- [3] Галимов Ш.Н. Гормонально-метаболические механизмы нарушения мужской репродуктивной функции при экспериментальной интоксикации диоксинсодержащим гербицидом 2,4-ДА: Автореф. дисс. ... д-ра мед. наук. Уфа, 2000.
- [4] Елизарова О.Н. Определение пороговых доз промышленных ядов при пероральном введении. М.: Медицина, 1971.
- [5] Жамсаранова С.Д., Лебедева С.Н., Ляшенко В.Л. Иммунодепрессивные эффекты, вызванные гербицидом 2,4-ДА в организме мышей // Гигиена и санитария. 1987. № 5. С. 80.
- [6] Иммунотропные эффекты феноксигербицидов / Э.А. Имельбаева, С.Н. Теплова, Ф.Х. Камиллов, Б.Х. Ахметова. Уфа: БГУ, 2000.
- [7] Каюмова А.Ф. Нарушения в системе крови, вызванные гербицидом — аминной солью 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты: Автореф. дисс. ... докт. мед. наук. Челябинск, 1996.
- [8] Медведь Л.И. Справочник по пестицидам. Киев: Урожай, 1974.
- [9] Муфазалова Н.А. Фармакологическая коррекция иммуно- и гепатотоксических эффектов ксенобиотиков: автореф. дисс. ... д-ра мед. наук. Уфа, 2002.
- [10] Муфазалова Н.А., Магазов Р.Ш., Егорова Н.Н., Шакирова Г.Р. и др. Фармакологическая коррекция иммуно-гепатотоксических эффектов ксенобиотиков. Уфа: Иммунопрепарат, 2002.
- [11] Мышкин В.А. Коррекция перекисного окисления липидов при экспериментальных интоксикациях различными химическими веществами: Автореф. дисс. ... докт. мед. наук. Челябинск, 1998.
- [12] Шакирова Д.М. Динамика морфометрических показателей нейронов чревного сплетения крыс при интоксикации гербицидом 2,4-ДА и коррекции токоферолом и Т-активным // Современные направления инновационного развития ветеринарной медицины, зоотехнии и биологии. Мат. Всерос. науч.-практич. конф. с междунар. участием, посвящ. памяти д.вет.н., профессора Х.Х. Абдюшева. С. 175—179.
- [13] Шакирова Г.Р., Имашев А.В., Шакирова С.М. Ультраструктура семенников крыс при интоксикации гербицидом 2,4-Д и лечении Т-активином и токоферолом. Интеграция аграрной науки и производства: состояние, проблемы и пути решения. Материалы Всерос. науч.-практич. конф. с международным участием в рамках 18 Международ. спец. выставки Агрокомплекс 2008. Ч. 9. С. 157.

## STRUCTURAL CHANGES IN RATS ORGANISM IN EXPERIMENTAL INTOXICATION WITH HERBICIDE 2,4-DA

S.M. Shakirova<sup>1</sup>, G.R. Shakirova<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Bashkir State Agrarian University  
50 years of October str., 34, Ufa, Russia, 450001

<sup>2</sup>Moscow State Academy of Veterinary Medicine  
and Biotechnology named after K.I. Skryabin  
Scriabin str., 23, Moscow, Russia, 109472

In subacute toxicity herbicide 2,4-DA LD50, in the macroscopic examination of organs in rats set changes inherent poisoning by toxic substances. Heart muscle and kidneys flabby, uneven coloring. Lung red-pink color with areas of acute atelectasis. By light and electron microscopy, we found that the herbicide 2,4-DA has polytropic effect on experimental animals. In the myocardium revealed foci of necrosis where cardiomyocytes have fuzzy outlines and poor color. Structural changes are accompanied by an increase in the number of infiltration of lymphocytes and macrophages. In the kidneys due to necrotic and degenerative changes in the tubules of nephrons organ's parenchyma becomes grayish color. In the walls of medium and small bronchi of lung localized massive lymphocytic infiltration. The interalveolar septum tissue greatly expanded due to the large number of white blood cells. In all investigated organs disorders found blood and lymph circulation.

**Key words:** myocardium, kidney, lungs, rats, ultrastructure, herbicide 2,4-DA

### REFERENCES

- [1] Bilenko M.V. Ishemicheskie i reperfuzionnye povrezhdenija organov. M.: Medicina, 1989.
- [2] Buslovich S.Ju. Vlijanie na organizm gerbicidov — hlorproizvodnyh fenoksiuksusnoj kisloty. *Zdravooohranenie Belarusi*. 1963. № 9. S. 41—45.
- [3] Galimov Sh.N. Gormonal'no-metabolicheskie mehanizmy narushenija muzhskoj reproduktivnoj funkcii pri jeksperimental'noj intoksikacii dioksinsoderzhashhim gerbicom 2,4-DA: Avtoref. diss. d-ra med. nauk. Ufa, 2000.
- [4] Elizarova O.N. Opredelenie porogovyh doz promyshlennyh jadov pri peroral'nom vvedenii. M.: Medicina, 1971.
- [5] Zhamsaranova S.D., Lebedeva S.N., Ljashenko V.L. Immunodepressivnye jeffekty, vyzvannye gerbicom 2,4-DA v organizme myshej. *Gigiena i sanitarija*. 1987. № 5. S. 80.
- [6] Imel'baeva Je.A., Teplova S.N., Kamilov F.H., Ahmetova B.H. Immunotropnye jeffekty fenoksi-gerbicom. Ufa: BGU, 2000.
- [7] Kajumova A.F. Narushenija v sisteme krovi, vyzvannye gerbicom — aminnoj sol'ju 2,4-dihlorfenoksiuksusnoj kisloty. Avtoreferat diss. dokt. m.n. Cheljabinsk, 1996.
- [8] Medved' L.I. Spravochnik po pesticidam. Kiev: Urozhaj, 1974.
- [9] Mufazalova N.A. Farmakologicheskaja korrekcija immuno- i gepatotoksicheskikh jeffektov ksenobiotikov. Avtoref. diss. d-ra med. nauk. Ufa, 2002.
- [10] Mufazalova N.A., Magazov R.Sh., Egorova N.N., Shakirova G.R. i dr. Farmakologicheskaja korrekcija immuno-gepatotoksicheskikh jeffektov ksenoiotikov. Ufa: Immunopreparat, 2002.
- [11] Myshkin V.A. Korrekcija perekisnogo okislenija lipidov pri jeksperimental'nyh intoksikacijah razlichnymi himicheskimi veshhestvami. Avtoref. diss. dokt. med. nauk. Cheljabinsk, 1998.
- [12] Shakirova D.M. Dinamika morfometricheskikh pokazatelej nejronov chrevnogo spletenija kryz pri intoksikacii gerbicom 2,4-DA i korrekcii tokoferolom i T-aktivnom. *Sovremennye napravlenija innovacionnogo razvitiya veterinarnoj mediciny, zootehnii i biologii. Mat. Vseros. nauch.-praktich. konf. s mezhdunar. uchastiem, posvjashh. pamjati d.vet.n., professora H.H. Abdjusheva*. S. 175—179.
- [13] Shakirova G.R., Imashev A.V., Shakirova S.M. Ul'trastruktura semennikov kryz pri intoksikacii gerbicom 2,4-D i lechenii T-aktivinom i tokoferolom. *Integracija agarnoj nauki i proizvodstva: sostojanie, problemy i puti reshenija. Materialy Vseros. nauchn. praktich.-konf. s mezhdunarodnym uchastiem v ramkah 18 Mezhdunarod. spec. vystavki Agrokompleks 2008*. Ch. 9. S. 157.