

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ЦИТОМОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СЕЛЕЗЕНКИ КРЫС ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ПЕСТИЦИДОВ

Гонохова М.Н.¹, Бойко Т.В.¹, Ельцова А.А.¹

¹ФГБОУ ВПО «Омский государственный аграрный университет имени П.А. Столыпина», Омск, Россия (644008, Омск, ул. Институтская площадь, 2), e-mail: gonochova@mail.ru

Проведено сравнительное цитоморфологическое исследование селезенки крыс при экспериментальном воздействии пестицидных препаратов. Пестицидные препараты Адвокат® (1-ая опытная) и Инспектор Тотал К® (2-ая опытная) наносили на холку однократно в утренние часы в дозе 100 мг/кг однократно. В ответ на действие пестицидных препаратов, развивается общая неспецифическая адаптационная реакция – «реакция активации», характеризующаяся подъемом активности защитных и регуляторных подсистем организма. При продолжительном действии данных факторов (пестицидов) реакция повышенной активации легко переходит в реакцию переактивации, которая является неспецифической основой предпатологии и патологии, что следует учитывать ветеринарным специалистам при назначении пестицидных препаратов для комплексного лечения животных с иммунопатологией. Результаты наших исследований указывают на то, что оба препарата вызывают реакцию повышенной активации в ответ на применение инсектицидных препаратов в повышенных дозах, при этом Инспектор Тотал К® в большей степени изменяет цитологическую картину селезенки.

Ключевые слова: пестициды, селезенка, цитоморфология, Инспектора Тотал К®, Адвокат®.

THE COMPARATIVE CYTOMORPHOLOGICAL CHARACTERISTIC OF THE SPLEEN OF RATS AT INFLUENCE OF PESTICIDES

Gonokhova M.N.¹, Boiko T.V.¹, Eltsova A.A.¹

¹Omsk State Agrarian University n.a. P.A. Stolypin, Omsk, Russia (644008, Omsk, Institutskaya Square St., 2), e-mail: gonochova@mail.ru

Comparative cytomorphological research of a spleen of rats at experimental influence of pesticidal preparations is conducted. The pesticidal preparations Advokat® (the 1st skilled) and the Inspector Total K® (the 2nd skilled) put on withers once in the morning in a dose of 100 mg/kg once. In reply to action of pesticidal preparations, the general nonspecific adaptation reaction – "activation reaction", being characterized lifting of activity of protective and regulatory subsystems of an organism develops. At long action of these factors (pesticides) reaction of the increased activation easily turns into reaction of reactivation which is a nonspecific basis of prepathology and pathology that veterinary experts should consider at purpose of pesticidal preparations for complex treatment of animals with an immunopathology. Results of our researches specify that both preparations cause reaction of the increased activation in reply to application of insecticidal preparations in the raised doses, thus the Inspector Total K® more changes a cytologic picture of a spleen.

Keywords: pesticides, spleen, cytomorphology, Inspector Total K®, Advokat®.

Введение. В последние годы во многих странах мира, в том числе в ряде регионов России, отмечают рост заболеваемости, связанный с нарушением иммунорегуляторных процессов в организме, которые в свою очередь приводят к росту инфекционных, аллергических, аутоиммунных, лимфопролиферативных и злокачественных заболеваний [1]. При этом одними из опасных загрязнителей объектов окружающей среды считают пестицидные препараты [3, 4, 5]. Тем не менее в системе интегрированной защиты растений и животных применение пестицидов остается единственно эффективным и экономичным способом предотвращения эпифитотий и массового размножения вредных организмов, что

позволяет предотвратить значительные потери урожая сельскохозяйственных культур, а также профилактировать заболевания, передающиеся эктопаразитами животных. Необходимость преодоления резистентности, экономические и экологические причины способствовали созданию в конце 90-х годов препаратов с «иным» механизмом действия и малыми нормами расхода. Именно этими характеристиками обладают неоникотиноиды – инсектициды и фунгициды, производные 6-хлорникотиновой кислоты [5, 6, 7].

В настоящее время на ветеринарном фармацевтическом рынке активно позиционируются инсектоакарицидные препараты Адвокат® (10% имидаклоприд +2,5% моксидектин, Байер КропСайенс АГ, Германия) и Инспектор Тотал К® (10% фипронил + 1% моксидектин, разработанный НПФ «Экопром» под контролем лаборатории Veterinary Bio UG (Германия)) – комбинированные противопаразитарные средства широкого спектра действия, активные в отношении паразитирующих у собак демодекозных (*Demodex canis*) и саркоптоидных (*Sarcoptes canis*, *Otodectes cynotis*) клещей, блох (*Stenocephalides canis*), вшей (*Linognathus setotus*), власоедов (*Trichodectes canis*), личиночных и половозрелых фаз развития кишечных нематод, включая *Toxocara canis*, *Toxascaris leonina*, *Ancylostoma caninum*, *Ancylostoma tubaeforme*, *Uncinaria stenocephala*, *Trichuris vulpis*, и личиночных форм *Dirofilaria immitis*.

Имидаклоприд, действующее вещество Адвоката®, относится к группе хлорникотиновых инсектицидов (неоникотиноидов), механизм действия которых основан на взаимодействии с никотиновыми ацетилхолиновыми рецепторами членистоногих и нарушении передачи нервных импульсов, что приводит к их гибели. Фипронил – действующее вещество Инспектора Тотал К®, относится к группе фенилпиразольных соединений, механизм действия которых основан на торможении прохождения ионов хлора в ГАМК-зависимых хлоридных каналах членистоногих и нарушении передачи нервных импульсов, что также является причиной их гибели.

Моксидектин является полусинтетическим соединением из группы милбемицинов и входит в состав обоих препаратов. Оказывая стимулирующее действие на выделение гамма-аминомасляной кислоты и связываясь с постсинаптическими рецепторами, моксидектин вызывает нарушение мышечной иннервации, паралич и гибель эктопаразитов и нематод. Включение в состав моксидектина расширяет спектр противопаразитарного действия препаратов.

По степени воздействия на организм Адвокат® и Инспектор Тотал К® относят к умеренно опасным веществам. В рекомендуемых дозах препараты не оказывают местно-

раздражающего, эмбриотоксического, тератогенного, мутагенного и иммунотоксического действия, хорошо «переносятся» животными.

Следует отметить, что в практической деятельности ветеринарные врачи нередко сталкиваются с отравлениями животных противопаразитарными лекарственными средствами, в том числе неоникотиноидами. Публикации зарубежных исследователей также свидетельствуют о существовании проблемы, связанной с применением неоникотиноидов в сельскохозяйственном производстве [8, 9, 10, 11, 12]. При этом изучение влияния неоникотиноидов на иммунную систему является актуальной и практически значимой задачей для ветеринарной медицины, так как позволяет прогнозировать отдаленные эффекты препаратов.

В организме животного и человека селезенке отводится важная защитная функция, которая выражается в захвате и нейтрализации вредных веществ и образовании специфических иммунных тел. Принимая активное участие в формировании клеточного и гуморального иммунитета, изменения цитоморфологической картины в органе могут рассматриваться как критерий их иммунотоксического действия на организм животных.

Цель работы – дать сравнительную цитоморфологическую характеристику селезенки крыс при воздействии токсических доз комбинированных пестицидных препаратов Адвокат® и Инспектор Тотал К®.

Материалы и методы исследования. Эксперимент проводили на половозрелых нелинейных белых крысах самцах (n=15) с массой тела 230-250 г. Содержание, кормление и уход за животными, выведение их из эксперимента осуществляли в соответствии с рекомендациями Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых при экспериментальных исследованиях (2003).

Пестицидные препараты Адвокат® (1-ая опытная) и Инспектор Тотал К® (2-ая опытная) наносили на холку однократно в утренние часы в дозе 100 мг/кг однократно. Взятие материала для исследования проводили через четверо суток после нанесения препаратов. Контролем служили интактные животные, которым на область холки наносили физиологический раствор (группа сравнения, n=5).

Препараты-отпечатки селезенки готовили сразу после убоя животных. После высушивания их фиксировали этиловым спиртом и окрашивали по Романовскому – Гимза в течение 40 минут.

Микрофотосъемку осуществляли на микроскопе Альтами БИО 1Т с цифровой окулярной камерой UCMOS0300KPA. Подсчет клеток осуществляли в 10 полях зрения микроскопа с вычислением процента каждого вида клеток. Статистическую обработку

полученных результатов проводили с помощью пакета прикладных статистических программ STATISTICA 6.0. с использованием непараметрического критерия Mann-Whitney. Различия считали значимыми при $p < 0,05$.

Результаты исследований. Селезенка крыс контрольной группы имела типичный цитологический состав (рис.1). При этом малые формы лимфоцитов преобладали над остальными клетками лейкоцитарного ряда. Эозинофилы и тучные клетки составляли не более 0,4%, плазматические – 3,5% (табл. №1).

Таблица №1– Клеточный состав селезенки крыс

Клетки		Группы		
		Контроль	1-ая опытная группа	2-ая опытная группа
Малые лимфоциты	Me (P ₂₅ ,P ₇₅)	436,0(427,0;449,0)	143(139,0;145,0)	275,0(275,0;279,0)
	P _{m-u}		0,009	0,009
Средние лимфоциты	Me (P ₂₅ ,P ₇₅)	103,0(99,0;104,0)	552,0(446,0;559,0)	346,0(344,0;347,0)
	P _{m-u}		0,009	0,009
Большие лимфоциты	Me (P ₂₅ ,P ₇₅)	74,8(70,0;78,0)	65,8(63,0;68,0)	32,6(30,0;35,0)
	P _{m-u}		0,094	0,009
Нейтрофилы	Me (P ₂₅ ,P ₇₅)	191,6(189,0;193,0)	25,4(22,0;29,0)	27,2(26,0;28,0)
	P _{m-u}		0,009	0,009
Эозинофилы	Me (P ₂₅ ,P ₇₅)	3,6(3,0;4,0)	10,0(8,0;11,0)	33,4(31,0;35,0)
	P _{m-u}		0,009	0,009
Базофилы	Me (P ₂₅ ,P ₇₅)	1,8(1,0;2,0)	0,40(0,00;1,0)	0,6(0,0;1,0)
	P _{m-u}		0,028	0,047
Плазматические клетки	Me (P ₂₅ ,P ₇₅)	35,4(32,0;36,0)	68,4(68,0;69,0)	95,6(92,0;99,0)
	P _{m-u}		0,009	0,009
Ретикулярные клетки	Me (P ₂₅ ,P ₇₅)	146,0(140,0;155,0)	122,6(122,0;124,0)	172,8(172,0;177,0)
	P _{m-u}		0,009	0,009
Моноциты/Макрофаги	Me (P ₂₅ ,P ₇₅)	7,2(6,0;8,0)	11,6(10,0;12,0)	13,0(12,0;14,0)
	P _{m-u}		0,012	0,009

Цитоморфология селезенки крыс опытной группы, обработанных препаратом Адвокат® (1-ая опытная группа), резко отличалась от контрольных значений (рис. 2). Было установлено достоверное повышение количества средних лимфоцитов с рыхлым ядерным хроматином (55%), на фоне увеличения плазматических клеток (6,8%), макрофагов – 1,2 % и эозинофилов – 1 %. Следует отметить достоверно низкое содержание малых форм лимфоцитов, которые составили 14%.

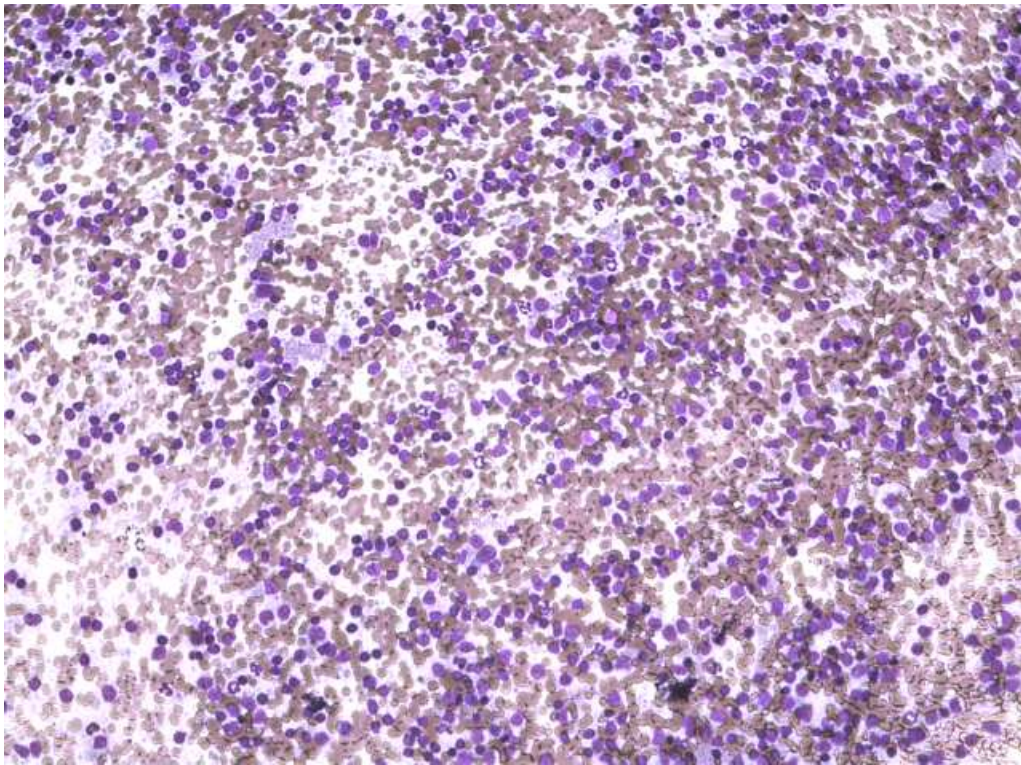


Рис. 1 – Цитоморфология селезенки intactных крыс.

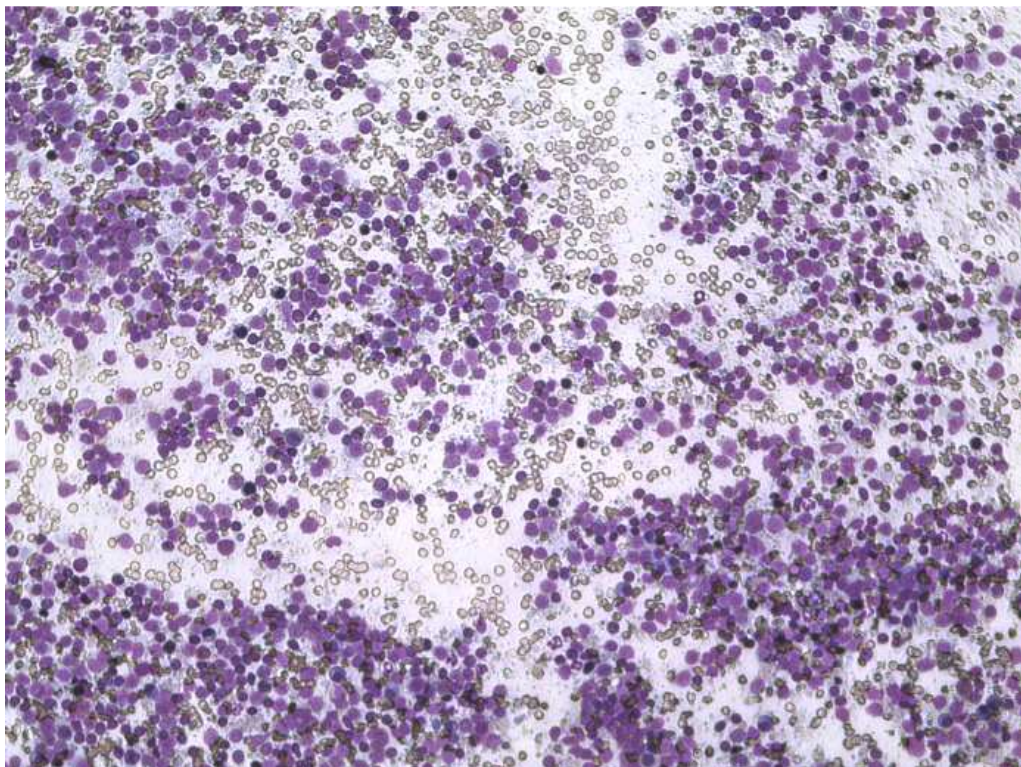


Рис. 2 – Цитоморфология селезенки крыс 1-й опытной группы.

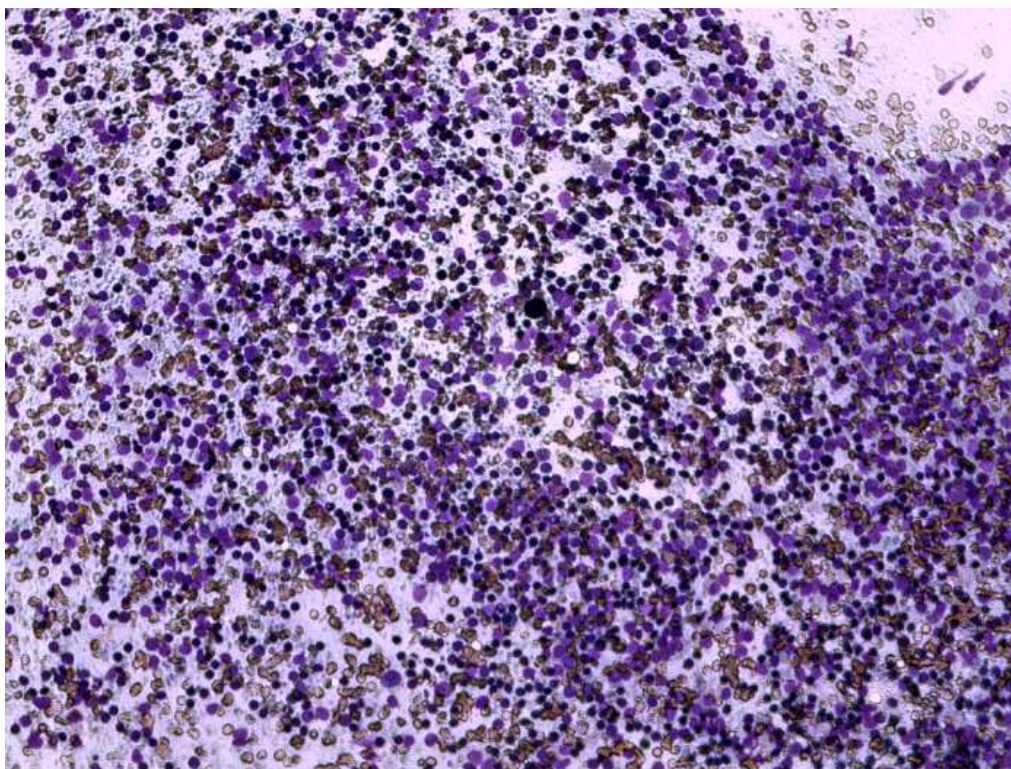


Рис. 3. – Цитоморфология селезенки крыс 2-ой опытной группы.

Морфологический состав селезенки опытной группы животных, обработанных Инспектор Тотал К[®] (2-ая опытная группа), характеризуется повышением количества эозинофилов на фоне достоверного снижения базофилов. Количество средних форм лимфоцитов было достоверно больше, чем в контроле, но ниже, чем в первой группе животных (рис. 3). Достоверно повышалось количество плазматических клеток и макрофагов, что составило 9,6 и 1,3% соответственно.

Согласно общей неспецифической адаптационной теории, в ответ на действие различных по качеству раздражителей, в том числе и пестицидов, развивается «реакция активации», характеризующаяся подъемом активности защитных и регуляторных подсистем организма, которая несет основную антистрессовую функцию. При продолжительном действии данных факторов (пестицидов) реакция повышенной активации легко переходит в реакцию переактивации, которая является неспецифической основой предпатологии и патологии [2], что следует учитывать ветеринарным специалистам при назначении пестицидных препаратов для комплексного лечения животных с иммунопатологией. Результаты наших исследований указывают на то, что оба препарата вызывают реакцию повышенной активации в ответ на применение инсектицидных препаратов в повышенных

дозах, при этом Инспектор Тотал К® в большей степени изменяет цитологическую картину селезенки.

Выводы:

1. Однократное применение противопаразитарных препаратов Адвокат® и Инспектор Тотал К® в токсических дозах изменяет цитологическую картину препаратов-отпечатков селезенки, что свидетельствует о включении ее в реакции иммунного ответа, характер которых зависит от химического строения пестицида.
2. Препараты Адвокат® и Инспектор Тотал К® достоверно увеличивают в селезенке количество активированных лимфоцитов, плазматических клеток, макрофагов и эозинофилов на фоне достоверного снижения малых форм лимфоцитов, что характерно для развития реакции повышенной активации в организме в ответ на действие пестицидов.
3. Результаты исследований могут быть использованы в качестве критерия оценки иммунотоксического действия этих препаратов на организм животных и разработки рациональной фармакокоррекции этих состояний.

Список литературы

1. Бахмет А.А. Лимфоидные структуры селезенки крыс при воздействии стресс-протективных пептидов // Матер. межд. конф., посвящ. 75-летию со дня рожд. проф. Б.А. Никитюка.: Проблемы современной морфологии человека. – М.: МГАФК, 2008. – С. 246-247.
2. Гаркави Л.Х. Антистрессорные реакции и активационная терапия. – М.: Имедис, 1998. – 287 с.
3. Иванов А. В. Состояние здоровья населения на территориях интенсивного применения пестицидов // Гигиена и санитария. – 2005. - №2. – С. 24-27.
4. Омарова З. М. Влияние пестицидов на здоровье детей // Детская больница. – 2011 - №3. – С. 56-59. [Электронный ресурс]. <http://www.rdkb.ru/files/file275.pdf>.
5. Пестициды: угроза реальна / Обзор деятельности неправительственных организаций региона Восточной Европы, Кавказа и Центральной Азии по выявлению несанкционированных запасов устаревших и запрещенных пестицидов. – Москва 2004. – 71 с. [Электронный ресурс]. www.ipen.org/ipenweb/documents/.../pestisidestockpiles_russion.pdf.
6. Agarwal R, Srinivas R. Severe neuropsychiatric manifestations and rhabdomyolysis in a patient with imidacloprid poisoning. Am J Emerg Med. 2007; 25: 844–845.

7. Mohamed F. Acute Human Self-Poisoning with Imidacloprid Compound: A Neonicotinoid Insecticide / Fahim Mohamed, Indika Gawarammana, Thomas A. Robertson, Michael S. Roberts, Chathura Palangasinghe, Shukry Zawahir, Shaluka Jayamanne, Jaganathan Kandasamy, Michael Eddleston, Nick A. Buckley, Andrew H. Dawson, and Darren M. Roberts // FM CP SJ JK. Analyzed the data: FM IG SZ ME DR. Contributed reagents/materials/analysis tools: TAR MSR DR. Wrote the paper: FM IG ME AD NAB DR. Received January 21, 2009; Accepted March 12, 2009.
8. Proenca P, Teixeira H, Castanheira F, Pinheiro J, Monsanto PV, et al. Two fatal intoxication cases with imidacloprid: LC/MS analysis. Forensic Sci Int. 2005; 153: 75–80. [PubMed].
9. See A. M. Toxicity in three dogs from accidental oral administration of a topical endectocide containing moxidectin and imidacloprid / AM. See, Mc Gill SE, Rasis AL, Swindells KL. // Aust Vet J. – 2009 Aug;87(8): 334-7.
10. Tamura M, Endo Y, Kuroki Y, Ohashi N, Yoshioka T, et al. [Investigation and case study of Imidacloprid insecticide caused poisoning]. Chudoku Kenkyu. – 2002; 15: 309-312. [PubMed].
11. Todani M. Acute poisoning with neonicotinoid insecticide acetamiprid / Todani M. Kaneko T, Hayashida H, Kaneda K, Tsuruta R, Kasaoka S, Maekawa T. // Chudoku Kenkyu. 2008 Oct;21(4): 387-90. Advanced Medical Emergency and Critical Care Center, Yamaguchi University Hospital, Japan. [Электронный ресурс]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19069132>.
12. Wu IW, Lin JL, Cheng ET. Acute poisoning with the neonicotinoid insecticide imidacloprid in N-methyl pyrrolidone. J Toxicol Clin Toxicol. 2001; 39: 617–621. [PubMed].

Рецензенты:

Герунова Л.К., д.вет.н., профессор, профессор кафедры диагностики, внутренних незаразных болезней, фармакологии, хирургии и акушерства Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Омский государственный аграрный университет имени П.А. Столыпина», г. Омск.

Конвай В.Д., д.м.н., профессор, профессор кафедры физики и химии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Омский государственный аграрный университет имени П.А. Столыпина», г.Омск.