

9. Kumar B., Joshi H.C., Kumar M. (1984). Clinico-haematological changes in microfilariae affected buffaloes (*Bubalus bubalis*). *Ind. J. Vet. Med.* 4 (1): 45-47.

10. Kumar B. (1980). Clinical studies on microfilariasis in animals with special reference to serodiagnosis and chemotherapy. M.V.Sc. Thesis, G.B. Pant University of Agriculture and Technology, Pantnagar, UP, India.

References

1. Novak M.D., Nikulina O.Yu., Engashev C.V. Metodicheskie polozheniya po diagnostike, lecheniyu i profilaktike babezioza sobak v tsentralnom rayone Rossiyskoy Federatsii // *Rossiyskiy parazitologicheskiy zhurnal*. – 2016. – T. 37. – Vyp. 3. – S. 414-420.

2. Ponamarev N.M., Tikhaya N.V., Novikova M.Yu. Epizootologiya babezioza sredi sobak v gorode Barnaule // *Vestnik Altayskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta*. – 2018. – No. 5. – S. 136.

3. Ponamarev N.M., Novikova M.Yu., Tikhaya N.V. Osobennosti epizootologii i biokhimicheskie pokazateli sobak pri babezioze v g. Barnaule // *Rossiyskiy parazitologicheskiy zhurnal*. – 2020. – T. 14 (2). – S. 46-52.

4. Skornyakova O.O. Epizotologicheskie osoben-nosti babezioza sobak v Kirovskoy oblasti // *Rossiyskiy parazitologicheskiy zhurnal*. – 2015. – No. 4. – S. 61-65.

5. Belomytseva E.S., Safiullin R.T. Effektivnost primeneniya preparatov diprokarb pri babezioze plotoyadnykh v Moskve i Moskovskom regione // *Rossiyskiy parazitologicheskiy zhurnal*. – 2017. – T. 40 (2). – S. 183-187.

6. Belimenko V.V. Babezioz sobak v Orenburgskoy i Moskovskoy oblastiakh: avtoref. dis. ... kand. vet. nauk. – Moskva, 2008. – 35 s.

7. Vasilevich F.I., Motoshin A.V. Biokhimicheskie aspekty patogeneza pri babezioze krupnogo rogatogo skota // *Rossiyskiy parazitologicheskiy zhurnal*. – 2008. – No. 2. – S. 56-58.

8. Katalog veterinarnykh preparatov kompanii «Invesa». – Moskva, 2012. – 96 s.

9. Kumar B., Joshi H.C., Kumar M. (1984). Clinico-haematological changes in microfilariae affected buffaloes (*Bubalus bubalis*). *Ind. J. Vet. Med.* 4 (1): 45-47.

10. Kumar B. (1980). Clinical studies on microfilariasis in animals with special reference to serodiagnosis and chemotherapy. M.V.Sc. Thesis, G.B. Pant University of Agriculture and Technology, Pantnagar, UP, India.



УДК 57.012.4:612.359: 599.323.45:613.648.4+661.723

К.В. Перфилова, М.М. Сальникова,
В.Р. Саитов, Ф.З. Баймухаметов, В.В. Иванов
K.V. Perfilova, M.M. Salnikova,
V.R. Saitov, F.Z. Baymukhametov, V.V. Ivanov

ЭЛЕКТРОННАЯ МИКРОСКОПИЯ КЛЕТОК ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ ВЛИЯНИИ ГАММА-ЛУЧЕЙ И 2,3,7,8-ТХДД

ELECTRON MICROSCOPY OF RAT LIVER CELLS UNDER THE INFLUENCE OF GAMMA RADIATION AND 2, 3, 7, 8-TCDD

Ключевые слова: крысы, диоксин, гепатоциты, ядро, хроматин, митохондрии, гликоген, эндоплазматический ретикулум, пероксисомы.

Влияние на биосферу различных опасных агентов, в том числе совместное, представляют серьезную угрозу здоровью человека и животных. В этом отношении комбинированное воздействие поллютантов разнообразного происхождения может приводить к серьез-

ным последствиям и быть причиной разносторонних, ранее не наблюдавшихся патологических процессов. В настоящее время из-за бурного развития различных отраслей народного хозяйства совместное влияние на биоценозы сразу нескольких веществ, зачастую патогенных, становится обыденным явлением. В подобных условиях очень важным для передовой мировой науки считается умение предвосхитить возможный сценарий пагубного одновременного воздействия комбинации

различных вариантов опасных соединений на уровне биологического организма. Подобные знания также важны для подбора и разработки лечебно-профилактических средств при комбинированных воздействиях поллютантов. Очень важным подспорьем в естественнонаучных изысканиях занимают морфологические и особенно ультраструктурные исследования. Именно на подобном уровне возможна объективная визуализация патологических процессов в органоидах клеток. Целью данной работы явилось изучение влияния ионизирующего излучения и диоксина на гепатоциты крыс и выявление возможных цитологических изменений в печени. В группе биологического контроля ядра гепатоцитов характерной округлой формы с хроматином средней электронной плотности. Четко визуализируются ядерные поры. Митохондрии с плотным матриксом и кристами в виде пластин, встречаются микротельца, гранулярный эндоплазматический и гладкий эндоплазматический ретикулум. Большое количество гликогена и некоторое количество пероксисом. При патологическом воздействии в пределах одной группы животных в гепатоцитах крыс отмечается нарушение упаковки хроматина, наиболее проявляющееся при комбинации излучения и диоксина. Преобладает глобулярный компонент, кариоплазма просветленная. На фоне комбинированного воздействия ионизирующего излучения в дозе 5 Гр и диоксина в дозе 1/100 ЛД₅₀ не выявлено набухания митохондрий. Отмечается многоядерность гепатоцитов.

Keywords: *rats, dioxin, hepatocytes, nucleus, chromatin, mitochondria, glycogen, endoplasmic reticulum, peroxisomes.*

The impact of various dangerous agents on the biosphere, including their joint action, is a serious threat to

human and animal health. In this regard, combined exposure to pollutants of various origins may lead to serious consequences and cause diverse, previously not observed pathological processes. Nowadays, due to the rapid development of various sectors of the national economy, the combined effect of several substances on the biocenoses, often pathogenic, becomes more common. In this context, it is very important for the cutting-edge world science to be able to anticipate a possible scenario of harmful simultaneous effects of a combination of different variants of dangerous compounds at the level of a biological organism. Such information is also important for the selection and development of therapeutic and preventive measures for combined effects of pollutants. Morphological and especially ultrastructural studies are of great help in natural science research. Only at this level the objective visualization of pathological processes in cell organoids is possible. The goal of this work was to study the effect of ionizing radiation and dioxin on rat hepatocytes and identify possible cytological changes in the liver. In the biological control group, the nuclei of hepatocytes had a distinctive rounded shape chromatin of the average electron density. Nuclear pores were clearly visualized. Mitochondria had a dense matrix and crystals in the form of plates, there were also microbodies, granular endoplasmic and smooth endoplasmic reticulum. There was a large amount of glycogen and a certain amount of peroxisome. In case of pathological exposure within one group of animals, the chromatin packing disorder in rat hepatocytes was observed being most evident in the combination of radiation and dioxin. Globular component was dominant, karyoplasm was clarified. Against the background of combined exposure to ionizing radiation at a dose of 5 Gy and dioxin at a dose of 1/100 LD₅₀, no swelling of the mitochondria was detected. There was multinucleosis of hepatocytes.

Перфилова Ксения Витальевна, аспирант, ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности», г. Казань. E-mail: kse.perf@gmail.com.

Сальникова Марина Михайловна, к.б.н., с.н.с., ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности», г. Казань. E-mail: m_salnikova@mail.ru.

Сайтов Вадим Расимович, д.б.н., с.н.с., ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности», г. Казань. E-mail: sinsavara@yandex.ru.

Баймухаметов Фаниль Заудятович, к.х.н., н.с., ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности», г. Казань. E-mail: sun-terra@mail.ru.

Иванов Вадим Витальевич, д.в.н., зав. отделом ветеринарной эндоскопии, Научно-производственное предприятие ДиАлмед, г. Казань. E-mail: 902290@mail.ru.

Perfilova Kseniya Vitalyevna, post-graduate student, Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety, Kazan. E-mail: kse.perf@gmail.com.

Salnikova Marina Mikhaylovna, Cand. Bio. Sci., Senior Staff Scientist, Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety, Kazan. E-mail: m_salnikova@mail.ru.

Saitov Vadim Rasimovich, Dr. Bio. Sci., Senior Staff Scientist, Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety, Kazan. E-mail: sinsavara@yandex.ru.

Baymukhametov Fanil Zaudyatovich, Cand. Chem. Sci., Staff Scientist, Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety, Kazan. E-mail: sun-terra@mail.ru.

Ivanov Vadim Vitalyevich, Dr. Vet. Sci., Head, Veterinary Endoscopy Dept., Scientific and Production Enterprise DialMed, Kazan. E-mail: 902290@mail.ru.

Введение

По мере роста населения Земли атомная энергетика широко охватывает жизнедеятельность человека. При этом нужно понимать, что некомпетентное ее применение может привести к радиоактивному поражению экосистем планеты. Интоксикация организмов 2,3,7,8-тетрахлордibenзо-пара-диоксином (далее по тексту – 2,3,7,8-ТХДД) также вызывает существенные подвижки как во всем организме, так и на ультратонком уровне [1, 2]. Печень считается радиоустойчивым паренхиматозным органом, но разного рода проявления ионизирующей радиации [3] показывают не только высокую чувствительность печени к облучению, но и значительные нарушения репаративных процессов [4].

Эксперименты, уже осуществленные нами [5, 6], а также обзор достоверных научных изданий показывают, что чаще всего исследования морфологического характера, касающиеся вопросов влияния ионизирующего излучения и 2,3,7,8-тетрахлордibenзо-пара-диоксина на ткани животных затрагивают в основном светооптический уровень [4, 7-9]. Имеющиеся данные, характеризующие трансформацию клеток печени при сочетанном воздействии γ -лучей [10] и поллютантов, не предоставляют исчерпывающей информации по ультраструктуре изучаемых органов животных.

В связи с вышеизложенным можно констатировать, что анализ влияния, в т.ч. совместного, на организм человека и животных γ -излучения и диоксинов весьма насущен для биологических исследований.

Изучение моновоздействия γ -излучения, а также в комбинации γ -лучей с 2,3,7,8-ТХДД на клетки печени крыс составляет **цель** данного исследования.

Материалы и методы исследования

В опыте применялись белые нелинейные крысы массой от 180 до 220 г. Подготовлено три группы животных: 1) биологический контроль; 2) крысы однократно облучались γ -лучами 5 Гр; 3) крысы однократно облучались γ -лучами 5 Гр и получали в течение 45 сут. хроническое отравление диоксином 1/100 ЛД₅₀.

Электронная микроскопия (подготовка материала, съемка) и морфометрия выполнялись по классическим схемам и общепринятым программам [11].

Результаты и их обсуждение

Ультратонкое строение клеток печени крыс биологического контроля характерно для их нативного состояния.

Последствия влияния γ -лучей (5 Гр) на клетки печени. Плотный хроматин в незначительном количестве локализуется на периферии ядра, в срединной области ядерного аппарата выявляется перераспределение хроматина. Это проявляется преобладанием глобулярного компонента и просветлением кариоплазмы. У некоторых гепатоцитов имеются по два ядра. Значительное присутствие гранулярной эндоплазматической сети (далее по тексту – грЭПС) фиксируется вокруг ядер, что визуализируется как уплотненные стопки (локальное слипание мембран) или представлено фрагментами (рис. 1, 2). Множество митохондрий присутствует между эндоплазматическим ретикуломом с остатками крист и без них, при этом матрикс их достаточно плотный. В митохондриях с таким матриксом имеются мелкие плотно-структурированные зерна. Тем не менее у ряда митохондрий присутствует адгезия наружных и внутренних мембран, деструкции наружной оболочки, что говорит о дестабилизации окислительно-восстановительного фосфорилирования и энергетического баланса клеток печени. Количество пероксисом увеличивается за счет накопления перекиси водорода, образующейся при радиоллизе воды, которая детоксифицируется каталазой пероксисом. Структура гиалоплазмы деформируется, отмечается хлопьевидность, гликоген в значительном количестве, единично выявляются большие липидные капли.

Последствия совместного влияния γ -лучей (5 Гр) и 2,3,7,8-ТХДД (1/100 ЛД₅₀) на клетки печени. В ядрах гепатоцитов имеются заметные подвижки в структуре ядерного аппарата – клетки, имеющие два ядра, в том числе сами ядра с количеством 2 и даже 3 ядрышек (рис. 3).

Глобулярный и фибриллярный материал ядрышек не подлежит дифференцировке. В оболочках ядер визуализируется большое количество пор, через последние выделяется отработанное ядерное вещество, накапливающееся около ядер и в цитоплазме. В целом для ядерного хроматина характерна хлопьевидная структура. В значительной степени деструкция касается митохондрий гепатоцитов, происходит полная дестабилизация всех внутренних мембран.

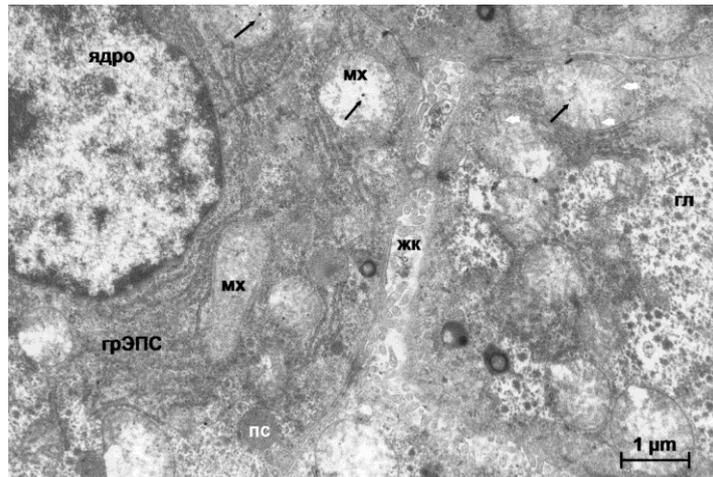


Рис. 1. Изображение части клетки печени экспериментальной крысы (разовое облучение 5 Гр). Стрелками в ряде митохондрий указывается на уплотненные зерна: грЭПС – гранулярная эндоплазматическая сеть; ГЛ – гликоген; ЖК – желчный капилляр, МХ – митохондрия; ПС – пероксисома

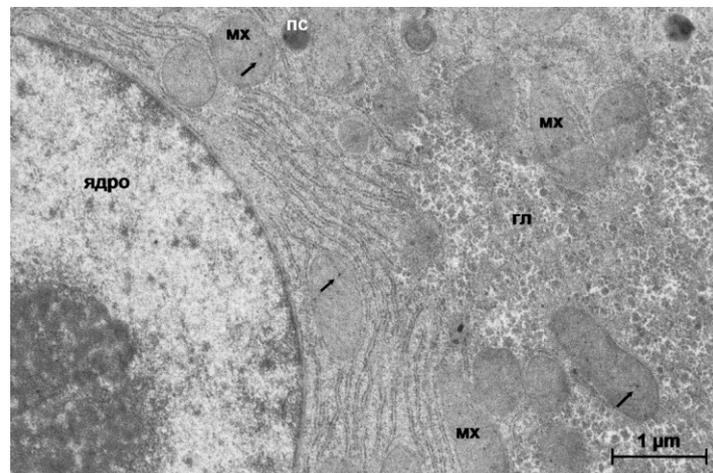


Рис. 2. Изображение части клетки печени экспериментальной крысы (разовое облучение 5 Гр). Стрелками в ряде митохондрий указывается на уплотненные зерна: МХ – митохондрия; ГЛ – гликоген; ПС – пероксисома

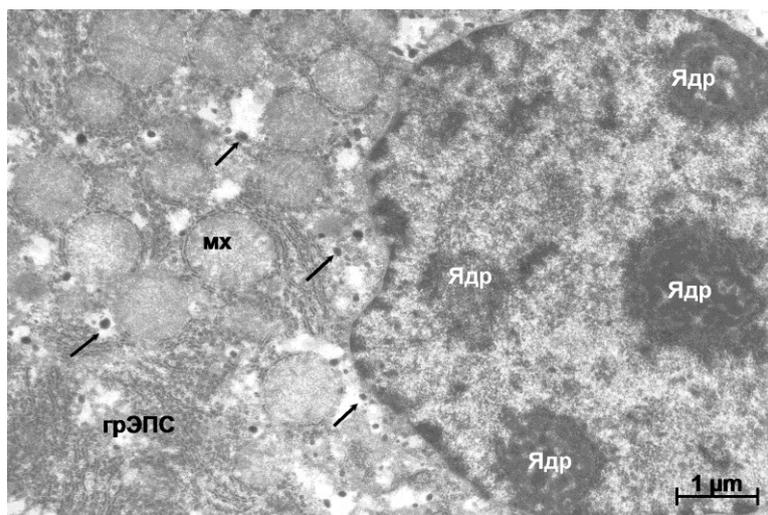


Рис 3. Изображение части клетки печени экспериментальной крысы (разовое облучение 5 Гр и 2,3,7,8-ТХДД 1/100 ЛД₅₀). Стрелками в околядерных участках демонстрируются уплотненные зерна, использованного вещества ядра: грЭПС – гранулярная эндоплазматическая сеть; ЯДР – ядрышко; МХ – митохондрия

Пероксисомы присутствуют, локализуясь около гранулярной эндоплазматической сети. Выявляется деструкция в каналах гранулярной эндоплазматической сети, нарушается котрансляционный транспорт.

Заключение

Для однократного влияния γ -лучей в дозе 5 Гр на ультраструктуру гепатоцитов крыс характерны деструкция хроматина; деление на фрагменты гранулярной эндоплазматической сети; перерождение матрикса митохондрий без признаков набухания с деструкцией мембран; повышение из-за радиолиза воды числа пероксисом.

Электронная микроскопия гепатоцитов крыс по оценке комбинированного влияния γ -лучей (5 Гр) и 2,3,7,8-ТХДД (1/100 ЛД₅₀) выявила более высокий уровень вредоносного воздействия, в т.ч. ряд специфических особенностей. В большей мере нарушаются структуры ядра, вплоть до нарушения синтеза белков. Деструкционные процессы в митохондриях разнообразны, но без проявления набухания, наблюдающегося при отравлениях диоксином. Вместе с тем наличие в печени клеток с несколькими ядрами, видимо, свидетельствует о возможности проявления регенерационных процессов.

Библиографический список

1. Диоксины, тяжелые металлы и микотоксины – проблема экологической безопасности продукции животноводства / В. Р. Саитов, К. Х. Папуниди, Э. И. Семенов [и др.]. – Текст: непосредственный // Актуальные вопросы совершенствования технологии производства и переработки продукции сельского хозяйства: Мосоловские чтения: материалы XX Международной научно-практической конференции. – Йошкар-Ола, 2018. – С. 360-362.
2. Salnikova, M.M. Cytomorphological changes of hepatorenal system of rabbits at the combined poisoning with xenobiotics / M.M. Salnikova, E.G. Gubeeva, V.R. Saitov, K.Kh. Papunidi, I.R. Kadikov, F.A. Sunagatullin, S.Yu. Smolentsev // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. 8 (1). – 2017. – P. 1939-1946.

3. Токин, И. Б. Проблемы радиационной цитологии / И. Б. Токин. – Ленинград: Медицина, 1974. – 317 с. – Текст: непосредственный.

4. Гурьев, Д. В. Особенности регенерации печени крыс Wistar при радиационном воздействии / Д. В. Гурьев. – Текст: непосредственный // Вестник института биологии КНЦ УрО РАН. – 2002. – Вып. 53. – С. 11-13.

5. Влияние диоксида на ультраструктуру клеток различных органов овец в малых дозах / В. Р. Саитов, К. А. Осянин, М. М. Сальникова [и др.]. – Текст: непосредственный // Вестник Новосибирского государственного аграрного университета. – 2011. – № 4. (20). – С. 87-94.

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

7. Петросян, М. С. Радиационно-индуцированные изменения ядрышкового аппарата и маркерных ферментов гепатоцитов / М. С. Петросян. – Текст: непосредственный // Экологический вестник: научно-практический журнал. – 2015. – № 1. – С. 37-43.

8. Сафонова, В. Ю. Влияние ионизирующего излучения в низкой дозе на гистоморфологию печени крыс / В. Ю. Сафонова, В. А. Сафонова. – Текст: непосредственный // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2008. – С. 122-124.

9. Морфологические и биохимические показатели крови овец при хроническом отравлении диоксином / А. В. Иванов, К. Х. Папуниди, И. И. Идиятов, И. Р. Кадиков. – Текст: непосредственный // Ветеринарный врач. – 2012. – № 1. – С. 17-20.

10. Chedid, A., Nair, V. (1975). Ontogenetic Changes in the Ultrastructure of Rat Hepatocyte Organelles after Prenatal X-Irradiation. *Radiation Research*. 62 (1): 123-132.

11. Оценка эффективности ПЛПИ, янтарной кислоты и шунгита при комбинированном воздействии γ -облучения и ацетата свинца на печень крыс цитологическими методами исследования / К. В. Перфилова, Г. Ш. Закирова,

М. М. Сальникова [и др.]. – Текст: непосредственный // Актуальные вопросы совершенствования технологии производства и переработки продукции сельского хозяйства: Мосоловские чтения: материалы Международной научно-практической конференции. – Йошкар-Ола, 2019. – Вып. XXI. – С. 434-437.

References

1. Saitov, V.R. Dioksiny, tyazhelye metally i mikotoksiny – problema ekologicheskoy bezopasnosti produktii zhivotnovodstva / V.R. Saitov, K.Kh. Papunidi, E.I. Semenov, G.V. Konyukhov, K.A. Osyarin, I.R. Kadikov, I.I. Idiyatov // Mat-ly XX Mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii, Mosolovskie chteniya: «Aktualnye voprosy sovershenstvovaniya tekhnologii proizvodstva i pererabotki produktii selskogo khozyaystva». – Yoshkar-Ola, 2018. – S. 360-362.

2. Salnikova, M.M. Cytomorphological changes of hepatorenal system of rabbits at the combined poisoning with xenobiotics / M.M. Salnikova, E.G. Gubeeva, V.R. Saitov, K.Kh. Papunidi, I.R. Kadikov, F.A. Sunagatullin, S.Yu. Smolentsev // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. 8 (1). – 2017. – P. 1939-1946.

3. Tokin, I.B. Problemy radiatsionnoy tsitologii / I.B. Tokin. – Leningrad: Meditsina, 1974. – 317 s.

4. Gurev, D.V. Osobennosti regeneratsii pecheni krys Wistar pri radiatsionnom vozdeystvii / D.V. Gurev // Vestnik instituta biol. KNTs UrO RAN. – 2002. – Vyp. 53. – S. 11-13.

5. Saitov, V.R. Vliyanie dioksina na ultrastrukturu kletok razlichnykh organov ovets v malykh dozakh / V.R. Saitov, K.A. Osyarin, M.M. Salnikova, I.F. Rakhmatullin, I.R. Kadikov, I.I. Idiyatov // Vestnik Novosibirskogo gosudar-

stvennogo agrarnogo universiteta. – 2011. – No. 4. (20). – S. 87-94.

6. Yakovleva, A.I. Izuchenie tsitomorfolologii pecheni krys pri vozdeystvii γ -oblucheniya / A.I. Yakovleva, M.M. Salnikova, V.R. Saitov, G.Sh. Zakirova // Vestnik Mariyskogo gosudarstvennogo universiteta. – 2019. – No. 2. – S. 210-218.

7. Petrosyan, M.S. Radiatsionno-indutsirovannye izmeneniya yadryshkovogo apparata i markernykh fermentov gepatotsitov / M.S. Petrosyan // Ekologicheskii vestnik: nauchno-prakticheskii zhurnal. – 2015. – No. 1. – S. 37-43.

8. Safonova, V.Yu. Vliyanie ioniziruyushchego izlucheniya v nizkoy doze na gistomorfoloгиyu pecheni krys / V.Yu. Safonova, V.A. Safonova // Izvestiya Orenburgskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta. – 2008. – S. 122-124.

9. Ivanov, A.V. Morfologicheskie i biokhimicheskie pokazateli krovi ovets pri khronicheskom otravlenii dioksinom / A.V. Ivanov, K.Kh. Papunidi, I.I. Idiyatov, I.R. Kadikov // Veterinarnyy vrach. – 2012. – No. 1. – S. 17-20.

10. Chedid, A., Nair, V. (1975). Ontogenetic Changes in the Ultrastructure of Rat Hepatocyte Organelles after Prenatal X-Irradiation. *Radiation Research*. 62 (1): 123-132.

11. Perfilova, K.V. Otsenka effektivnosti PLPI, yantarnoy kisloty i shungita pri kombinirovannom vozdeystvii γ -oblucheniya i atsetata svintsa na pechen krys tsitologicheskimi metodami issledovaniya / K.V. Perfilova, G.Sh. Zakirova, M.M. Salnikova, V.R. Saitov, K.Kh. Papunidi // Mosolovskie chteniya: Materialy Mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii (Vypusk XXI) «Aktualnye voprosy sovershenstvovaniya tekhnologii proizvodstva i pererabotki produktii selskogo khozyaystva». – Yoshkar-Ola, 2019. – S. 434-437.

