

На правах рукописи



Стацевич
Людмила Николаевна

**МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ОРГАНОВ У
ПОТОМСТВА КРЫС, ПОСЛЕ ПРИМЕНЕНИЯ САМКАМ
В РАЗНЫЕ СРОКИ ПЛОДОНОШЕНИЯ ПРЕПАРАТА
ВЕСТИН**

16 00 02 – патология, онкология и морфология животных

АВТОРЕФЕРАТ

**диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических
наук**



003066246

Екатеринбург -2007

Работа выполнена на кафедре ВСЭ и патофизиологии ФГОУ ВПО «Новосибирский государственный аграрный университет», в виварии Новосибирского НИИТО, в лаборатории патогистологии ФГОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет»

Научный руководитель кандидат ветеринарных наук, доцент
Реутова Елена Анатольевна

Официальные оппоненты. доктор биологических наук, профессор
Стрижикова Светлана Васильевна

доктор ветеринарных наук, профессор
Ежкова Маргарита Степановна

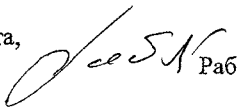
Ведущая организация. Институт ветеринарной медицины ФГОУ
ВПО «Омский государственный аграрный
университет»

Защита состоится 26 октября 2007 г в 14 часов на заседании диссертационного совета Д 220 067 03 в ФГОУ ВПО «Уральская государственная сельскохозяйственная академия» по адресу г Екатеринбург, ул Карла Либкнехта, 42

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке УрГСХА.

Автореферат разослан 14 сентября 2007 г

Ученый секретарь диссертационного совета,
кандидат ветеринарных наук, доцент

 Рабовская Л.А.

1 Общая характеристика работы

Актуальность темы При действии неблагоприятных экологических и антропогенных факторов у беременных животных может существенно нарушаться развитие в системах, которые обеспечивают процессы адаптации в организме плода. Длительность такого воздействия часто приводит к структурным и функциональным изменениям в них, а в последующем, к снижению общей резистентности и развитию заболеваний у новорожденных животных. Поэтому объективная характеристика жизнеспособности животных на разных этапах онтогенеза имеет большое значение для получения здорового потомства и выращивания молодняка (Плященко С И и др., 1982, 1990, 1991, Брусиловский А И, 1987, Цирельников Н И, Цирельникова Т Г, 1987, Сидоров В Т, Трофимов А В, 1990, Волков Г К и др., 1996, Дроздова Л И, Виноградова О В, 2004).

В настоящее время физиологически обосновано существование функциональной системы «мать-плод», в которой имеется строгая взаимосвязь между состоянием материнского организма и развитием структурных компонентов основных систем плода. Многочисленные исследования показали, что заболевания, возникающие в разные периоды постнатального онтогенеза, являются результатом нарушений в организме беременных самок (Гармашева Н Л, 1977, Брусиловский А И, 1987, Tziprel S B, 1994, Лобко П И, 2000, Соколова К Я, 2004). Неблагоприятные условия, в которых находится мать в период «закладки» и дифференцировки органов плода, существенно влияет на «качество» их последующего функционирования и возможность развития иммунодефицитных состояний у потомства (Логинов А Ф, Царегородцева Т М, 1986, Емельяненко П П, 1987, Брусиловский А И, 1987, Беляев Л Л и др., 1987, Сапроненков П М, 1987, Самойлов М В, 1987, Brandtzaeg P, 1990, Сапин М Р, Этинген Л Е, 1996, Карсонова М И, Пинегин Б В, 2003).

Знание особенностей развития структур организма, обеспечивающих его защиту на ранних этапах жизнедеятельности, вызвано потребностью своевременной профилактики и последующей коррекции возникающей возрастной патологии. Тесная взаимосвязь организмов матери и плода, в ФСМП позволяет проводить раннюю профилактику иммунодефицитных состояний посредством введения беременным животным биологически активных препаратов (Мингазов Т А, 1989, Дроздова Л И, 2004).

Из всех лекарственных средств наибольшее внимание, по мнению многих исследователей, заслуживает применение препаратов биологического происхождения, так как они физиологичны и безвредны для организма (Аликин Ю С, 1998, Соколов В Д, 1996, Ноздрин Г А, 1996). Имеется положительный опыт практического применения входящих в эту

группу препаратов нуклеиновой природы в качестве иммунокорректоров (Аликин Ю С , 1998, Воронин Е С , 1989, Ноздрин Г А , 1991, 1992, 1996)

Однако, особенности действия этих препаратов на развитие структурных компонентов отдельных систем обеспечивающих защитные функции у приплода, при их введении беременным самкам выяснены недостаточно и требуют более детального изучения

1.2 Цель и задачи исследований

Целью исследования было изучение особенностей развития органов периферической иммунной системы (лимфоидные образования кишечника, селезенки) и печени у потомства крыс, после введения препарата нуклеиновой природы самкам в разные сроки беременности

Для выполнения цели были поставлены следующие задачи

- изучить динамику морфо-цитометрических показателей структур слизистой оболочки тонкого кишечника у потомства крыс на ранних этапах постнатального онтогенеза после применения препарата Вестин беременным самкам,

- определить динамику морфометрических показателей лимфоидных структур белой пульпы селезенки у потомства крыс на ранних этапах постнатального онтогенеза после применения препарата Вестин беременным самкам,

- изучить особенности морфофункционального состояния печени у потомства крыс после применения препарата Вестин беременным самкам,

- выявить особенности влияния препарата Вестин на рост и развитие потомства

Научная новизна работы

Впервые проведены исследования действия препарата Вестин на систему «мать – плод» в эксперименте на лабораторных животных. На основании комплекса гистологических, гистохимических, морфометрических исследований установлены положительные изменения в структурах слизистой оболочки тонкого кишечника, селезенки, печени у потомства крыс после введения препарата Вестин на ранних и поздних этапах беременности. Выявлена положительная динамика морфологического состава лейкоцитов крови в организме крысят при применении испытуемого препарата. Установлено ростостимулирующее влияние препарата нуклеиновой природы Вестин на потомство лабораторных крыс, после его применения на ранних и поздних этапах беременности. Определены оптимальные сроки введения препарата Вестин беременным самкам.

Теоретическая и практическая ценность работы

Полученные результаты о формировании структур слизистой оболочки тонкого кишечника, лимфоидных образований белой пульпы селезенки, а также структур печени у потомства крыс под влиянием изучаемого препарата, свидетельствуют о положительной динамике

процессов адаптации организма в критические периоды раннего постнатального развития. Препарат Вестин может быть рекомендован для использования в практике в качестве профилактического средства, стимулирующего адаптивные возможности организма потомства на ранних этапах постнатального развития, после его введения на ранних и поздних стадиях беременности.

Результаты проведенных исследований расширяют знания о влиянии препаратов нуклеиновой природы в системе «мать – плод» и могут быть использованы в учебном процессе на ветеринарных, зооинженерных и биологических факультетах, при написании учебных пособий, монографий.

Апробация работы. Основные результаты работы представлены на Международной научно-практической конференции, посвященной 70-летию факультета ветеринарной медицины Бурятской ГСХА - Улан-Удэ, 2005, Международной научной конференции по патофизиологии животных СПбГАВМ, 2006 г, XI Сибирской ветеринарной конференции - Новосибирск, 2006 г, 16-ой Всероссийской научно-методической конференции по патологической анатомии животных – Ставрополь, 2007, XII Международной научно-практической конференции молодых ученых - Красноярск, 2007 г.

Внедрение результатов исследования в практику. Материалы диссертации используются в учебном процессе кафедр анатомии домашних животных Бурятской ГСХА, патологической анатомии и патологической физиологии Уральской академии ветеринарной медицины, акушерства, патанатомии и ВСЭ им Профессора Г.П. Сердцева Якутской ГСХА, анатомии, физиологии и патофизиологии Иркутской ГСХА, морфологии и патологии животных Дальневосточного аграрного университета, анатомии, патанатомии и гистологии Оренбургского ГАУ, анатомии Казанской академии ветеринарной медицины им Н.Э. Баумана, анатомии, цитологии, гистологии и эмбриологии домашних животных института ветеринарной медицины Омского аграрного университета.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 8 печатных работ.

Основные положения, выносимые на защиту.

- динамика морфо-цитометрических показателей структур слизистой оболочки тонкого кишечника у потомства крыс на ранних этапах постнатального онтогенеза после применения препарата Вестин беременным самкам,

- динамика морфометрических показателей лимфоидных структур белой пульпы селезенки у потомства крыс на ранних этапах постнатального онтогенеза после применения препарата Вестин беременным самкам,

- особенности морфофункционального состояния печени у потомства крыс после применения их матерям препарата Вестин,

- влияние препарата Вестин на рост и развитие потомства крыс в опытных и контрольной группах **Объем и структура диссертации.**

Диссертация включает следующие разделы введение, обзор литературы, материалы и методы исследований, а также собственные исследования, выводы, практические рекомендации, список литературы, содержащий 225 источников, из них 25 зарубежных авторов Диссертация изложена на 182 страницах компьютерного текста, иллюстрирована 17 таблицами, 24 рисунками и микрофотографиями.

2. Материалы и методы исследования

Работа выполнена на кафедре ВСЭ и патофизиологии ФГОУ ВПО Новосибирского государственного аграрного университета, на базе vivария Новосибирского научно-исследовательского института травматологии и ортопедии, в лаборатории патогистологии ФГОУ ВПО Новосибирского государственного медицинского университета

Предмет исследования препарат Вестин является индуктором интерферона на основе двуспиральных и однонитевых рибонуклеиновых кислот Вестин обладает способностью индуцировать образование эндогенного интерферона, других цитокинов и лимфокинов, стимулировать гуморальный иммунный ответ и антиген-реактивные Т-лимфоциты, активизировать функцию макрофагов и нейтрофилов Вестин проявляет иммуноадаптивные свойства при совместном использовании с антибактериальными и противовирусными вакцинами, а также обладает ростостимулирующим действием

В опыте использовали крыс-самок линии Вистар с исходной массой тела 210-220 граммов и их потомство в различные сроки постнатального онтогенеза – 5, 15, 20 сутки Сроки исследования потомства были выбраны с учетом общепризнанного подразделения возрастных периодов у крыс период новорожденности 1-5 сутки, подсосный период 6-21 сутки, период полового созревания 21-50 сутки (Западнюк И П 1983)

Для выполнения поставленной цели беременные самки крыс были разделены на 3 опытных и контрольную группы, по 5 самок в каждой Животным 1-й опытной группы на 4 сутки после оплодотворения (соответствует предимплантационному периоду) вводили препарат нуклеиновой природы Вестин в/м однократно, в дозе 0,5 мг/кг Самкам 2-й опытной группы препарат Вестин вводили на 14-е сутки после оплодотворения (период органогенеза) в/м однократно, в дозе 0,5 мг/кг Самкам 3-й опытной группы Вестин вводили в/м однократно, в дозе 0,5 мг/кг на 18 день после оплодотворения (период фетогенеза) В контрольной группе самкам в/м вводили физиологический раствор - 0,05 мл Полученному потомству исследуемый препарат не вводили

Для изучения особенностей развития органов периферической иммунной системы – селезенки и лимфоидных образований тонкого

кишечника, а также печени после применения препарата Вестин в системе мать-плод, использовали потомство крыс Крысят опытных и контрольной групп на 5, 15, 20 день жизни взвешивали с использованием электронных весов марки «Сапа», с последующим определением абсолютного прироста массы по формуле $V = V_2 - V_1$ (где, V_1 – масса в начале периода, г, V_2 – масса в конце периода, г)

Для расчета относительного прироста массы использовали формулу Броди (%)

$$R = \frac{V_2 - V_1}{V_1} \times 100 / 1/2(V_2 + V_1)$$

Для взятия органов потомство умерщвляли, путем декапитации соблюдая «Правила проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приложение к приказу МЗ СССР № 755 от 12 08 1977) С целью выяснения возрастных и органоопических особенностей проводили гистологические, морфометрические, гистохимические исследования участка тонкой кишки и лимфоидные образования в ней, селезенку, а также печень Для анализа динамики роста паренхиматозных органов проводили органометрию – измеряли их длину, ширину и массу (Автандилов Г Г, 2002)

Для гистологического светоптического исследования кусочки органов, изъятые у потомства крыс опытных и контрольной групп, фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина, обезживали и заливали в парафин по общепринятой методике (Сапожников А Г, Доросевич А Е, 2000) Приготовленные срезы толщиной 5-6 мкм для общегистологического исследования окрашивали гематоксилином и эозином, гистохимическими реакциями выявляли РНП - по Браше, полисахариды - ШИК- реакции (Луппа Х, 1980)

На гистологических препаратах тонкого кишечника, селезенки, печени при помощи винтового окуляр микрометра серии АМ-9, проводили морфометрические исследования В гистологических препаратах тонкого кишечника путем морфометрии определяли высоту ворсинок, глубину залегания крипт В зависимости от полученных данных рассчитывали индекс слизистой оболочки Проводили цитокариометрические исследования энтероцитов в средней трети ворсинок, с последующим выведением ЯПО В подслизистой основе определяли степень развития и размеры лимфоидных образований кишечника в разные возрастные периоды у потомства крыс В срезах селезенки измеряли и определяли площадь структур составляющих белую пульпу периартериальную лимфоидную муфту, маргинальную зону, лимфоидные узелки На срезах печени проводили цитокариометрические исследования гепатоцитов с последующим выведением ЯПО, гистохимическими реакциями определяли содержание и распределение гликогена и РНП в гепатоцитах Микропрепараты фотографировали с использованием компьютерной техники с помощью микроскопа «Мотс» со встроенной фотокамерой

Полученные при цитокариометрических исследованиях данные подвергали статистической обработке, с использованием программы «PGN-1» (Наумкин И В, Гарт В В, 1991) Полученные среднеарифметические величины сравнивали с помощью критерия достоверности по Стьюденту

3 Результаты собственных исследований и их анализ

3.1 Гистологическая и морфометрическая характеристика структур тонкого кишечника потомства белых крыс, рожденных от самок получавших препарат Вестин в разные сроки беременности.

Гистологическими исследованиями установлено, что у потомства крыс трех опытных и контрольной групп к 5 суточному возрасту, слизистая оболочка тонкой кишки имеет все основные морфологические структуры, а именно эпителий, собственно слизистый, мышечную пластину и подслизистую основу Слизистая оболочка формирует складки, ворсинки и крипты Кроме того, к этому возрастному периоду в стенке тонкой кишки крыс всех групп различаются мышечная оболочка, состоящая из внутреннего циркулярного и наружного продольного слоев, а также серозная оболочка

Цитометрические исследования энтероцитов ворсинок слизистой оболочки тонкого кишечника крысят экспериментальных групп в 5 суточном возрасте выявили различия показателя ЯПО, связанные с неравномерным увеличением площади ядра и протоплазмы клеток В 1-й опытной группе это проявлялось уменьшением размеров ядра и протоплазмы энтероцитов В 3-й опытной группе при высоком значении ЯПО, преобладал рост площади ядра в сравнении с протоплазмой энтероцитов ворсинок тонкого кишечника Подобные различия цитометрических показателей энтероцитов в этих опытных группах, могут быть связаны с продолжительностью действия биологически активных компонентов препарата на качество развития клеточных структур плода и обеспечением их активности В 1-й опытной группе воздействие продолжалось в течение всего периода беременности, в 3-й опытной группе специфические вещества, образующиеся в организме матери под влиянием препарата, поступали с молозивом У крысят 2-й опытной группы в 5 суточном возрасте, изменения структур слизистой тонкого кишечника характеризовались деструкцией каемчатых энтероцитов при меньших, чем в контроле значениях ЯПО В этом возрасте происходит формирование системы крипта – ворсинка, обеспечивающая не только процессы переваривания и всасывания, но и пролиферацию клеточных структур слизистой оболочки кишечника Морфометрически установлено, что система крипта - ворсинка у потомства опытных групп характеризовалась более глубоким залеганием крипт, при меньшей величине ворсинок, в сравнении с аналогами контроля Самые низкие значения длины имели ворсинки тонкого кишечника у животных 2-й опытной группы ($P < 0,05$)

(табл 2) По данным Л И Аруина (1987), Р I Milla (1988), такие перестройки в тонком кишечнике, характеризуют развитие процессов адаптации

Таблица 1 - Цитометрические показатели эритроцитов тонкого кишечника потомства крыс

показатель	1-я опытная		2-я опытная		3-я опытная		контроль	
	5 дней							
	M±m	Cv (%)	M±m	Cv (%)	M±m	Cv (%)	M±m	Cv (%)
S ядра, мкм ²	254,3±30,6*	65,9	369,4±29,4	43,6	326,4±33,3	55,9	372,2±35,6	52,4
S протопл, мкм ²	656,1±139,3	116,3	809,8±68,7	46,5	550,6±49,7*	49,5	800,9±84,7	57,9
ЯПО	0,6±0,1	54,2	0,5±0,05	54,6	0,7±0,2	118,9	1±0,4	224,7
15 дней								
S ядра, мкм ²	281,4±45	87,7	292,4±35,7	66,9	242,3±33,6	75,9	265,9±25,8	53,2
S протопл, мкм ²	530,7±66,8	68,9	497,6±50,1	55,1	503,6±66,05	71,8	576,9±53,9	51,2
ЯПО	0,5±0,1	54,4	0,6±0,1	56,4	0,6±0,06	60,3	0,5±0,1	53,5
20 дней								
S ядра, мкм ²	254,1±29,9	64,4	364,4±66,2	99,5	522,3±49,2**	51,6	318,2±33,6	57,9
S протопл, мкм ²	554,7±74,5	73,6	605,9±95,5	86,3	1105,5±129,2**	64,01	640,6±75,3	64,4
ЯПО	0,5±0,05	47,5	0,7±0,1	59,7	0,67±0,1	87,9	0,6±0,1	62,7

Примечание где * P<0,05, ** P<0 01 достоверно относительно контроля

При укорочении ворсинок, «нормальная» толщина слизистой оболочки обусловлена увеличением длины крипт, для усиленной пролиферации кишечного эпителия. При наличии структурных нарушений в эритроцитах это необходимо для их восстановления. Учитывая способность препаратов группы нуклеиновых кислот вызывать нормализацию сниженных физиологических показателей, можно предположить, что под их влиянием происходит усиление синтеза структурных и специфических белков для повышения размножения, дифференцировки нарушенных клеточных структур (Земсков А М, 1994).

Введение Вестина оказывает положительное влияние на процесс становления лимфоидных структур слизистой оболочки тонкой кишки. В ранний постнатальный период жизни млекопитающих, развитие и становление структуры и функции иммунной системы слизистой оболочки тонкой кишки осуществляется под влиянием иммуноглобулинов молока, гормонов, нормальной микрофлоры (Norcross N L, 1982, Саркисов Д С, 1982, Щербаков Г Г, 1984, Урбан В П, Найманов И Л, 1984, Абрамов С С, Аристов И П, 1990, Тухтаев К Р, 2003). У потомства крыс всех групп наблюдения к 5-ти суточному возрасту в толще собственной пластинки слизистой оболочки тонкой кишки имеются неравномерные по плотности диффузные скопления лимфобластов, малых и средних лимфоцитов плазмобластов, что по данным И А Долговой (1989) является первым этапом

зрелости лимфоидной ткани. В местах их локализации отмечается расширение собственной пластинки слизистой оболочки тонкой кишки. Также у животных всех групп обнаруживаются компактно сформированные лимфоидные образования, не имеющие четких границ. У крысят 2-й и 3-й групп такие образования имеют большую высоту и протяженность, чем у аналогов 1-й опытной и контрольной групп. У потомства 2-й и 3-й опытных групп, в участках диффузных скоплений лимфоидной ткани, в составе эпителия слизистой оболочки тонкой кишки, обнаруживаются мелкие кровеносные сосуды, а также, межэпителиоцитарные лимфоциты.

На 15-е сутки после рождения у крысят контрольной и опытных групп происходит дальнейшая структурно-функциональная дифференциация клеточных и тканевых структур тонкой кишки. Введение Вестина во время беременности, дает возможность влиять на организм потомства через молозиво – молоко. При этом происходящее увеличение всасывающей поверхности кишечника у крысят опытных групп, способствует лучшему проникновению биологически активных компонентов препарата в организм молодняка и обеспечивает более качественный переход к новым условиям жизни. В 15-ти суточном возрасте изменения в системе крипта – ворсинка были выражены у потомства во всех опытных группах и характеризовали дальнейшее развитие процессов адаптации. При этом отмечалась тенденция роста кишечных крипт. В 1-й опытной группе ворсинки тонкого кишечника имели более низкие, чем в контроле значения длины. У крысят 2-й опытной группы структуры системы крипта – ворсинка были самого маленького размера в сравнении с аналогами как контрольной, так и опытных групп (табл. 2). Проведенные цитохариометрические исследования установили, что к этому возрастному периоду отмечается общая для всех групп тенденция уменьшения площади ядра и протоплазмы энтероцитов. При этом ЯПО энтероцитов у животных 1-й опытной группы возрастало за счет более активного роста ядра. У потомства во 2-й, 3-й опытных и в контрольной группах ЯПО энтероцитов снижалось в результате уменьшения площади протоплазмы (табл. 1).

У крысят 15-ти дневного возраста, как контрольной, так и опытных групп в рыхлой волокнистой соединительной ткани собственной пластинки слизистой оболочки тонкой кишки происходит дальнейшее формирование лимфоидных образований. У потомства 1-й опытной группы и в контроле обнаруживаются единичные лимфоидные узелки. У крысят 2-й и 3-й опытных групп это уже хорошо сформированные лимфоидные образования, имеющие в своем составе по 2- 3 узелка округлой формы. Это может быть связано с более ранним началом формирования этих структур. Размеры этих образований в опытных и контрольной группах достоверно друг от друга не отличаются. Отмечается тенденция увеличения высоты и уменьшения их ширины в сравнении с 5-ти дневным возрастом. Особенно хорошо она прослеживается у крысят 1-й и 2-й опытных групп. В участках локализации

лимфоидных образований наблюдается истончение слизистой оболочки с уплощением ворсинок и уменьшением в них бокаловидных клеток. По данным З.С. Хлыстовой с соавт. (2006) в результате подобных изменений, ослабевают межклеточные связи в эпителиальном пласте, и создается возможность более легкого проникновения лимфоцитов в просвет кишечника. Участки локализации лимфатических фолликулов окружены сосудами микроциркуляторного русла. В лимфоидных образованиях кишечника крысят 1-й и 3-й опытных групп отмечается рост числа малых лимфоцитов, лимфобластов и плазмочитов.

На 20-е сутки у потомства контрольной и опытных групп поверхность крипт и ворсинок выстлана однослойным эпителием, состоящим из призматических энтероцитов, бокаловидных мукоцитов и аргентохромаффиноцитов. Проведенные цитокариометрические исследования показали, что к этому возрастному периоду процессы уменьшения размера энтероцитов сменились их ростом. Энтероциты кишечника потомства 1-й опытной группы имели низкие значения ЯПО, связанные с уменьшением площади ядра и увеличением площади протоплазмы. У крысят 2-й и 3-й опытных групп ЯПО клеток увеличивалось в связи с активным ростом ядра. В контрольной группе подобная тенденция сохранялась (табл. 1). У крысят 1-й и 3-й опытных групп в эпителии ворсинок возрастало содержание бокаловидных мукоцитов имеющих раздутую цитоплазму, а также аргентохромаффиноцитов. Крипты имеют правильную цилиндрическую форму, тесно прилегают друг к другу. Морфометрическими исследованиями установлен значительный рост системы крипта – ворсинка в кишечнике экспериментальных групп. Наибольшая глубина залегания крипт отмечается в слизистой оболочке тонкой кишки крысят 1-й и 3-й опытной группы в сравнении с аналогами контроля. При этом высота ворсинок в контроле и во 2-й опытной группе существенно не отличалась. У животных 1-й и 3-й опытных групп этот показатель был меньше на 19,9% и 18,2% соответственно в сравнении с аналогами контроля (табл. 2). Плавные, без резких скачков структурные преобразования в кишечнике потомства 1-й и 3-й опытных групп, вероятно, были связаны с более ранним чем в контроле развитием адаптационных процессов, которые препятствовали появлению характерных деструктивных изменений в кишечнике в критические периоды раннего постнатального онтогенеза.

Таблица 2 - Морфометрические показатели структур ворсинок тонкого кишечника

показате ль мкм	1-я опытная		2-я опытная		3-я опытная		контроль	
	5 дней							
	M±m	Cv (%)	M±m	Cv (%)	M±m	Cv (%)	M±m	Cv (%)
Высота ворсинок	646,5±101,4	70,2	416,2±54,9*	59	601,6±80,9	60,2	750,3±126,6	75,5
Глубина крипт	216,6±23,2	47,9	221,9±28,1	56,7	211,6±27,8	58,7	185±16,9	40,9
15 дней								
Высота ворсинок	533,8±105	88,5	487,3±88,5	81,2	772,1±83,9	48,6	676,5±91 8	60,7
Глубина крипт	388,7±38,7* **	44,6	249,6±30,7*	55,0 2	324,1±53,9* *	74,4	148,7±24,2	72,7
20 дней								
Высота ворсинок	886,5±119,5	60,3	1105,7±277,3	112,2	905,2±136,3	67,4	1107,2±54,3	21,9
Глубина крипт	523,5±98,2	83,9	381,5±50,9	59,7	407 2±47,2	51,8	400,8±41,8	46,7

Примечание где *P<0,05, **P<0,01, *** P<0,001 достоверно относительно контроля

Во всех экспериментальных группах в рыхлой волокнистой соединительной ткани собственной пластинки слизистой оболочки тонкой кишки находятся сформированные лимфатические фолликулы, имеющие овальную форму и отделяющиеся от окружающих участков волокнами соединительной ткани. У потомства 1-й и 2-й опытных групп обнаруживаются крупные лимфоидные бляшки, состоящие из 2-3 лимфатических узелков, отграниченных друг от друга волокнистой тканью и сосудами микроциркуляторного русла. У крысят 3-й опытной группы в их составе находятся по четыре узелка, вытянутой вверх формы. В контроле лимфоидные фолликулы состоят из 2, реже 3 узелков. Размеры лимфоидных бляшек в кишечнике 2-й и 3-й опытных групп превышали показатели аналогов 1-й опытной и контрольной групп (табл. 3,4). Слизистая оболочка этих участков не имеет ворсинок, а количество бокаловидных клеток в них резко уменьшено. У животных этого возраста в лимфоидных образованиях не обнаруживалось хорошо сформированных герминативных центров. Клеточный состав в основном представлен лимфоцитарными и плазмодитарными клетками, которые локализуются в эпителии ворсинок.

3.2 Морфологические и морфометрические особенности селезенки потомства белых крыс, рожденных от самок получавших препарат Вестин в разные сроки беременности

Динамика морфологических изменений лимфоидных структур селезенки у потомства крыс экспериментальных групп в ранний постнатальный период жизни, направлена на увеличение объема лимфоидной ткани. Клетки лимфоидной системы, в силу присущих им барьерно-фагоцитарных функций способны неспецифически поглощать макромолекулы экзогенных РНК (Бородин Ю И, Сапин М Р, 1992, Борисов А В, 1997). В результате применения их беременным самкам происходит усиление функциональной активности этой системы, что будет оказывать положительное влияние и на дальнейшее развитие структур лимфоидной системы потомства. К 5-ти суточному возрасту, селезенка крысят контрольной и опытных групп состоит из капсулы, красной, белой пульпы и слабо выраженных трабекул. Белая пульпа занимает основную площадь органа в виде диффузно располагающихся скоплений клеток лимфоидного ряда. Возрастной особенностью морфо-функционального состояния селезенки является, то, что в составе периартериальных муфт в подавляющем большинстве случаев обнаруживаются малые и средние лимфоциты. На этой стадии онтогенеза лимфатические фолликулы в селезенке животных 1-й и 3-й экспериментальных групп слабо сформированы, а во 2-й и контрольной группах отсутствуют. Красная пульпа состоит из синусоидных сосудов и хорошо выраженных пульпарных тяжей. У потомства 2-й опытной группы в красной пульпе отмечается значительное расширение синусоидных сосудов, что по данным Л.А. Прасоловой и др. (2004) может быть связано с активными процессами кроветворения. Размеры ПАЛМ у крысят контрольной группы 5-ти суточного возраста превышали показатели аналогов опытных групп. Разница в сравнении с потомством 1-й опытной группы была 38,8%, со 2-й опытной группой – 19,7%. При этом, самыми незначительными были размеры ПАЛМ селезенки крысят 3-й опытной группы, и отличие от аналогов контроля составляло 53,5% (табл 3). Ширина маргинальной зоны селезенки достоверно не отличалась у потомства всех групп. Разница между показателями контроля и 1-й опытной группой составила 4,18%, 2-й опытной группой – 8,2%, 3-й опытной группой – 10,4% (табл 3). Увеличение размеров лимфоидных структур селезенки может быть отражением усиления функций клеточного звена иммунитета на ранних этапах развития.

К 15-ти суточному возрасту в селезенке крысят контрольной и опытных групп хорошо выражены трабекулы, происходит увеличение количества артериальных и венозных сосудов. В этот возрастной период, у животных контрольной группы, белая пульпа занимает значительный объем органа в

виде неоформленных диффузных скоплений клеток лимфоидного ряда В селезенке опытных групп наблюдается группирование клеток в цилиндрические образования, что вероятно связано со специфическим действием Вестина на лимфоидные клетки К этому возрастному периоду, который считается критическим, у животных опытных и контрольной групп происходит увеличение площади ПАЛМ, МЗ у крысят опытных группы Отмечается тенденция снижения показателя площади ПАЛМ в селезенке животных контрольной и 2-й опытной групп ЛУ к этому возрасту у крысят 1-й и 3-й опытных групп уже были сформированы В этот возрастной период происходит увеличение показателя ширины МЗ селезенки, который у потомства всех опытных групп больше, чем у аналогов контрольной группы Разница в сравнении с контролем составила в 1-й опытной группе – 2,2%, 2й – 9,7%, 3-й – 1,1% Эти различия, вероятно, связаны с активацией процесса пролиферации и дифференцировки лимфоцитов и макрофагов, осуществляющихся в МЗ под влиянием нуклеотидов входящих в состав Вестина Воздействие компонентов препарата нуклеиновой природы способно обеспечить пролиферацию клеточных элементов лимфоидной ткани

Таблица 3 - Морфометрические показатели основных структур белой пульпы селезенки

показатель	1-я опытная		2-я опытная		3-я опытная		контроль	
	5 дней							
	M±m	Cv (%)	M±m	Cv (%)	M±m	Cv (%)	M±m	Cv (%)
S ПАЛМ	3199,9 ±1063,5	132,3	4195,3±1514	144,4	2417,3 ±673,1	111,4	5222,9 ±1329,2	101,8
S ЛУ	2941,4 ±591,7	80,5	Не сформированы		3640,9 ±1271,7	139,7	Не сформированы	
Ширина МЗ	52,3±4,5	34,2	46,3±3,9	33,6	44,9±1,9	1,9	50,2±2,9	
15 дней								
S ПАЛМ	3656,7 ±802,7	87,8	3497,6 ±809,7	92,6	3582,1 ±1265,2	141,3	4749±824,3	69,4
S ЛУ	2404±502,9*	83,7	2608,5 ±389,4	62,1	4519,7 ±846,6	74,9	2494,7 ±312,6	50,1
Ширина МЗ	97,2±7,8	32,3	99,3±14,1	56,9	91,5±7,3	31,9	90,5±7,3	32,3
20 дней								
S ПАЛМ	2680,4 ±479,2	71,5	3279,2 ±871,5	106,3	3016±865,9	114,8	2895,6 ±724,9	100,1
S ЛУ	2722,9 ±625,3	91,9	2423,3 ±519,8	85,8	2452,8 ±682,1	111,2	3036,8 ±507,6	66,9
Ширина МЗ	236,2±31,1	52,7	257,6±24,8	38,5	274,3±19,04	27,8	222,8±8,6	15,4

Примечание где * P<0,05 достоверно относительно контроля

На 20-ти сутки после рождения в белой пульпе селезенки потомства белых крыс опытных и контрольной групп отмечается наличие лимфатических фолликулов, локализованных ближе к периферии органа. Их структуры лучше сформированы в селезенке крысят 1-й и 3-й опытных групп. Нами отмечено, что у особей в этих группах появляются фолликулы с выраженными центрами размножения («светлыми центрами»), в которых наблюдается макрофагальная реакция и усиление процессов митоза клеток. Это может свидетельствовать об активации иммунных процессов, что согласуется с данными литературы.

Проведенные морфометрические исследования структурно-функциональных образований селезенки показали, что во всех группах имеется тенденция снижения площади ПАЛМ и лимфатических узелков, особенно хорошо выраженные у потомства контрольной и 2-й и 3-й опытных групп, при незначительном увеличении этого показателя в 1-й опытной группе (табл. 3). Ширина маргинальной зоны селезенки потомства всех опытных групп в этом возрасте превосходит аналоги контроля, при этом разница составляет в 1-й опытной группе – 6%, во 2-й – 15,4%, в 3-й опытной группе – 23,9% соответственно (табл. 3). Вероятно, клетки, поступающие в МЗ, накапливались в ней, и более медленно из ПАЛМ и ЛУ переходили в кровяное русло. Выявленная нами тенденция, скорее всего, была связана с особенностями возрастного периода крысят, в котором их организм испытывал воздействие новых веществ поступающих с кормом, а также с определенной стимуляцией организма опытных групп биологическими факторами.

3.3. Гистологические и цитометрические особенности печени потомства белых крыс, рожденных от самок получавших препарат «Вестин» в разные сроки беременности.

Проведенными исследованиями установлено, что к 5-ти суточному возрасту печень у белых крыс опытных и контрольной групп имеет слабо выраженное дольчатое строение, мало триад и центральных вен, что соответствует этому возрастному периоду. Кариоцитометрические исследования показали, что в этом возрасте ЯПО гепатоцитов у крысят 3-й опытной группы было достоверно меньше чем у животных 1-й, 2-й опытных и контрольной групп, в основном за счет более активного нарастания протоплазмы (табл 4). Эта тенденция имеет адаптивную направленность, так как по данным В. А. Шкурупий (1986), улучшается условия обмена через плазмолемму, и увеличивается число клеток, и в дальнейшем повышает резистентность печени по принципу резервирования элементов системы на случай ее возможного повреждения.

К 15-ти суточному возрасту у животных опытных и контрольных групп усиливается дольчатое строение печени, что связано с дальнейшим развитием и дифференциацией междольковой рыхлой волокнистой соединительной ткани. В органе возрастает число центральных вен и триад.

В этот возрастной период цитометрическими исследованиями установлена тенденция роста площади гепатоцитов у потомства экспериментальных групп (табл 4). ЯПО гепатоцитов печени крысят 3-й опытной группы был достоверно самым высоким. Наименьший показатель ЯПО гепатоцитов к этому возрастному периоду установлен у животных 1-й опытной группы за счет активного роста протоплазмы (табл 4). Подобные изменения, развивающиеся в печени потомства крыс опытных групп в этом возрастном периоде, свидетельствуют о гипертрофических процессах, которые необходимы для дополнительного энергетического обеспечения организма.

В 20-ти суточном возрасте у крыс опытных и контрольной групп, дольки печени хорошо выражены, система печеночных триад полностью сформирована. В междольковой рыхлой волокнистой соединительной ткани увеличивается количество кровеносных сосудов, в особенности микроциркуляторного русла. Гистологическое исследование печени крыс контрольной группы выявило застойную гиперемию гемокapиллярного русла. Необходимо отметить, что в рыхлой волокнистой ткани системы триад печени у крысят контроля, особенно в сравнении с животными 2-й и 3-й опытных групп, обнаруживалась полиморфноклеточная инфильтрация, в виде лимфоидных, плазматических клеток и фибробластов.

Цитокарнометрическими исследованиями установлено, что в 20-ти дневном возрасте у потомства всех групп отмечается тенденция снижения площади ядра гепатоцитов. Необходимо отметить, что наибольшее значение ЯПО наблюдалось у животных 1-й и 2-й опытных групп ($0,5 \pm 0,1$ и $0,5 \pm 0,05$).

соответственно), за счет уменьшения протоплазмы в сравнении с аналогами контроля

Проведенными гистохимическими исследованиями установлены следующие закономерности. В печени крыс 1-й и 3-й опытных групп 5-ти суточного возраста, отмечалось уплотнение структур гликогена и смещение их к периферии клетки, а также появление РНП вокруг ядра, тогда как у крысят 2-й опытной группы ШИК-положительное вещество равномерно занимало всю цитоплазму. В контрольной группе содержание гликогена и РНП было незначительным. Вероятно, обменные процессы в печени потомства 1-й и 3-й опытных групп были направлены на накопление энергетического и пластического материала для его последующего использования развивающимися структурами организма. К 15-ти суточному возрасту у потомства опытных групп зерна ШИК-положительного вещества укрупнялись и располагались на периферии цитоплазмы гепатоцитов. В печени крысят контрольной группы гликоген, в виде мелких скоплений, занимал значительную часть цитоплазмы гепатоцитов периферических участков долек печени. В этот возрастной период у потомства опытных групп возрастало содержание РНП в сравнении с аналогами контроля.

К 20-ти суточному возрасту у крыс опытных групп отмеченная тенденция сохранялась. ШИК - положительное вещество скапливалось в цитоплазме клеток периферических участков печеночных долек, расположенных ближе к капсуле органа. В этот возрастной период у потомства контрольной группы содержание гликогена было значительным. Продолжающиеся изменения содержания гликогена, РНП, их распределение в гепатоцитах печени потомства опытных групп 20-ти суточного возраста, являются проявлением преобладания белково-синтетической функции органа, которая по данным В.К. Верина (1983) характерна для этого возрастного периода.

Таблица 4 - Цитометрические показатели гепатоцитов печени у потомства крыс

показатель	1-я опытная		2-я опытная		3-я опытная		контроль	
	5 дней							
	M±m	Cv (%)	M±m	Cv (%)	M±m	Cv (%)	M±m	Cv (%)
S ядра, мкм ²	384,02±41,7	59,5	373,4±41,9	61,5	278±34 5**	68,1	439,6±33,9	42,3
S протопл, мкм ²	912,4±140,6*	84,4	1162,7±195,7	92,2	1004,3±144,9	79,1	1417,5±190,2	73,5
ЯПО	0,52±0,1	60,9	0,5±0,07	88,2	0,3±0,04	69,8	0,5±0,1	84,3
S ядра, мкм ²	387,1±30,8	43,6	423,3±31,4	40,7	402,3±28,2	38,4	409,5±30,4	40,6
S протопл, мкм ²	1532,9±168,3	60,1	1470,9±180,4	67,2	1008,3±109,6	59,6	1238,6±119,9	53,01
ЯПО	0,3±0,05	77,9	0,4±0,05	73,2	0,5±0,06	59,2	0,4±0,05	65,1
S ядра, мкм ²	325,9±21,3	35,8	357±18,9	28,9	321,3±22,2	37,9	300,9±25,03	45,5
S протопл, мкм ²	808,9±116,7	79	931,1±82,4	48,5	1068,9±116,9	59,9	1118,1±151,8	74,3
ЯПО	0,5±0,1	60,9	0,5±0,05	63,7	0,4±0,04	57,7	0,4±0,04	59,5

Примечание где * P<0,05, ** P<0 01 достоверно относительно контроля

3.4. Изменения абсолютной массы и скорости роста потомства крыс.

Показатель массы тела, особенно в ранние периоды постнатального онтогенеза, является эффективным критерием характеристики обменных процессов в организме животных

В 5-ти суточном возрасте абсолютная масса крысят 1-й опытной группы на 9% превышала показатели контрольной группы. Во 2-й опытной группе значения абсолютной массы потомства были достоверно на 27,3% ниже, чем у аналогов контроля, а в 3-й опытной группе не отличались от них. К 15-ти суточному возрасту, подобная тенденция сохранялась. Однако, у животных опытных групп разница с показателями аналогов контроля составила - в 1-й - 4,5%; во 2-й абсолютная масса крысят на 22,8% была ниже, а в 3-й опытной группе не отличалась от них.

В период с 5 по 15-е сутки жизни, абсолютный прирост массы потомства 1-й, 3-й опытных и контрольной групп не имел различий и составил 0,01 гр, а во 2-й опытной группе – 0,008 гр. Относительный прирост массы в этот возрастной промежуток был достоверно высоким в контрольной группе. Скорость роста аналогов опытных групп самой высокой была в 3-й, а самой низкой - в 1-й опытной группе.

В 20-ти дневном возрасте показатели абсолютной массы (гр) потомства опытных групп достоверно отличались от аналогов контроля. При

этом масса крысят в 1-й опытной группе на 19,2%, а в 3-й – на 15,3% были выше, чем у потомства контрольной группы. У животных 2-й опытной группы значения абсолютной массы 19,3% были ниже показателей контрольной группы, при относительно одинаковом коэффициенте вариации показателей во всех группах.

В период с 15 по 20-й дни жизни абсолютный прирост массы крысят достоверно наиболее высоким был в 1-й и в 3-й опытных группах. Относительная скорость роста в этот возрастной промежуток достоверно высокий в сравнении с аналогами контроля была у потомства указанных опытных групп.

В период с 5 по 20-е сутки жизни показатели абсолютного прироста массы достоверно высокими были у аналогов 1-й и 3-й опытных групп. У крысят 2-й опытной группы этот показатель не отличался от значений контрольной группы.

Относительная скорость роста в этот возрастной промежуток в 1-й опытной группе составила 89,5%, а в 3-й опытной группе – 105,3% в сравнении с аналогами контроля. У животных 2-й опытной группы и контрольной группы относительная скорость роста не имела отличий.

Таким образом, введение препарата крысам на ранних и поздних этапах гестации оказывает положительное влияние на процессы роста потомства.

4. Выводы

1. Препарат Вестин, при введении самкам независимо от срока беременности, оказывает положительное влияние на формирование системы крипта-ворсинка слизистой оболочки тонкого кишечника потомства крыс всех опытных групп в ранний постнатальный период развития.

2. Выявленные морфологические и цитометрические изменения в системе крипта-ворсинка слизистой оболочки тонкого кишечника потомства крыс всех опытных групп являются проявлением процессов ранней адаптации, развивающихся в критические периоды жизни и связанные со сменой типа питания.

3. Препарат Вестин при введении беременным самкам на ранних и поздних этапах гестации, оказывает позитивное влияние на формирование лимфоидных структур в слизистой оболочке тонкой кишки потомства крыс.

4. Введение препарата Вестин самкам оказывает стимулирующее влияние на клеточные элементы селезенки. Использование препарата на ранних этапах гестации приводит к расширению Т-зоны белой пульпы селезенки. На 14-й день плодношения происходит расширение В-зоны белой пульпы селезенки. В поздние сроки беременности у потомства отмечается расширение как Т- так и В-зоны белой пульпы селезенки.

5 Под влиянием препарата Вестин в печени потомства опытных групп развивается структурная перестройка, обеспечивающая организм дополнительными энергетическими и пластическими ресурсами в период раннего постнатального развития. Она проявляется изменениями цитокариометрических показателей гепатоцитов в период с 5 по 15-е сутки наблюдений, у потомства всех опытных групп, динамическими изменениями содержания гликогена в гепатоцитах потомства опытных групп, характеризующее его использование на энергетические нужды организма, усиление синтеза РНК.

5 Введение препарата Вестин беременным самкам положительно влияет на рост и развитие потомства крыс, особенно при его применении на ранних и поздних этапах гестации.

5. Рекомендации

1 Для повышения адаптационных возможностей организма животных в ранний постнатальный период жизни рекомендуется использовать препарат Вестин самкам в ранние и поздние сроки плодношения.

2 Результаты проведенных исследований внедрены в учебный процесс и могут быть использованы при подготовке и повышении квалификации ветеринарных специалистов.

Список опубликованных работ

1 Стацевич ЛН Возможности использования иммуномодуляторов животным на разных этапах развития / ЛН Стацевич, ЕА Реутова // Мат-лы междунар конференции по патофизиологии животных – СПб, Издательство СПб ГАИВМ, 2006 - С 42

2 Стацевич ЛН О применении иммуностропных препаратов в ветеринарии / Л.Н Стацевич, ЕА Реутова, ИВ Наумкин // Актуальные проблемы ветеринарной медицины Мат-лы VI Сиб вет конф , посвященной 70-летию НГАУ – Новосиб гос аграр ун-т – Новосибирск, 2006 – С 112

3 Стацевич ЛН Влияние полирибонуклеидов на функциональное состояние организма животных / ЛН Стацевич // Третий Российский конгресс по патофизиологии - Москва, 2004 г

4 Стацевич ЛН Динамика изменения морфологических и биохимических показателей крови телят при применении полирибонуклеотидов / ЛН Стацевич, ЕА Реутова // Материалы международной научно-практической конференции, посвященной 70-летию факультета ветеринарной медицины - БГМХА. - Улан-Удэ, 2005 г

5 Стацевич ЛН Развитие лимфоидных структур слизистой оболочки тонкой кишки у потомства крыс после применения препарата нуклеиновой природы в разные сроки беременности / ЛН Стацевич, ЕА Реутова // V Междунар научно-практическая конференция молодых ученых Сибирского Федерального округа – Красноярск, 2007

6 Стацевич ЛН Влияние иммунокорректора «Вестин» на морфологический гомеостаз периферической крови крыс в системе «мать-плод» / ЛН Стацевич, ЕА Реутова // Мат-лы междунар научно-практической конференции «Актуальные вопросы экологической, сравнительной, возрастной и экспериментальной морфологии», посвященной 100-летию профессора ИА Спирихова – Улан-Удэ, 2007

7 Стацевич ЛН Динамика морфологических изменений слизистой оболочки кишечника у потомства крыс после применения препарата «Вестин» в разные сроки беременности / ЛН Стацевич // Сиб. вест с-х науки –2007 № 6

8 Реутова Е.А. Морфологические и морфометрические изменения в селезенке крыс под влиянием иммуномодулятора нуклеиновой природы /ЕА Реутова, ЛН Стацевич// Мат-лы 16-ой Всерос научно-метод конференции по патологической анатомии животных Ставрополь, 2007

На правах рукописи

Стацевич
Людмила Николаевна

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ОРГАНОВ У ПОТОМСТВА КРЫС,
ПОСЛЕ ПРИМЕНЕНИЯ САМКАМ В РАЗНЫЕ СРОКИ ПЛОДОНОШЕНИЯ
ПРЕПАРАТА ВЕСТИН

16 00 02 – патология, онкология и морфология животных

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук

Подписано в печать 13 09 2007
Усл печ л 1,0 Бумага «Гознак»

Формат 60х84 1/16
Тираж 100экз. заказ №55

Отпечатано в типографии ООО «ИРА УТК»
620075, г Екатеринбург, ул К Либкнехта, 42 Тел (343) 350-97-24