



003474908

На правах рукописи

САФОНОВ Владимир Валерьевич

**МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПЕЧЕНИ И 12-
ПЕРСТНОЙ КИШКИ У МОЛОДНЯКА СВИНЕЙ В НОРМЕ И ПРИ
ПРИМЕНЕНИИ СЕЛЕДАНТА**

16.00.02 – патология, онкология и морфология животных

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата ветеринарных наук

Воронеж - 2009

Работа выполнена в отделе патологической морфологии Всероссийского НИВИ патологии, фармакологии и терапии Россельхозакадемии

Научный руководитель: доктор ветеринарных наук, профессор,
заслуженный деятель науки РФ
СУЛЕЙМАНОВ
Сулейман Мухитдинович

С официальные оппоненты: доктор ветеринарных наук
МИХАЛЁВ Виталий Иванович

кандидат ветеринарных наук, доцент
ШЕВЧЕНКО Наталья Александровна

Ведущая организация: ФГОУ ВПО «Российский университет
Дружбы Народов»

Защита диссертации состоится 21 мая 2009 года в 15 часов на заседании диссертационного совета ДМ 220.010.05 при ФГОУ ВПО «Воронежский государственный аграрный университет им. К.Д. Глинки» (394087, г. Воронеж, ул. Минчурина 1, т/ф (4732) 53-86-51).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГОУ ВПО «Воронежский государственный аграрный университет им. К.Д. Глинки»

Автореферат разослан 20 апреля 2009 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета



ХРОМОВА Л.Г.

1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

1.1. Актуальность. Избыточное образование свободных радикалов способствует развитию патологического состояния, которое в зависимости от характера и интенсивности нарушения обменных процессов, может выражаться от едва улавливаемых только на микроскопическом уровне морфологических изменений (набухание митохондрий с параллельным угнетением окислительного фосфорилирования) до ярко выраженных некробиотических, ведущих клетку и ткань к гибели (М.А. Джулай с соавт., 1995; С. М. Сулейманов, 2007).

А в настоящее время широко известно, что препараты селена оказывают выраженное антиоксидантное действие, защищая организм от накопление продуктов перекисного окисления липидов, в результате нормализуется активность ядер, препятствуется повреждение хромосомного аппарата, происходит стимуляция функции рибосом, тем самым в результате способствует нормальному росту и развитию организма в целом (И.В. Гмошинский с соавт., 2000; В.И. Беляев с соавт., 2004; Е.В. Михайлов 2007; I. Sun, H. Wang, 1987; A. Herzfeld et al., 1989).

В последние годы проведены исследования по изучению влияния новых селен содержащих препаратов на клеточный и гуморальный иммунитет, перекисное окисление липидов, органы иммунной и пищеварительной системы (Л.Ф. Виноградов, Ж.А. Мирзоян, 1993; В.И. Беляев, 2006; А.Г. Мойсеенок с соавт., 2006; Е.В. Михайлов, 2007).

Тесная взаимосвязь иммунной и пищеварительной систем приводит к необходимости всестороннего анализа воздействия таких препаратов, раскрытию на органном, клеточном и субклеточном уровнях полной морфофункциональной реакции организма, обнаружению и выделению основной тропности (Сулейманов С.М. с соавт., 2006).

По данным Е.В. Михайлова (2007) введение селеданта свиноматкам и поросётам способствовало улучшению неспецифической иммунологической

реактивности организма, повышению уровня и продолжительности колострального иммунитета поросят.

Однако до настоящего времени недостаточно изучены морфофункциональные изменения в органах пищеварения (печень и тонкий отдел кишечника) у поросят при применении селеданта.

В связи с этим, возникает прямая необходимость изучения функциональной морфологии печени, тонкого отдела кишечника у поросят, в процессе применения селенсодержащего препарата селеданта, в целях определения сущности механизмов действия препарата и научного обоснования его применения для животных.

1.2. Цель и задачи. Целью настоящего исследования явилось изучение структурной организации печени и слизистой оболочки 12-перстной кишки у поросят 5-7 и 45 дневного возраста в норме и при применении селеданта (диметилдипирозолилселенид).

Достижение поставленной цели осуществлялось решением следующих задач:

1. Изучение структурной организации печени и слизистой 12-перстной кишки у клинически здоровых поросят в возрасте 5-7 и 45 дней.

2. Изучение функциональной морфологии печени у 5-7 дневных новорожденных поросят, полученных от свиноматок при применении им селеданта в период супоросности.

3. Изучение функциональной морфологии 12-перстной кишки у 5-7 дневных новорожденных поросят, полученных от свиноматок при применении им селеданта в период супоросности.

4. Изучение функциональной морфологии печени у 45 дневных поросят при применении им селеданта.

5. Изучение функциональной морфологии 12-перстной кишки у 45 дневных поросят при применении им селеданта.

1.3. Научная новизна. Впервые гистологическими, гистохимическими, морфометрическими и ультраструктурными исследованиями у 5-7 и 45

дневных клинически здоровых поросят в печени и 12-перстной кишке выявлены дистрофические процессы, которые были предупреждены применением селеданта. Установлено, что нормализация структурной организации печени у поросят в 5-7 возрасте, сопровождалась уменьшением содержания липидов на 27,4% и увеличением содержания гликогена на 66,7%, а в 45 дневном возрасте – на 37,1% и 78,4% соответственно. В слизистой оболочке 12-перстной кишки нормализация структуры сопровождалась как в 5-7 дневном возрасте в виде увеличения толщины слизистой оболочки – $385 \pm 3,2$ мкм (против – $367 \pm 4,6$ мкм в контроле) и высоты ворсинок – $263 \pm 1,5$ мкм (против – $258 \pm 1,2$ мкм в контроле), так и в 45 дневном возрасте – увеличением толщины слизистой – $621 \pm 4,1$ мкм (против – $592 \pm 4,9$ мкм в контроле) и высоты ворсинок – $501 \pm 4,4$ мкм (против – $446 \pm 5,2$ мкм в контроле). При этом дифференциация структурной организации печени и 12-перстной кишки у поросят улучшалась при применении селеданта как в возрасте 5-7 дней, так и в возрасте 45 дней.

1.4. Практическая значимость и внедрение. Выявленные структурные и ультраструктурные изменения в печени и слизистой оболочке 12-перстной кишки у поросят в норме и при применении селеданта, позволяют разрабатывать научно – обоснованные подходы для применения антиоксидантных средств, в том числе селенорганических препаратов, с целью сохранения здоровья молодняка животных в критические возрастные периоды их жизни.

Данные результатов исследований вошли в:

– «Временное наставление по применению селеданта для сельскохозяйственных животных» (Утверждено ветеринарным отделом Воронежского областного управления сельского хозяйства 15.02.2005);

– «Морфофункциональная характеристика гепатодистрофии молодняка свиней, лечение и профилактика препаратами пантотеновой кислоты и карнитина» (Одобрено секцией «Патология, фармакология и терапия» ОВМ РАСХН 03.05.2006, протокол № 1);

– «Методы морфологических исследований», 2-е издание переработанное и дополненное (Одобрено секцией «Патология, фармакология и терапия» ОВМ РАСХН 30.03.2007).

Материалы исследований используются в учебном процессе и в работе научно-исследовательских учреждений.

1.5. Апробация. Основные положения диссертации представлены, обсуждены и одобрены на: отчетных сессиях Всероссийского НИВИ патологии, фармакологии и терапии (2004 – 2007 годы); первой международной научно-практической конференции молодых ученых: «Актуальные проблемы диагностики, терапии и профилактики болезней животных» (ВНИВИПФиТ, Воронеж, 2006); международной конференции, посвященной 100-летию со дня рождения профессора А.А. Авророва (Воронеж, 2006); 16-ой Всероссийской научно-методической конференции «Современные проблемы патологической анатомии, патогенеза и диагностики болезней животных» (Ставрополь, 2007).

1.6. Публикация. Основные научные результаты диссертации опубликованы в 11 научных работах, в том числе одна статья – в журнале «Ветеринарная патология», N 3, 2005.

1.7. Основные положения, выносимые на защиту:

1. Структурная и ультраструктурная организация печени и слизистой 12-перстной кишки у клинически здоровых поросят в 5-7 и 45 дневном возрасте.

2. Влияние селаданта на структурную организацию печени поросят в возрасте 5-7 и 45 дней.

3. Влияние селаданта на структуру 12-перстной кишки у поросят в возрасте 5-7 и 45 дней.

1.8. Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 168 страницах и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов собственных исследований и их обсуждения, выводов, практических предложений и списка литературы, включающего 170 наименований, в том числе 71 иностранных авторов. Диссертация

иллюстрирована 9 таблицами и 104 рисунками.

2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа выполнена в 2004-2007 годы в отделе патологической морфологии Всероссийского научно-исследовательского ветеринарного института патологии, фармакологии и терапии Российской академии сельскохозяйственных наук (ВНИВИПФиТ РАСХН) в соответствии с тематическим планом научно-исследовательских работ ГНУ «Всероссийский НИВИ патологии, фармакологии и терапии» РАСХН по заданию 04 «Программы фундаментальных и приоритетных прикладных исследований по научному обеспечению развития АПК РФ» (N гос. регистрации: 01.9.90001257; 01.200.117018).

Производственный опыт проводился в МХП «Николаевское» Аннинского района и ООО «Вишневское» Верхнехавского района Воронежской области и в ООО «Паритет» Урюпинского района Волгоградской области на свиноматках и в последующем на поросятах, рожденных от них. За 30-40 дней до опороса свиноматкам вводили селедант в дозе 20 мкг/кг массы тела. Животным второй группы препарат не вводили. Через 10-12 дней введение препарата повторяли.

Поросят, полученных от подопытных свиноматок, подбирали по принципу парных аналогов: по возрасту, массе тела и интенсивности роста. Оценку адаптивных способностей и состояния здоровья поросят проводили по клиническим признакам. Поставленные задачи исследований включали проведение двух серий опытов.

В первой серии опытов было сформировано две группы поросят в возрасте 5-7 дней:

1) Первая группа состояла из поросят, полученных от свиноматок, которым применяли селедант во время супоросности.

2) Вторая группа состояла из клинически здоровых поросят, полученных

от свиноматок без применения селеданта.

По 5 поросят из каждой группы были подвергнуты убою для проведения морфологических исследований.

Во второй серии опытов брали материал от:

1) Поросята, рожденные от свиноматок с применением селеданта, которым в возрасте 20-25 дней дважды с интервалом 10-12 дней вводили селеданта в дозе 20 мкг/кг массы тела.

2) Контрольные клинически здоровые поросята (полученные от контрольных свиноматок), которым препарат не вводили.

В течение опыта за животными велось клиническое наблюдение. В 45 дневном возрасте 5 поросят от каждой группы подверглись убою.

Материалом для гисто-цитологических исследований служили образцы 12-перстной кишки и печени.

Материал фиксировали в 10-12% растворе нейтрального формалина, 96% спирте, жидкости Карнуа, обезжизняли и заливали по общепринятой методике в парафин и с парафиновых блоков готовили серийные срезы толщиной 5-7 мкм (Г.А. Меркулов, 1969).

Общую морфологическую структуру органов и тканей изучали при окраске срезов гематоксилин-эозином и по Ван-Гизон. Гистохимически выявляли РНК по методу Браше на депарафинированных срезах, окрашенных метиловым зеленым – пиронином по Унна – Паппенгейму; анализ ДНК ядер проводили на срезах, окрашенных по Фельгену с реактивом Шиффа (Г.А. Меркулов, 1969; Э. Пирс, 1962).

В печени выявляли гликоген (на депарафинированных срезах) по Шабдашу с использованием Шифф-йодной кислоты, на криостатных срезах толщиной 10-12 мкм, окрашенных суданом черным «В», определяли нейтральные жиры. По Стивену альциановым синим в слизистой оболочке 12-перстной кишки выявляли кислые мукополисахариды (А.И. Кононский, 1976; Э. Пирс, 1962).

Фиксацию материала для электронной микроскопии проводили в 2,5 %

растворе глутарового альдегида на 0,114 М коллидиновом буфере (pH-7,3) на холоде с постфиксацией в 1 % растворе тетраокиси осмия на том же буфере. Для достижения осмиомолярности 360 мосм во второй фиксатор вводили 0,05 М железосинеродистого калия и раствор Рингера. Материал заключали в смолу Эпон-812. Готовились полутонкие срезы, окрашенные Азур-2 в сочетании фуксином основным, которые просматривались в световом микроскопе «Leica». Ультратонкие срезы готовили на ультрамикротоме Ultracut «Leica», монтировали на вольфрамовые сетки, контрастировали цитратом свинца и уранилацетатом и просматривали в электронном микроскопе EM-208 фирмы Philips (Г. Гайер, 1974; Л.С. Гольдин, 1963; E.S. Reynolds, 1963).

При гисто-цитологическом анализе материала на уровне светового микроскопа в каждой из зон печени и слизистой оболочки 12-перстной кишки подсчитывали клетки в 100 полях зрения, учитывали клетки, имеющие отчетливые морфологические признаки (С.М. Сулейманов с соавт., 2000).

Морфометрию проводили с помощью окулярной измерительной сетки с известной площадью ($0,0114 \text{ мм}^2$) при увеличении объектива 90 под иммерсией, а также на персональном компьютере IBM с помощью морфологической программы Meta Vision 1.2. В печени измеряли диаметр ядра, вычисляли объем ядра, ядерно-цитоплазматическое отношение. В слизистой оболочке 12-перстной кишки – измеряли толщину слизистой оболочки, высоту и ширину ворсинок, глубину и ширину крипт. В энтероцитах слизистой оболочки 12-перстной кишки измеряли длинный и короткий диаметры ядра, высоту и ширину клетки. По формулам вычисляли: площадь ядра и энтероцита; цитоплазматическо – ядерное отношение. Для установления необходимого количества морфометрических измерений, объективного характера определения исходной величины, использовали формулу: $X=400 \cdot (100-m)/M$ (Г.Г. Автандилов с соавт., 1981; А.А. Гуцол, 1988; А.И. Кононский, 1976; Я.Е. Хесин, 1967).

Оптическую плотность срезов, окрашенных гистохимическими методами, измеряли на цитофотометре «Люмам И-3» (К. Ташке, 1980).

Результаты исследований были подвергнуты статистической обработке, используемой в биологии и медицине, на персональном компьютере IBM (программа Microsoft Exel 2003), с оценкой достоверности отличий при $P \leq 0,005$ (Г.Ф. Лакин, 1968).

3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1. Морфофункциональная характеристика печени у клинически здоровых поросят 5-7 и 45 дневного возраста

Балочная структура паренхимы печени у клинически здоровых поросят 5-7 возраста едва была заметна, нечетко просматривались радиально направленные клеточные пластины. Междольковые соединительнотканые прослойки были тонкими и нечеткими. Гепатоциты были полиморфными. Отмечали расстройство гемодинамики с расширением синусоидов в непосредственной близости от центральной вены, утолщение стенок некоторых междольковых артерий и вен. В очажках кроветворения просматривалось большое количество клеток эритробластического ряда, а вокруг этих образований сохранялась детритическая масса. Наблюдалось избыточное просветление цитоплазмы гепатоцитов. В центральных и промежуточных отделах долек обнаруживались единичные клетки с атрофией, вакуольно-зернистой дистрофией, а также дистрофические очаги с ареактивным некрозом. При этом ядра имели отечную кариоплазму с инвагинациями (Рис. 1).

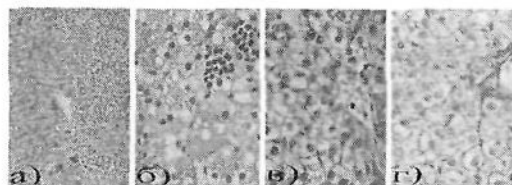


Рис. 1. Структурная организация печени 5-7 дневных клинически здоровых

поросят: а) Отсутствие балочной структуры; б) Выраженные очаги клеток эритробластического ряда; в) Полиморфность и избыточное просветление цитоплазмы гепатоцитов; г) Дистрофические процессы.

Расстройство гемодинамики в печени клинически здоровых поросят 45 дневного возраста сопровождалось расширением синусоидных капилляров, преимущественно в парацентральной зоне долек, а также наблюдалось появлением единичных диапедезных экстравазатов в паренхиме. В гепатоцитах на фоне усиления базофилии цитоплазмы, без существенных изменений формы и конфигурации, наблюдались крупные оптически пустые вакуоли, между которыми располагались цитоплазматические мостики. Обнаруживались единичные явления стирания границ между гепатоцитами и дискомплексация печеночных пластинок, имели неровную кариоплазму, вследствие давления прилежащих к ним жировых включений. Встречались единичные клетки кроветворения в паренхиме печени в окружении гипертрофированных дистрофических гепатоцитов.

Структурная организации печени (полутонкие срезы) у 45 дневных клинически здоровых поросят находилась в состоянии дистрофии. При этом наблюдалась дискомплексация балочной структуры, появлялись гепатоциты с гиперзернистой цитоплазмой, похожие на тучные клетки (Рис. 2).

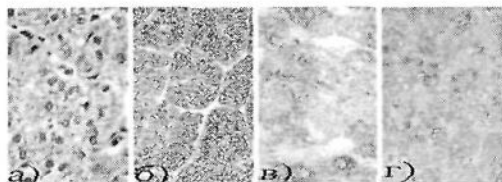


Рис. 2. Структурная организация печени 45 дневных клинически здоровых поросят: а) Расширение синусоидных капилляров; б) Уменьшение содержания гликогена; в) Диффузное насыщение печени липидами; г) Дискомплексация балочной структуры.

Электронно-микроскопически встречались участки разрушения клеточных мембран. Ядра гепатоцитов были мономорфными, округлой формы, с несколько расширенным перинуклеарным пространством. Наблюдался выраженный полиморфизм митохондрий, отмечалось просветление их содержимого. Они нередко принимали причудливую уродливую форму, часто наблюдались гигантские. Кристы митохондрий были укорочены, дезориентированы, иногда в матриксе определялись паракристаллические включения. Отмечались липиды, локализованные в самих митохондриях. Прослеживалась тенденция к уменьшению профилей ГрЭПС с расширением цистерн на периферии цитоплазмы. Аппарат Гольджи определялся не постоянно, часто был расширен и смещен, находился или ближе к ядру, либо к билиарному полюсу. Матрикс цитоплазмы гепатоцитов местами был заполнен компактными группами, плотно располагающихся гранул гликогена (Рис. 3).

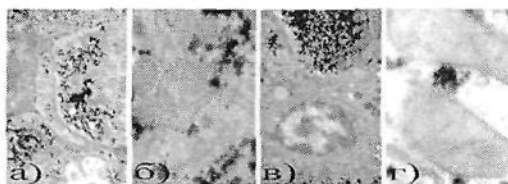


Рис. 3. Ультраструктурная организация печени 45 дневных клинически здоровых поросят: а) Расширение пространства синусоидного капилляра; б) Везикуляция гранулярной эндоплазматической сети гепатоцита; в) Слабая фагоцитарная активность нейтрофила; г) Светлые полиморфные митохондрии в гепатоците.

3.2. Морфофункциональная характеристика 12-перстной кишки у клинически здоровых поросят 5-7 и 45 дневного возраста

Слизистая оболочка 12-перстной кишки у клинически здоровых поросят 5-7 дневного возраста чаще всего сохраняла обычную структуру. В криптах происходили нормальные процессы роста эпителиальных клеток.

Одновременно наблюдалась выраженная инфильтрация, чаще собственной пластинки, лейкоцитами и лимфоидными клетками. Капилляры слизистой слегка были расширены и кровенаполнены, но отсутствовала отечности прилежащих тканей. Нередко на верхушках ворсинок слизистой оболочки наблюдалась десквамация эпителия. Бокаловидные клетки ворсинок были увеличены в размерах, имели шаровидную форму, некоторые клетки находились в состоянии гиперсекреции. Выявлялось слипание ворсинок. В отдельных ворсинках местами наблюдались дистрофические процессы каемчатых энтероцитов (Рис. 4).

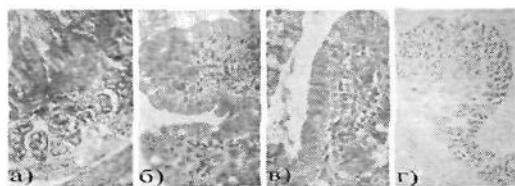


Рис. 4. Структурная организация слизистой оболочки 12-перстной кишки 5-7 дневных клинически здоровых поросят: а) Рыхлое строение слизистой оболочки; б) Гиперсекреция бокаловидных клеток на ворсинках; в) Дистрофическое состояние каемчатых энтероцитов ворсинки; г) Значительное содержание кислых мукополисахаридов.

В слизистой оболочке 12-перстной кишки у 45 дневных клинически здоровых поросят наблюдались энтероциты с цитоплазматической вакуолизацией, способствующей их гибели в дальнейшем. Некоторые энтероциты содержали увеличенные гиперхромные ядра с набухшими ядрышками. В апикальных частях ворсинок отмечалась умеренная десквамация эпителия (границы между клетками не всегда были различимы). Наблюдалось рыхлое расположение криптальных желез и разрыхление стромы. В криптах присутствовали нейтрофилы. В собственном слое слизистой оболочки 12-перстной кишки обращало на себя внимание некоторое разрыхление и отечность собственной пластинки, особенно в

апикальной части ворсинок за счет увеличения межклеточного пространства (Рис. 5).

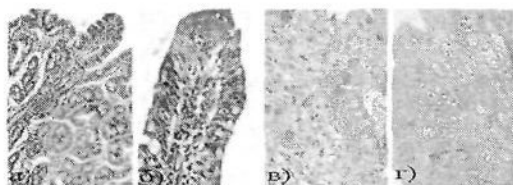


Рис. 5. Структурная организация слизистой оболочки 12-перстной кишки 45 дневных клинически здоровых поросят: а) Рыхлое строение слизистой оболочки; б) Лимфоидная инфильтрация собственной пластинки; в) Дистрофические процессы у основания ворсин и крипт; г) Дистрофия бокаловидных клеток.

Электронно-микроскопически у клинически здоровых поросят в возрасте 45 дней в слизистой оболочке 12-перстной кишки наблюдались дистрофические процессы в криптах, ворсинках и в строме всей слизистой оболочки кишечника. Щеточная каемка призматических энтероцитов была низкая, местами разрежена. Наблюдалось периодическое чередование микроворсинок различной электронной плотности. Встречались выпячивания апикальной мембраны энтероцитов, не содержащей микроворсинки. Наблюдалось снижение количества митохондрий, различных по форме и отличающихся по плотности. Кристы располагались неупорядочно, местами отмечалась их дезорганизация. Отмечалось снижение количества ЭПС в цитоплазме энтероцитов. Некоторые энтероциты содержали лишь фрагменты ЭПС. Встречались ядра, резко смещенные к апикальному краю клетки с электронно-плотным содержимым, находящиеся в состоянии апоптоза. Апоптоз встречался и в лимфоидных клетках подслизистого слоя слизистой оболочки 12-перстной кишки у клинически здоровых поросят (Рис. 6).

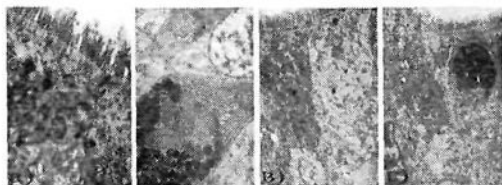


Рис. 6. Ультраструктурная организация энтероцитов слизистой оболочки 12-перстной кишки 45 дневных клинически здоровых поросят: а) Фрагментация микроворсинок, дистрофия митохондрий в энтероците; б) Дистрофия бокаловидной клетки слизистой оболочки; в) Дистрофия каемчатых энтероцитов; г) Апоптоз каемчатого энтероцита.

3.3. Морфофункциональная характеристика печени поросят 5-7 дневного возраста при применении селеданта

В паренхиме печени сохранялись единичные, постепенно угасающие очажки кроветворения. Гепатоциты располагались плотно, преимущественно полигональной формы. Они были неодинаковы, в середине дольки более крупные, чем по периферии. Ядра гепатоцитов крупные и округлые, располагались в центре клетки, либо немного были смещены к одному из полюсов. Двухядерные гепатоциты встречались редко. Печень морфологически была сформирована (Рис. 7).

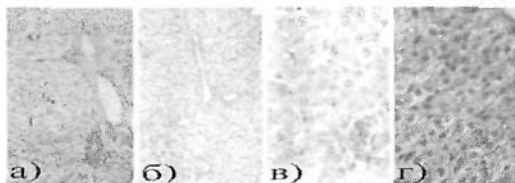


Рис. 7. Структурная организация печени 5-7 дневных поросят при применении селеданта: а) Формирование дольчатой структуры; б) Угасание кроветворения; в) Уплотнение полиганальных гепатоцитов в периваскулярной зоне печени; г) Оксифильность гепетоцитов.

3.4. Гистохимические, цитофотометрические и морфометрические показатели печени поросят 5-7 дневного возраста в норме и при применении селеданта

Гистохимически у поросят гликоген выявлялся в виде гранул различной формы и величины, равномерно распределялся по всей паренхиме печени. Гликоген наиболее ярко выявлялся вокруг центральной вены, а также в гепатоцитах, расположенных по периферии печеночной долики.

У поросят группы селеданта в гепатоцитах гранулы гликогена располагались плотно, а в контрольной группе довольно редко. Цитофотометрически у поросят группы селеданта количество гликогена составило $30,75 \pm 3,22$ е.о.п. $\times 100$, что значительно было выше на 66,7%, чем в контрольной группе ($18,46 \pm 1,61$ е.о.п. $\times 100$). У поросят контрольной группы содержание липидов составило $27,95 \pm 1,05$ е.о.п. $\times 100$, что было выше на 27,4% показателей поросят группы селеданта – $20,29 \pm 0,45$ е.о.п. $\times 100$. Избыточное накопление мелких капель липидов в паренхиме печени контрольных поросят служило своеобразным признаком, ведущим к жировой дистрофии гепатоцитов, а позднее к развитию дистрофических и некробиотических процессов в печени.

Наибольшая величина ядерно-цитоплазматического отношения гепатоцитов печени поросят 5-7 дневного возраста была выявлена у поросят группы селеданта – $34,25 \pm 0,52\%$, а у контрольных поросят аналогичный показатель составил – $30,41 \pm 0,49\%$.

3.5. Морфофункциональная характеристика 12-перстной кишки поросят 5-7 дневного возраста при применении селеданта

Слизистая оболочка 12-перстной кишки имела бархатистый вид и была густо усеяна многочисленными выступами – ворсинками. Эпителиальные клетки (каемчатые энтероциты), покрывающие ворсинки имели цилиндрическую форму, а их ядра несколько смещены в базальную область, при этом боковые энтероциты были более высокими с более ярко

выраженными включениями цитоплазмы. Эпителиальные клетки ворсинок имели строго очерченные гомогенные границы плазмолеммы. Базальная мембрана, содержащая нейтральные мукополисахариды, хорошо была различима. Клетки крипт имели кубическую форму, с центральным расположением ядер, причем преобладали недифференцированные столбчатые энтероциты, цитоплазма которых была развита слабо. Собственная пластинка, представленная рыхлой и ретикулярной соединительной тканью, местами имело разрыхление у основания ворсинки. В ней содержались макрофаги, плазматические клетки и форменные элементы лимфоидной группы кроветворения, а также мелкие лимфатические узелки (солитарные фолликулы). Наблюдались физиологические процессы отторжения с вершины ворсинки в просвет кишечника эпителиальных тяжей, которые принимали участие в процессах пищеварения, входили в состав плотного компонента кишечного сока (Рис. 8).

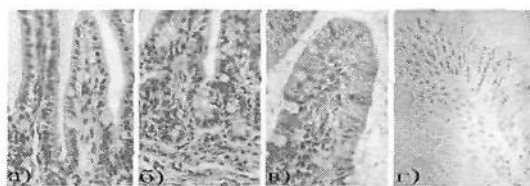


Рис. 8. Структурная организация слизистой оболочки 12-перстной кишки 5-7 дневных поросят при применении селеданта: а) Развитые пальцевидные ворсинки; б) Формирование крипт; в) Развитая языковидная ворсинка с бокаловидными клетками; г) Уменьшение количества кислых мукополисахаридов на апикальной части ворсин.

3.6. Морфометрические показатели 12-перстной кишки поросят 5-7 дневного возраста в норме и при применении селеданта

В контрольной группе животных толщина слизистой оболочки составила $- 614 \pm 3,8$ мкм; средняя высота ворсинок достигала $258 \pm 1,2$ мкм, ширина —

$62 \pm 1,4$ мкм; глубина крипт – $74 \pm 1,2$ мкм, ширина – $25 \pm 1,5$ мкм; высота энтероцитов ворсинок – $20 \pm 0,4$. В целом цифровые показатели находились в пределах физиологического развития, в то же время было выявлено снижение количества бокаловидных клеток ($16 \pm 1,4$ на 100 энтероцитов).

При применении селеданта отмечалось ускорение динамики гистогенеза структуры тонкого отдела кишечника. Высота ворсинок составила $263 \pm 1,5$ мкм, ширина – $66 \pm 1,2$ мкм; глубина крипт – $78 \pm 1,1$ мкм, их ширина – $28 \pm 0,9$ мкм, высота эпителиальных клеток ворсинок – $21 \pm 0,3$ мкм. При подсчете клеточных элементов покровного эпителия обнаружено увеличение количества бокаловидных клеток ($19 \pm 1,2$ на 100 энтероцитов).

3.7. Гистоструктура печени поросят 45 дневного возраста при применении селеданта

Наблюдалось четкое дольчатое строение паренхимы печени. В центре каждой дольки располагалась мощная центральная вена, к которой радиально, вокруг сходились печеночные пластины и кровеносные синусоиды. Дольки были разграничены широким слоем соединительной ткани – портальными трактами, в которых располагались триады (артерия, вена и желчный проток), имеющие типичное строение. Гепатоциты были чаще одноядерные, отмечали клетки в стадии митоза (кариокинез, цитокинез). Между тем, наблюдалось увеличение количества двуядерных гепатоцитов. Крупные ядра, располагались эксцентрично, округлой формы с одним или двумя ядрышками. Иногда встречались единичные мелкие кроветворные очажки, содержащие клетки эритробластического ряда (Рис. 9).

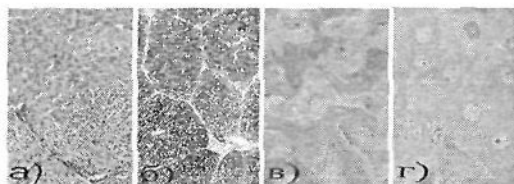


Рис. 9. Структурная организация печени 45 дневных поросят при применении селеданта: а) Улучшение балочной структуры печени; б) Равномерное насыщение паренхимы гликогеном; в) Незначительное содержание липидов в периферической части дольки печени; г) Улучшение структурной организации купферовских клеток.

3.8. Гистохимические и цитофотометрические показатели печени поросят 45 дневного возраста в норме и при применении селеданта

Гистохимически в печени клинически здоровых поросят наблюдалось повсеместное снижение гликогена. У поросят группы селеданта ярко были выражены гранулы гликогена, которые в гепатоцитах располагались мозаично, образуя розетки различной интенсивности окрашивания. Проявлялось чередование оттенков гранул от темно-вишневого до более светлых тонов. Наибольшее количество гликогена отмечено в печени поросят группы селеданта – $39,83 \pm 0,81$ е.о.п. $\times 100$, что на 78,4% было больше, чем в контрольной группе – $22,32 \pm 1,15$ е.о.п. $\times 100$.

Гистохимически в печени клинически здоровых контрольных поросят наблюдалось значительное содержание липидов во всей паренхиме органа, обнаруживались гепатоциты, содержащие одну большую жировую каплю, с оттесненным ядром к плазмолемме. В печени у 45 дневных поросят при применении селеданта липиды выявлялись в незначительной степени. Отмечено наибольшее содержание липидов в контрольной группе – $42,12 \pm 1,65$ е.о.п. $\times 100$, а при применении селеданта – $26,53 \pm 1,32$ е.о.п. $\times 100$, что ниже показателей контрольных животных на 37,1%.

Наибольшее количество ДНК отмечено в группе селеданта – $51,99 \pm 0,40$ е.о.п. $\times 100$, что на 31,6% выше в сравнении с контрольными показателями – $39,51 \pm 0,45$ е.о.п. $\times 100$.

3.9. Ультраструктурная организация печени поросят 45 дневного возраста при применении селеданта

На полутонких срезах в структурной организации печени у 45 дневных поросят при применении селеданта наблюдалось улучшение строения балок, микроциркуляторного русла, купферовских клеток и полиплоидных гепатоцитов.

Гепатоциты наблюдались крупные с большим ядром. В ядрах часто находилось одно, реже два ядрышка, гетерохроматин распределялся в виде глыбок различной величины по всему ядру: вдоль ядерной мембраны, около ядрышка. Количество двуядерных гепатоцитов заметно увеличивалось. Гетерогенные митохондрии имели тесную взаимосвязь с элементами ЭПС, различающиеся по форме и размерам (округлые, палочковидные, гантелевидные, разветвленные). Матрикс митохондрий был различной электронной плотности с преобладанием электронно-плотных участков. ГрЭПС с прикрепленными к ней рибосомами, чаще располагалась на периферии цитоплазмы и находилась в прямом контакте с ядерной мембраной. Равномерно по всей цитоплазме гепатоцитов выявлялись гранулы гликогена (Рис. 10).

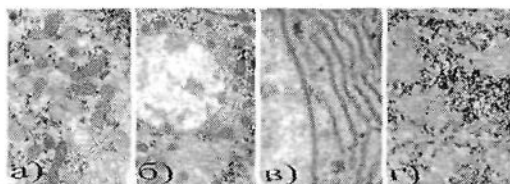


Рис. 10. Ультраструктурная организация гепатоцитов 45 дневных поросят при применении селеданта: а) Увеличение количества полиморфных митохондрий различной электронной плотности и диффузное содержание гранул гликогена в цитоплазме; б) Эксцентричное расположение ядра, развитые органойды; в) Развитая гранулярная эндоплазматическая сеть в перинуклеарной зоне; г) Очаговое скопление гранул гликогена в цитоплазме.

3.10. Морфофункциональная характеристика 12-перстной кишки поросят 45 дневного возраста при применении селеданта

Наблюдалось улучшение структурной организации покровного эпителия на вершухе ворсинки и на ее основании. Основу этого пласта составляли призматические (абсорбтивные) энтероциты с исчерченной каемкой, отмечалось некоторое их расширение в апикальном направлении. Ядра энтероцитов строго ориентировались на базальной мембране клеток, располагались вертикально и имели овальную форму, с мелкими зернами хроматина, расположенного по периферии. Наблюдалась умеренная лимфоплазмоцитарная инфильтрация собственной пластинки, ворсинок. Наибольшее скопление плазмоцитов отмечалось в области крипт, а макрофагов — в области вершухек кишечных ворсинок. Встречались единичные тучные клетки. Межэпителиальные лимфоциты находились как на ворсинках, так и в верхних отделах крипт, между энтероцитами, рядом с базальной мембраной.

На полутонких срезах ворсинки были компактно упакованы с овальными ядрами на базальной мембране в контакте с бокаловидными клетками. На основании ворсин и в области крипт слизистой оболочки 12-перстной кишки стромальные элементы плотно контактировали с энтероцитами (Рис. 11).

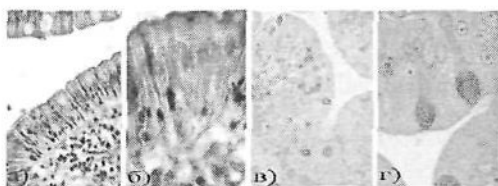


Рис. 11. Структурная организация слизистой оболочки 12-перстной кишки 45 дневных поросят при применении селеданта: а) Улучшение структурной организации эпителиального пласта на апикальной части ворсинки; б) Ориентация ядер энтероцитов, расположенных на базальной мембране слизистой оболочки; в) Компактная упакованность энтероцитов ворсинок г) Контактирующие энтероциты с функционально активными бокаловидными клетками ворсинок.

Многочисленные высокие микроворсинки, образующие щеточную каемку энтероцитов, имели правильное расположение и были преимущественно электронно-плотными. Микропиноцитозные везикулы небольших размеров, различной электронной плотности были рассредоточены, в основном, в апикальной части цитоплазмы энтероцитов. Некрупные, многочисленные, преимущественно электронно-плотные митохондрии равномерно располагались по всей цитоплазме энтероцитов и имели типичное строение и расположение крист (Рис. 12).

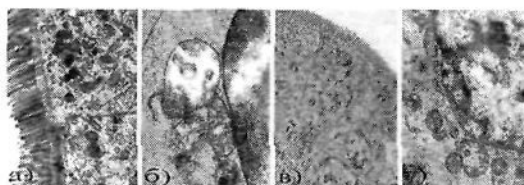


Рис. 12. Ультраструктурная организация слизистой оболочки 12-перстной кишки 45 дневных поросят при применении селеданта: а) Умеренная электронная плотность каемчатых энтероцитов; б) Преобладание агранулярной эндоплазматической сети в энтероците в) Электронноплотные каемчатые энтероциты; г) Полиморфные митохондрии в энтероците.

3.11. Морфометрические показатели 12-перстной кишки поросят 45 дневного возраста

В слизистой оболочке 12-перстной кишки у клинически здоровых поросят наблюдалось истончение слизистой оболочки ($592 \pm 4,9$ мкм) и снижение высоты ворсинок ($446 \pm 5,2$ мкм). При этом глубина крипт составила – $129 \pm 3,8$ мкм, ширина – $35 \pm 2,2$ мкм, а высота энтероцитов ворсинок – $29 \pm 0,2$ мкм, уменьшалось количество бокаловидных клеток ($18 \pm 1,4$ на 100 энтероцитов).

В слизистой оболочке 12-типерстной кишки поросят 45 дневного возраста в группе селедант толщина слизистой оболочки составила $621 \pm 4,1$ мкм; высота ворсинок – $501 \pm 4,4$ мкм, ширина – $105 \pm 3,7$ мкм; глубина крипт

– $143 \pm 3,6$ мкм, ширина – $43 \pm 1,9$ мкм; высота энтероцитов ворсинок – $31 \pm 0,5$ мкм. Увеличивалось количество бокаловидных клеток ($25 \pm 1,8$ на 100 энтероцитов).

4. ВЫВОДЫ

1. В печени у клинически здоровых поросят в возрасте 5-7 дней, как правило, наблюдалось отсутствие дольчатой и балочной структуры, наличие в паренхиме выраженных очагов клеток эритробластического ряда и дистрофических процессов в виде жировой и белковой дистрофии гепатоцитов. У клинически здоровых поросят и в возрасте 45 дней в печени сохранялись остаточные явления в виде расширения синусоидных капилляров, дисконфлексии балочной структуры, уменьшения содержания гликогена и насыщения цитоплазмы гепатоцитов липидными включениями. Происходила везикуляция гранулярной эндоплазматической сети гепатоцитов и в их цитоплазме появлялись полиморфные светлые митохондрии.

2. В слизистой оболочке 12-перстной кишки у клинически здоровых поросят в возрасте 5-7 дней наблюдались дистрофические процессы в энтероцитах ворсин и крипт, разрыхление и отечность паренхимы слизистой оболочки со значительным насыщением кислыми мукополисахаридными соединениями. Эти изменения в слизистой оболочке 12-перстной кишки наблюдались у поросят и в 45 дневном возрасте, но значительно в меньшей степени выраженности. При этом фрагментировались микроворсинки на апикальной поверхности энтероцитов, а также в цитоплазме – митохондрии и мембраны эндоплазматической сети, встречались апоптические энтероциты.

3. В печени у 5-7 дневных поросят, полученных от свиноматок при применении им селеданта в период супоросности, наблюдалось улучшение структурной организации паренхимы, формирование дольчатой и балочной структуры вокруг центральных вен, которая преимущественно состояла из

уплотненных полигональных гепатоцитов. В паренхиме происходило угасание очажков клеток эритробластического ряда.

4. У 5-7 дневных поросят, одновременно в печени, применение селеданта способствовало уменьшению оптической плотности липидов до $20,29 \pm 0,45$ е.о.п. $\times 100$ (против $27,95 \pm 1,05$ е.о.п. $\times 100$ в контроле) и увеличению содержания гликогена до $30,75 \pm 3,22$ е.о.п. $\times 100$ (против $18,46 \pm 1,61$ е.о.п. $\times 100$ в контроле), ядерно-цитоплазматическое отношение составило $34,25 \pm 0,52$ % (против $30,41 \pm 0,49$ % в контроле).

5. Структура слизистой оболочки 12-перстной кишки 5-7 дневных поросят при применении селеданта состояла из развитых ворсинок пальцевидной и языковидной формы, покрытых высокими призматическими энтероцитами с соответствующей дифференциацией. Толщина слизистой оболочки варьировала в пределах – $385 \pm 3,2$ мкм, высота ворсинок – $263 \pm 1,5$ мкм, глубина крипт – $78 \pm 1,1$ мкм, высота энтероцитов ворсинок – $21 \pm 0,3$ мкм, а в контроле эти показатели составили $367 \pm 4,6$ мкм, $258 \pm 1,2$ мкм, $74 \pm 1,2$ мкм, $20 \pm 0,4$ мкм – соответственно. Количество бокаловидных клеток на 100 энтероцитов составило $19 \pm 1,2$ против $16 \pm 1,4$ в контроле.

6. В печени у 45 дневных поросят при применении селеданта наблюдалось завершение формирования дольчатой структуры с соответствующим балочным строением полигональных гепатоцитов, и четким выделением паренхимы от стромы органа. Оптическая плотность содержания гликогена составила – $39,83 \pm 0,81$ е.о.п. $\times 100$ (в контроле $22,32 \pm 1,150,81$ е.о.п. $\times 100$), липидов – $26,53 \pm 1,32$ е.о.п. $\times 100$ (в контроле $42,12 \pm 1,65$ е.о.п. $\times 100$) и ДНК – $51,99 \pm 0,40$ е.о.п. $\times 100$ (против $39,51 \pm 0,45$ е.о.п. $\times 100$ в контроле).

7. На полутонких срезах печени у 45 дневных поросят при применении селеданта значительно улучшалась структурная организация купферовских клеток, а электронно-микроскопически в гепатоцитах увеличивалось количество полиморфных митохондрий различной электронной плотности, на фоне развитой гранулярная эндоплазматическая сети в перинуклеарной

зоне.

8. В слизистой оболочке 12-перстной кишки у 45 дневных поросят при применении селеданта значительно улучшалась структурная организация эпителиального пласта на ворсинках и в криптах, на апикальной поверхности энтероцитов выявлялись ровные электронно-плотные микроворсинки, а в цитоплазме преобладала гранулярная эндоплазматическая сеть. Толщина слизистой оболочки составила – $621 \pm 4,1$ мкм (против – $592 \pm 4,9$ мкм в контроле), высота ворсинок – $501 \pm 4,4$ мкм (против – $446 \pm 5,2$ мкм в контроле), глубина крипт – $143 \pm 3,6$ мкм (против – $129 \pm 3,8$ мкм в контроле), высота энтероцитов ворсинок – $31 \pm 0,5$ мкм (против – $29 \pm 0,2$ мкм в контроле), а Количество бокаловидных клеток на 100 энтероцитов составило – $25 \pm 1,8$, а в контроле – $18 \pm 1,4$.

9. Введение селеданта супоросным свиноматкам и поросятам предупреждало развитие дистрофических процессов в печени и слизистой оболочке 12-перстной кишки и значительно улучшало их структурную организацию у поросят, как в возрасте 5-7, так и в возрасте 45 дней.

5. ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

1. Рекомендуется применять селедант в дозе 20 мкг/кг супоросным свиноматкам дважды за 30-40 дней до опороса с интервалом 10-12 дней, а поросятам – в 20-25 дневном возрасте в той же дозе и с тем же интервалом.

2. Результаты исследований вошли во «Временное наставление по применению селеданта для сельскохозяйственных животных» (Утверждено ветеринарным отделом Воронежского областного управления сельского хозяйства 15.02.2005 года), а также использованы при написании методических рекомендаций «Морфофункциональная характеристика гепатодистрофии молодняка свиней, лечение и профилактика препаратами пантотеновой кислоты и карнитина» (Одобрено секцией «Патология, фармакология и терапия» ОВМ РАСХН 03.05.2006, протокол № 1) и

методического пособия «Методы морфологических исследований», 2-е издание переработанное и дополненное (Одобрено секцией «Патология, фармакология и терапия» ОВМ РАСХН 30.03.2007.).

6. СПИСОК НАУЧНЫХ РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Морфология органов лимфоидной и пищеварительной систем у молодняка животных при коррекции иммунного статуса / С.М. Сулейманов, В.С. Слободяник, **В.В. Сафонов** и др. // **Ветеринарная патология.** – 2005. – N3 (14), – С. 75-80.

2. Морфофункциональные изменения в печени у новорожденных поросят при применении селеданта / **В.В. Сафонов**, С.М. Сулейманов, В.В. Авдеев, и др. // Первая междунар. научно-практическая конф. молодых ученых «Актуальные проблемы диагностики, терапии и профилактики болезней животных» – Воронеж, 2006. – С. 109-111.

3. Влияние лигфола и лигавирина на размеры ядер гепатоцитов / В.В. Авдеев, Г.Л. Асоян, **В.В. Сафонов** и др. // Первая междунар. научно-практическая конф. молодых ученых «Актуальные проблемы диагностики, терапии и профилактики болезней животных» – Воронеж, 2006. – С. 7-10.

4. Влияние иммуномодулятора лигфола на структурную организацию лимфатических узлов у поросят/ Г.Л. Асоян, В.В. Авдеев, **В.В. Сафонов** и др. // Первая междунар. научно-практическая конф. молодых ученых «Актуальные проблемы диагностики, терапии и профилактики болезней животных» – Воронеж, 2006. – С. 15-17.

5. Интегральные показатели лейкограммы периферической крови коров в оценке неспецифической иммунологической реактивности при введении препарата лигфол / Е.В. Михайлов, Ю.В. Шапошникова, **В.В. Сафонов** и др. // Первая междунар. научно-практическая конф. молодых ученых «Актуальные проблемы диагностики, терапии и профилактики болезней

животных» – Воронеж, 2006. – С. 96-98.

6. **Сафонов В.В.** Влияние селеданта на оптическую плотность нуклеопротендов эритроцитов двенадцатиперстной кишки, липидов печени у поросят / В.В. Сафонов // Мат. междунар. конф. «Актуальные проблемы ветеринарной патологии и морфологии животных», посвящ. 100-летию со дня рожд. проф. Авророва А.А. 22-23 июня 2006 г. – Воронеж, 2006. – С. 190-191.

7. Морфофункциональная характеристика гепатодистрофии молодняка свиней, лечение и профилактика препаратами пантатеновой кислоты и карнитина: методические рекомендации / С.М. Сулейманов, В.С. Слободяник, **В.В. Сафонов** и др. – Воронеж: Воронежский ЦНТИ, 2006. – 15с.

8. **Сафонов В.В.** Морфометрические показатели тонкого отдела кишечника поросят при применении селеданта / **В.В. Сафонов**, Ю.П. Балым // Сб. науч. тр. по мат. 16-й Всероссийской научно-методической конф. «Современные проблемы патологической анатомии, патогенеза и диагностики болезней животных». 20-22 сентября 2007 г. Ставрополь, 2007. – С. 204-205.

9. Методы морфологических исследований: методическое пособие / С.М. Сулейманов, А.В. Гребенщиков, **В.В. Сафонов** и др. – 2-е изд., доп. и перераб. – Воронеж: Воронежский ЦНТИ, 2007. – 87с.

10. **Сафонов В.В.** Ультраструктура печени поросят при коррекции гепатодистрофии селдантом / **В.В. Сафонов**, В.С. Слободяник, С.М. Сулейманов, А.В. Гребенщиков // Мат. междунар. научно-практической конф. «Актуальные проблемы ветеринарной медицины», посвящ. 125-летию ветеринарии Курской области. 22-23 мая 2008 г. – Курск, 2008. – С. 353-357.

11. **Сафонов В.В.** Электронно-микроскопические изменения в 12-перстной кишке поросят при коррекции гепатодистрофии селдантом / **В.В. Сафонов** // Мат. междунар. научно-практической конф. «Актуальные проблемы болезней молодняка в современных условиях». 17-19 сентября

Подписано в печать 17.04.2009 г. Формат 60х84/16.
Гарнитура «Times New Roman». Бумага офсетная.
Усл. печ. л. 2,00. Тираж 60. Заказ 145.

Цифровая типография «Скоропечатня»
394000, Воронеж, пер. Солдатский 18, тел.: 616-228.