

На правах рукописи

Боряева



БОРЯЕВА ЮЛИЯ АЛЕКСАНДРОВНА

**МОРФОЛОГИЯ И ГИСТОХИМИЯ СТЕНКИ ТОЛСТОГО
ОТДЕЛА КИШЕЧНИКА У ПОРОСЯТ ОТ РОЖДЕНИЯ ДО
45-СУТОЧНОГО ВОЗРАСТА**

16.00.02 - патология, онкология и морфология животных

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени кандидата
ветеринарных наук

09 АПР 2009

Саранск - 2009

Работа выполнена на кафедре анатомии и физиологии животных Государственного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева»

Научный руководитель - доктор ветеринарных наук, профессор
Столяров Владимир Алексеевич

Официальные оппоненты:

доктор ветеринарных наук, профессор
Васильева Валентина Алексеевна
доктор ветеринарных наук, профессор
Ежкова Маргарита Степановна

Ведущая организация: ФГОУ ВПО «Ивановская государственная с/х академия им. академика Д. К. Беляева»

Защита состоится 28 августа 2009 г. в 12⁰⁰ часов на заседании объединенного диссертационного совета ДМ 212. 117.15 при ГОУ ВПО «Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева» (430005, г.Саранск, ул. Большевикская, 68).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ГОУ ВПО «Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева».

Автореферат диссертации опубликован на сайте Мордовского государственного университета www.mrsu.ru e-mail: dsovet@mrsu.ru

Автореферат разослан «26» марта 2009 г.

Учёный секретарь

диссертационного совета



Т.А. Романова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы Промышленные свиноводческие комплексы и крупные специализированные фермы с законченным циклом воспроизводства характеризуются высокой концентрацией на ограниченных площадях значительного поголовья свиней, на организм которых постоянно оказывает влияние большое количество разнообразных стресс - факторов, обуславливающих снижение их резистентности и продуктивности (Dent, 1970; Kelly, 1980; Чумаченко, 1983; Бузлама с соавт., 1984, 1987, 1995; Жаров, 2000 и др.). В связи с этим одним из важнейших направлений современной ветеринарной науки является разработка и совершенствование средств и методов ранней диагностики болезней молодняка свиней и создание на этой основе надежной системы защиты от так называемых «технологических» патологий (Абрамов, 1966; Конопелько, 1968 и др.). Но это невозможно без достаточной информации как о постнатальном развитии новорожденных в первые месяцы жизни, так и о начале перехода организма из нормального состояния в патологическое при отсутствии клинических отклонений от физиологических норм (Самохин, 1997; Серов, 1999; Крыжановский, 2002).

Изучению развития толстого отдела кишечника и составляющих его слепой, ободочной и прямой кишок и тканей у свиней посвящены работы Н.В. Данилевской (1985, 1987), И.М. Алтухова (1989), Г.Г. Ложкина (1990), С.В. Старченкова (1990), П.И. Жданова (1994), Р.Т. Маннаповой, А.Н. Панина (2000), Р.Г. Канбекова (2003) и др.

В связи с этим особое значение приобретает изучение процессов формирования, и развития тканей стенки толстого отдела кишечника у поросят в раннем постнатальном онтогенезе т. к. они остаются недостаточно изученными. Не полностью раскрыты и изучены процессы и закономерности закладки, формирования и развития эпителиальной, соединительной, мышечной, нервной тканей, дифференциация клеточных дифферонов этих

тканей и их взаимосвязи в онтогенезе. Требуют дополнительного изучения динамики нуклеопротеидного, белкового и углеводного обмена тканей в пренатальном и раннем постнатальном онтогенезе свиней. Это необходимо для знания норм и индивидуального развития организма и практики управления онтогенезом.

Цель и задачи исследования. Целью нашего исследования является изучение возрастных особенностей и закономерностей морфофункционального развития стенки толстого отдела кишечника и его составляющих слепой, ободочной, прямой кишок их слизистой и мышечной оболочек у поросят на органном, тканевом, клеточном уровнях организации.

Для этого были сформулированы следующие задачи:

1. Исследовать возрастную архитектонику и закономерности развития кишечной стенки слепой, ободочной и прямой кишок у поросят от рождения до 45-суточного возраста.

2. Гистологическими и гистохимическими методами исследования выявить возрастные особенности и закономерности развития эпителиальной и мышечной тканей кишечной стенки толстого отдела кишечника. Исследовать их взаимосвязь с развитием структур кишечной стенки (оболочек, слоев, крипт).

3. Гистохимическими методами изучить возрастную динамику нуклеинового, белкового и углеводного обмена клеточных дифферонов эпителиальной и мышечной тканей кишечной стенки толстого отдела кишечника у поросят от рождения до 45-суточного возраста.

Работа является самостоятельным разделом комплексной темы кафедры анатомии и физиологии животных Мордовского государственного университета «Морфогенез и закономерности индивидуального развития организмов (в норме и при патологии)». № государственной регистрации 01200704777.

Научная новизна. Проведено комплексное (с применением гистологических, цитологических и гистохимических методов) изучение

развития эпителиальной и мышечной тканей толстого отдела кишечника и ее составляющих слепой, ободочной и прямой кишок на органном, тканевом и клеточном уровнях организации у поросят от рождения до 45-суточного возраста, выращиваемых на территории Республике Мордовия.

Изучены процессы формирования и развития кишечной стенки и ее слизистой, мышечной и серозной оболочек; динамика роста (площади ядра и цитоплазмы, цитоплазма - ядерное отношение и саркоплазма – ядерное отношение, митотический индекс и индекс апоптоза) клеточных дифферонов эпителиальной и мышечной тканей толстого отдела кишечника. Исследованы возрастные особенности динамики распределения нуклеиновых кислот, нуклеопротеидов, суммарных, основных и кислых белков, а также углеводов в клетках эпителиальной и мышечной тканей стенки толстой кишки у поросят от рождения до 45-суточного возраста.

Теоретическая и практическая значимость работы. Полученные данные расширяют и углубляют имеющиеся в настоящее время сведения: о возрастной динамике роста и развития стенки толстого отдела кишечника; о формировании структур слизистой и мышечной оболочек слепой, ободочной и прямой кишок; о нуклеиновом, белковом, углеводном обмене клеточных дифферонов эпителиальной и мышечной тканей.

Данные о развитии слепой, ободочной и прямой кишок их слизистой оболочки, собственного слоя слизистой оболочки, подслизистой основы слизистой оболочки, мышечной оболочки ее кольцевого и продольного слоев в раннем постнатальном онтогенезе являются показателем «нормы» и могут использоваться в ветеринарной и животноводческой практике. Для организации системы научно обоснованного полноценного кормления, для изучения влияния внешних факторов на рост и развитие поросят, для диагностики и лечения заболеваний толстого отдела кишечника у поросят.

Ряд положений диссертации (развитие оболочек кишечной стенки, развитие клеточных дифферонов эпителиальной и мышечной тканей и динамика их нуклеинового, белкового, углеводного обмена) могут

использоваться при написании учебных пособий и руководств, в учебном процессе на ветеринарных, зооинженерных и биологических факультетах.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Возрастная архитектоника кишечной стенки слепой, ободочной и прямой кишок, ее слизистой и мышечной оболочек

2. Возрастная архитектоника структур слизистой оболочки (складок, крипт) и мышечной (продольного и кольцевого слоев) оболочек слепой, ободочной и прямой кишок.

3. Дифференциация и развитие эпителиальной и мышечной ткани и их, клеточных дифферонов у поросят от рождения до 45-суточного возраста.

4. Гистохимическая характеристика локализации нуклеиновых кислот, суммарных, основных, кислых белков, углеводов в клеточных дифферонах эпителиальной и мышечной ткани толстого отдела кишечника у поросят от рождения до 45-суточного возраста.

Реализация результатов исследования. Материалы исследования используются в научных и учебных целях в Казанской государственной академии ветеринарной медицины, Нижегородской, Ивановской, Костромской государственной сельскохозяйственных академиях. Чувашского аграрного университета, Мордовского государственного университета.

Апробация работы. Материалы диссертации доложены на: Всероссийской научно-производственной конференции (Казань, 2006), Республиканской научно-практической конференции (Саранск, 2007), Межвузовских сборниках научных трудов (Саранск, 2007, 2009).

Публикация результатов исследования. Основные положения диссертации опубликованы в 7 научных работах, в том числе 2 в реферируемых журналах рекомендованных ВАК РФ.

Структура и объем диссертации. Диссертационная работа изложена на 147 страницах машинописного текста и включает разделы: общая характеристика работы, обзор литературы, собственные исследования,

обсуждение результатов исследования, выводы, практические предложения, список использованных источников, который включает 230 источников, в том числе 37 зарубежных. Работа иллюстрирована 15 таблицами, 62 рисунками (графиками и микрофотографиями).

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

В общей характеристике работы обоснована актуальность темы, определены цель и задачи исследования, сформулирована научная новизна и практическая значимость работы, изложены основные положения, выносимые на защиту, приведена структура диссертации.

Глава 2 содержит обзор литературы по изучаемой проблеме. В ней отражено состояние изученности проблемы. Обсуждаются результаты исследований, окружен круг вопросов, связанных с изучением поставленной проблемы. Анализируется многогранность научных подходов и их основные составляющие. Рассматриваются теоретические и прикладные аспекты изучаемой проблемы. Первая глава включает 3 раздела, изложена на 14 страницах.

Глава 3 включает 4 раздела и посвящена изложению и обсуждению собственных исследований.

Раздел 3.1 посвящен материалам и методам исследования.

Исследования проведены на материале полученным от 36 клинически здоровых поросят крупной белой породы, принадлежащих частному предприятию ЗАО «Мордовский бекон» Чамзинского района Республики Мордовия в период с июля 2006 года по февраль 2007 года. Это хозяйство благополучно по инфекционным и инвазионным болезням. Свиноматки и поросята содержатся в типовых свинарниках на сбалансированных по нормам рационах с добавлением белково-витаминно-минеральной добавки «Провими». В хозяйстве практикуют ранний отъем в 30 суток, после чего поросята поступают на дорашивание.

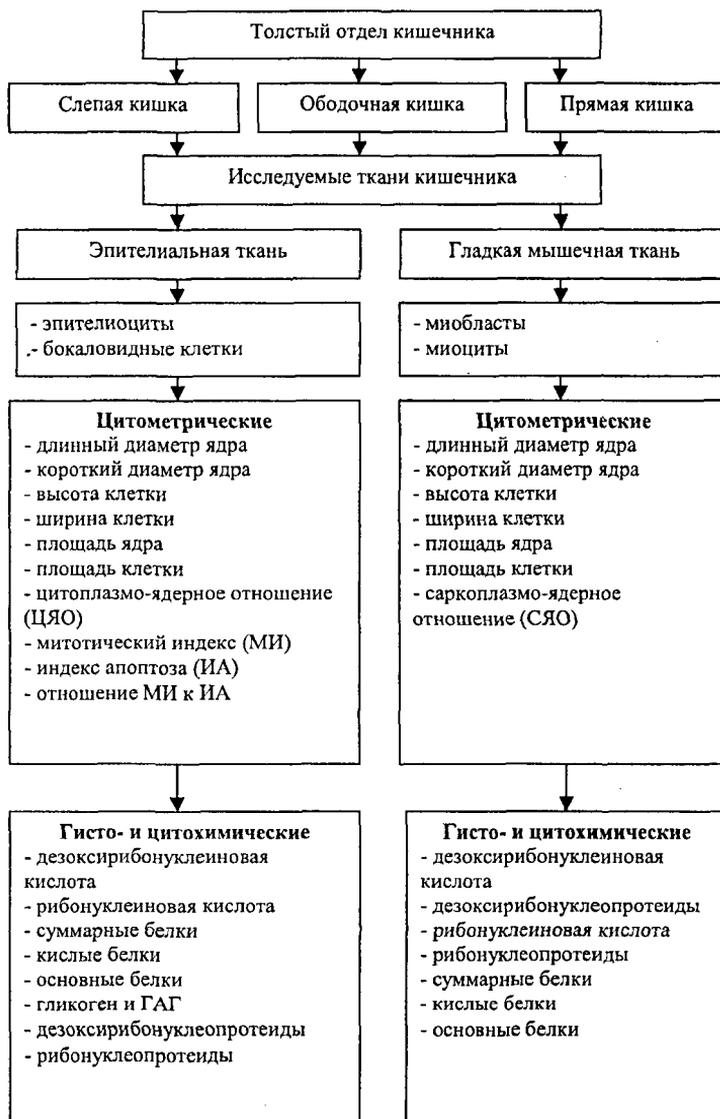
Материалом исследования служил толстый отдел кишечника (слепая, ободочная, прямая кишка), полученный от поросят в раннем постнатальном онтогенезе (от рождения до 45-суточного возраста). После лапаротомии отбирали толстый отдел кишечника и фиксировали для гистологических, цитологических, гистохимических исследований (Столяров В.А. и др. 2005, 2006). Кусочки материала для исследования брали из разных участков отделов кишечника: в слепой кишке - из краниального и каудального концов; в ободочной - из краниального, среднего и каудального; в прямой - из среднего участков. Материал фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина, жидкости Карнуа, в спирт-формалине, с последующей заливкой в парафин (Pears, 1962; Меркулов, 1969; Кононский, 1976, 1992). При проведении гистологических и цитологических исследований учитывали возможность возникновения объективных и субъективных артефактов (Войно-Ясенецкий, Жаботинский, 1970).

Возрастные особенности строения кишечной стенки и составляющих ее оболочек в слепой, ободочной, прямой кишках изучали на депарафинированных срезах, полученных на санном микротоме (толщина срезов 5-10 мкм) и окрашенных гематоксилин-эозином по Эрлиху (Меркулов, 1969). Толщину всей кишечной стенки, толщину слизистой, мышечной и серозной оболочек, глубину и ширину крипт, измеряли при помощи окуляр - микрометра ОК-15, во всех возрастных группах. Относительный прирост толщины, в процентах по Броди (1927), кишечной стенки и составляющих ее оболочек и слоев в слепой, ободочной и прямой кишках, определяли по формуле:

$$K = \frac{(W_t - W_0) \times 100}{(W_t - W_0) / 2}$$

где: K- относительный прирост в процентах за определенный отрезок времени ; W_t – толщина в данном возрасте (t); W_0 - толщина начальная (0); B_1 – относительный прирост в % по Броди по отношению к предыдущему возрасту поросенка; B_2 – относительный прирост в % по Броди по отношению

Схема исследования толстого отдела кишечника у поросят от рождения до 45-суточного возраста



к 45-суточному возрасту поросенка

Цитометрию клеточных дифферонов эпителиальной ткани слепой, ободочной и прямой кишок проводили путем измерения длинного (Дд) и короткого (Кд) диаметров ядра, высоты и ширины клетки. Площадь ядра и клетки, цитоплазма - ядерное (ЦЯО) и саркоплазма - ядерное отношение (СЯО) вычисляли по формулам:

$$S_{\text{я}} = \pi \times \frac{a}{2} \times \frac{b}{2}; S_{\text{к}} = a \times b; \text{ЦЯО(СЯО)} = \frac{S_{\text{кл.}} - S_{\text{я}}}{S_{\text{я}}}$$

где: $S_{\text{я}}$ - площадь ядра; $S_{\text{кл}}$ - площадь клетки; a - длинный диаметр ядра или высота клетки; b - короткий диаметр ядра или ширина клетки; ЦЯО - цитоплазма - ядерное отношение; СЯО - саркоплазма - ядерное отношение

Митотическую активность, митотический индекс, (МИ) и дегенеративные изменения, индекс апоптоза (ИА) клеточных дифферонов эпителиальной ткани определяли из 1000 клеток в миллипроцентах (%). Одновременно вычисляли суммарное отношение МИ к ИА клеток.

Цифровые данные обрабатывались биометрическим методом исследования (Кононский, 1976). Определяли среднюю арифметическую (M) и среднеквадратичное отклонение (δ).

Цито- и гистохимическими методами исследования выявляли ДНК и РНК метиловым зеленым - пиронином по Браше, ДНК по Фельгену-Розунбеку (Пирс, 1962; Лилли, 1969; Кононский, 1976). В качестве контроля на ДНК служили препараты, обработанные кристаллической ДНК-азой, 5% хлорной кислотой (при 60 °С в течении 30 минут), а также препараты, не подвергавшиеся гидролизу в горячем (+60 °С) 1 М растворе соляной кислоты перед окраской их фуксин-сернистой кислотой. Контрольные срезы на РНК инкубировали в растворе панкреатической РНК-азы (1 мг/мл при 37 °С в течении 1 часа) и 1 М растворе соляной кислоты, подогретой до 37 °С в течении 3 часов (Пирс, 1962). Освобождение нуклеиновых кислот (НК) от белковых компонентов проводили в растворе трипсина (0,1 мг/мл при 37 °С в течение 30 минут) и в 4 % растворе трихлоруксусной кислоты (ТХУ) (при 90 °С

в течение 15 минут).

Реакции на основные, кислые и суммарные белки проводили в водном и сулемовом растворе бромфенолового синего (Елисеев, 1967), сулема - бромфеноловым синим по Бонхегу (Пирс, 1962). Контролем в реакциях на кислые и основные белки служили дезаминированные препараты, а также препараты, обработанные раствором трипсина (Елисеев, 1967). Гликоген и гликопротеиды выявляли ШИК – реакцией по Мак-Манусу (Меркулов, 1969). Контролем при проведении реакции на гликоген служили препараты, предварительно обработанные α – амилазой. Гликопротеиды исключались из реакции обработкой препарата абсолютным спиртом или хлороформом (Пирс, 1962; Кононский, 1976).

Для более объективного сопоставления полученных результатов при гистохимических исследованиях выводили средний гистохимический коэффициент (СГК) для различных клеточных дифферонов по 5 бальной системе (Астальди и Верга, 1957). Полученные цифровые данные обрабатывали методом вариационной статистики с использованием критерия (t) Стьюдента. Вычисления производили с помощью программы MedSTAT. Динамика показателей отражена на графиках, построенных с использованием программы Microsoft Word 2003. Статистическая обработка результатов проведенных исследований осуществлялась на основе параметрического метода Стьюдента (Лакин, 1980). Оценка достоверности различий между средними значениями осуществлялась при достоверной вероятности 95% ($p < 0,05$). Корреляционный анализ проводили с использованием коэффициента линейной корреляции Пирсона.

В разделе 3.2 изложены результаты развития стенки слепой, ободочной и прямой кишок их оболочек и слоев у поросят от рождения до 45 суток.

У поросят от рождения до 45-суточного возраста толщина всей кишечной стенки, собственного слоя слизистой оболочки, подслизистой основы слизистой оболочки, мышечной и серозной оболочек достоверно ($p < 0,05$) увеличивается.

В слепой кишке толщина всей кишечной стенки в области вершины складки за данный период времени увеличивается в 2,5 раза, в области дна складки - в 2,8 раза. В ободочной кишке толщина всей кишечной стенки в области вершины складки увеличивается в 2,0 раза, в области дна складки - в 2,1 раза. В прямой кишке толщина всей кишечной стенки в области вершины складки увеличивается 2,4 раза, в области дна складки - в 2,1 раза.

Графическое изображение пересечения данных абсолютного и относительного показателей роста (в % по Броди) свидетельствует о морфофункциональной «зрелости» органа или его структур и даже о «критической фазе развития» по данным показателям (Свечин, 1961, Тельцов, 1983, Столяров, 2001.). Морфофункциональная зрелость (критическая фаза развития) толщины кишечной стенки у поросят от рождения до 45-суточного возраста по динамике абсолютного и относительного (в % по Броди) прироста выявляется: в слепой кишке – в области вершины складки в 10-суточном возрасте, в области дна складки в 5-суточном возрасте; в ободочной кишке – в области вершины и дна складки у 5-суточных поросят; в прямой кишке – в области вершины и дна складки у 15-суточных поросят.

Толщина слизистой оболочки, собственного слоя слизистой оболочки и подслизистой основы слизистой оболочки у поросят от рождения до 45-суточного возраста в толстом отделе кишечника достоверно ($p < 0,05$) увеличивается.

В слепой кишке толщина слизистой оболочки, собственного слоя слизистой оболочки и подслизистой основы слизистой оболочки в области вершины складки увеличивается соответственно - в 2,5, в 2,6 и в 2,4 раза, в области дна складки увеличивается соответственно - в 3,7; 2,6 и 2,8 раза.

В ободочной кишке толщина слизистой оболочки, собственного слоя слизистой оболочки и подслизистой основы слизистой оболочки в области вершины складки увеличивается соответственно - в 2,0; 2,6 и 1,6 раза, в области дна складки соответственно - в 2,1; 1,9 и в 2,3 раза.

В прямой кишке толщина слизистой оболочки, собственного слоя слизистой оболочки и подслизистой основы слизистой оболочки в области вершины складки увеличивается соответственно - в 3,1, 2,9 и 3,2 раза, в области дна складки увеличивается соответственно - в 2,8, в 2,8 и в 2,9 раза.

Морфофункциональная зрелость (критическая фаза развития) слизистой оболочки, собственного слоя слизистой оболочки и подслизистой основы слизистой оболочки выявляется: в слепой кишке в области вершины складки соответственно у 15-, 5-, 15-суточных поросят, в области дна складки - у 5-, 5-, 3-суточных поросят; в ободочной кишке в области вершины складки соответственно у 5-, 20-, 3-суточных поросят, в области дна складки соответственно - у 15-, 15-, 20-суточных поросят; в прямой кишке в области вершины складки соответственно - у 13-, 15-, 15-суточных поросят, в области дна складки - у 20-, 15-, 15-суточных поросят.

Следовательно, в области вершины складки слизистая оболочка ободочной кишки опережает ее развитие в слепой и прямой кишках. В области дна складки слизистая оболочка слепой кишки опережает в своем развитии ободочную и прямую кишки. Собственный слой слизистой оболочки слепой кишки опережает в развитие ободочную и прямую кишки, как в области вершины складки, так и в области дна складки. Подслизистая основа слизистой оболочки ободочной кишки в области вершины складки опережает ее развитие в слепой и прямой кишках. В области дна складки подслизистая основа слизистой оболочки слепой кишки опережает в своем развитии ободочную и прямую кишки.

Толщина всей мышечной оболочки и ее кольцевого и продольного слоев у поросят от рождения до 45-суточного возраста достоверно ($p < 0,05$) увеличивается. Их толщина увеличивается в слепой кишке соответственно в 3,0; в 2,8 и в 2,7 раза. В ободочной кишке - в 2,3; в 2,4 и в 2,2 раза. В прямой кишке - в 1,7; в 1,7 и в 1,6 раза. Толщина кольцевого слоя во всех исследуемых кишках и во всех возрастных группах превалирует над толщиной продольного слоя. При этом кольцевой слой толще в прямой кишке по сравнению со слепой и ободочными кишками.

Морфофункциональная зрелость по динамике абсолютного и относительного прироста (в % по Броди) толщины всей мышечной оболочки ее кольцевого и продольного слоев выявляется в слепой кишке соответственно - у 10-, 6-, 15-суточных поросят; в ободочной кишке соответственно - у 3-, 3-, 3-суточных поросят; в прямой кишке соответственно - у 10-, 3-, 15-суточных поросят.

Толщина серозной оболочки толстой кишки у поросят от рождения до 45-суточного возраста недостоверно увеличивается ($p < 0,05$): в слепой кишке - в 1,2 раза; в ободочной кишке - в 1,2 раза; в прямой кишке - в 1,1 раза. Морфофункциональная зрелость по динамике абсолютного и относительного прироста (в % по Броди) толщины серозной оболочки у поросят от рождения до 45-суточного возраста выявляется в слепой и ободочной кишках у 3-суточных поросят, в прямой кишке у 5-суточных поросят.

С увеличением возраста поросят, изменением режима и рациона кормления происходит изменение функциональной нагрузки на структурные единицы кишечной стенки, сопровождающиеся приспособительными изменениями. Что выражается в повышении процентного отношения толщины слизистой оболочки, собственного слоя слизистой оболочки, подслизистой основы слизистой оболочки, в увеличении толщины мышечной оболочки (кроме прямой кишки) к толщине всей кишечной стенки. В прямой кишке мышечная оболочка фактически толще, чем в слепой и ободочной кишках, но в процентном отношении наблюдается уменьшение толщины мышечной оболочки к толщине всей кишечной стенки. Это связано с увеличением толщины ее слизистой оболочки.

Собственный слой слизистой оболочки и подслизистая основа слизистой оболочки, во всех исследуемых кишках, формирует складки и крипты. Глубина залегания крипт в области вершины и дна складок слизистой оболочки слепой, ободочной и прямой кишок у поросят от рождения до 45 суток увеличивается. Однако увеличение глубины крипт в разных участках исследуемых кишках имеет различную динамику.

Ширина крипт у поросят от рождения до 45-суточного возраста достоверно ($p < 0,05$) увеличивается. При этом изменение ширины крипт имеет неравномерную динамику и имеет периоды увеличения и уменьшения ширины крипт. Четко прослеживается краниально-каудальный градиент изменения ширины крипт, что вероятно связано с различной их функциональной нагрузкой в исследуемых кишках.

Изменение количества крипт на 550 мкм слизистой оболочки исследуемых кишок у поросят от рождения до 45 суток характеризуется достоверным ($p < 0,05$) увеличением: в слепой кишке в 1,22 раза, в ободочной – 1,25 раза и в прямой – в 1,16 раза.

Исходя из кратности увеличения показателей глубины залегания крипт, ширины крипт, а также количества крипт на 550 мкм длины слизистой оболочки, то в функциональном отношении для слизистой оболочки толстого отдела кишечника наибольшее значение имеет глубина залегания крипт по сравнению с их шириной и количеством крипт на 550 мкм длины слизистой оболочки.

В разделе 3.3 изложены результаты исследования развития эпителиальной ткани слепой, ободочной и прямой кишок у поросят от рождения до 45-суточного возраста и включает 2 подраздела.

В подразделе 3.3.1 изложены результаты цитометрического исследования клеточных дифферонов эпителиальной ткани толстого отдела кишечника.

Проведенные нами цитометрические исследования каемчатого эпителия (КЭ) толстого отдела кишечника у поросят от рождения до 45-суточного возраста показали:

1) площадь ядра КЭ в области устья и дна крипт с увеличением возраста поросят уменьшается, находясь в области статистической погрешности ($p < 0,05$) соответственно от $36,2 \pm 1,7 \text{ мкм}^2$ и $36,2 \pm 1,6 \text{ мкм}^2$ у новорожденных до $33,0 \pm 2,1 \text{ мкм}^2$ и $27,7 \pm 2,0 \text{ мкм}^2$ у 45-суточных поросят. При этом изменение площади ядра КЭ происходит неравномерно,

сопровождаясь периодами уменьшения и увеличения. Статистически достоверное снижение площади ядра КЭ с последующим ее увеличением выявляется у 5-суточных порослят в области устья крипт и у 5-, 30-суточных порослят в области устья и дна крипт;

2) площадь КЭ области устья и дна крипт с увеличением возраста порослят достоверно ($p < 0,05$) уменьшается соответственно от $287,1 \pm 18,4$ мкм² и $290,4 \pm 18,8$ мкм² у новорожденных до $149,1 \pm 13,2$ мкм² и $144,1 \pm 12,4$ мкм² у 45-суточных порослят. Наиболее интенсивно достоверное ($p < 0,05$) ее снижение в КЭ области устья крипт выявляется у 1-, 3-суточных порослят и увеличение у 30-суточных порослят, а в области дна крипт достоверное снижение выявляется у 1-суточных порослят;

3) цитоплазма – ядерное отношение (ЦЯО) КЭ области устья и дна крипт с увеличением возраста порослят уменьшается соответственно от 6,9 и 7,0 у новорожденных до 3,5 и 4,2 у 45-суточных порослят. Необходимо отметить, что изменение ЦЯО КЭ области устья и дна крипт сопровождается его увеличением соответственно у 5-, 30- и 5-, 30-, 45-суточных порослят;

4) изменение площади ядра и площади бокаловидных клеток находится в пределах статистической погрешности;

5) анализ динамики изменения МИ КЭ в зависимости от места их локализации показал, что во всех исследуемых возрастных группах наблюдается увеличение МИ КЭ по глубине залегания от области устья до области дна крипт и постепенное снижение ИА КЭ соответственно от области устья к области дна крипт в соответствующих возрастных группах. Большие значения МИ КЭ области дна крипт, у порослят от рождения до 45-суточного возраста, указывают на то, что она является репродуктивной зоной, и здесь идут интенсивные регенеративные процессы, поддерживающие постоянное соотношение делящихся, созревающих и функционирующих клеток.

В подразделе 3.3.2 изложены результаты гистохимического исследования локализации нуклеиновых кислот, нуклеопротеидных,

белковых и углеводных веществ в эпителиальных клетках слепой, ободочной и прямой кишок.

В кариоплазме интерфазных энтодермальных клеток толстой кишки дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК) и дезоксирибонуклеопротеиды (ДНП) выявляются при реакции Фельгена-Розенбека и по Браше в виде гранулярных и нитевидных образований. Рибонуклеиновая кислота (РНК) и рибонуклеопротеиды (РНП) в цитоплазме эпителиальных клеток толстой кишки в стадии интерфазы выявляются по Браше гомогенно, в виде мелкой зернистости.

У поросят от рождения до 45-суточного возраста реакция на ДНК и ДНП КЭ и БК во всех отделах кишечника остается на уровне 4,0-5,0 баллов СГК. При этом интенсивность реакции на ДНК и ДНП ядер КЭ и Бк слепой, ободочной и прямой кишок зависит от места локализации, повышается от шейки до дна крипт. Интенсивность окраски РНП и РНК зависит от места локализации КЭ и уровня дифференциации клеток. В КЭ области дна крипт интенсивность реакции на РНК в течение всего периода исследований остается на уровне 5,0 баллов СГК. В цитоплазме КЭ происходит постепенное увеличение РНК и РНП от 4,5 до 5,0 баллов СГК.

Бокаловидные клетки содержат меньшее количество ДНК и РНК, по сравнению с цитоплазмой эпителиоцитов. Интенсивность реакции в цитоплазме БК остается на уровне 2,0-3,5 баллов СГК. Реакция на ДНК и РНК ядра БК практически не отличаются от интенсивности реакции ядер эпителиоцитов и держатся на уровне 4,0-4,8 баллов СГК.

В возрастном аспекте интенсивность реакциина суммарные белки ядра и цитоплазмы КЭ разных участков крипт слепой, ободочной и прямой кишок имеет тенденцию к увеличению от 4,0 – 4,5 баллов у новорожденных до 4,8 – 5,0 баллов СГК у 45-суточных поросят.

При дифференциальном исследовании интенсивности реакции (в баллах СГК) основных и кислых белков в МЭ крипт слепой, ободочной и прямой кишок установлено:

1) с увеличением возраста поросят происходит увеличение интенсивности реакции основных и кислых белков в эпителиальных клетках крипт всех исследуемых кишок

2) реакция на основные белки МЭ области крипт во всех исследуемых кишках более интенсивна, чем реакция на кислые белки;

3) с 15-суточного возраста поросят реакция на основные и кислые белки КЭ крипт слепой кишки более интенсивная, чем в ободочной и прямой кишках, что указывает на более интенсивный их обмен в слепой кишке.

Исследование интенсивности реакции (в баллах СГК) гликогена и ГАГ эпителиальных клеток крипт слепой, ободочной и прямой кишок у поросят от рождения до 45-суточного возраста показали наличие ряда особенностей:

1) интенсивность их реакции в КЭ и Бк устья и дна крипт слепой кишки, во всех возрастных группах, превалирует над окраской в ободочной и прямой кишках;

2) интенсивность реакции на гликоген и ГАГ в Бк устья и дна крипт во всех исследуемых кишках и во всех возрастных группах превалирует над их реакцией в КЭ устья и дна крипт;

3) в КЭ устья и дна крипт слепой кишки и в КЭ устья крипт ободочной и прямой кишок, а так же в Бк устья и дна крипт слепой, ободочной и прямой кишок выявляется снижение интенсивности реакции на гликоген и ГАГ у 5-суточных поросят с последующим увеличением интенсивности реакции у 15-суточных поросят. При этом наиболее резкое изменение интенсивности реакции выявляется в Бк устья и дна крипт прямой кишки.

В разделе 3.4 изложены результаты исследований развития гладкой мышечной ткани слепой, ободочной и прямой кишок и включает 2 подраздела.

В подразделе 3.4.1 изложены результаты цитометрического исследования клеток гладкой мышечной ткани толстого отдела кишечника.

Проведенными нами цитометрическими исследованиями миоцитов мышечной оболочки толстого отдела кишечника у поросят от рождения до 45-суточного возраста установлено что:

1) в целом площадь ядра достоверно ($p < 0,05$) увеличивается от $50,5 \pm 2,1$ мкм² до $65,6 \pm 3,1$ мкм² или в 1,3 раза;

2) площадь клетки миоцита достоверно ($p < 0,05$) увеличивается от $158,1 \pm 5,4$ мкм² до $265,4 \pm 7,4$ мкм² или в 1,7 раза;

3) соркоплазма-ядерное отношение (СЯО) в целом достоверно ($p < 0,05$) увеличивается от 2,1 у новорожденных до 3,0 у 45-суточных поросят. При этом постепенное увеличение СЯО происходит до 43-суточного возраста поросят до 3,4 с последующим снижением СЯО до 3,0 у 45-суточных поросят.

В подразделе 3.4.2 изложены результаты гистохимического исследования локализации нуклеиновых кислот, нуклеопротеидных, белковых веществ в клетках гладкой мышечной ткани слепой, ободочной и прямой кишок.

Цитохимические исследования ДНК показали, что в кариоплазме миоцитов и миобластов мышечной оболочки толстой кишки она выявляется в виде крупных и различных мелких глыбчатых образований. Интенсивность реакции ДНК ядер миоцитов в стадии интерфазы остается без изменений. При митозе реакция на ДНК возрастает. Интенсивность окраски ДНП и ДНК ядер миобластов и миоцитов у поросят от рождения до 45 суток не изменяется.

В цитоплазме миоцитов и миобластов РНК выявляется в виде четырех фракций: диффузной, зернистой, парануклеарной и ядрышковой. Глыбки РНП и РНК более крупные и интенсивнее окрашиваются перенуклеарно и в ядрышках.

По содержанию РНК и РНП в миоцитах стенки толстой кишки выявляется каудально-краниальный градиент, то есть в миоцитах стенки прямой и ободочной кишок содержание РНК и РНП больше, чем в слепой кишке.

Суммарные белки в ядрах миоцитов и миобластов мышечной оболочки выявляются в виде зерен, распределенных по всей кариоплазме, придающие

ей фиолетовую окраску. Наиболее интенсивная реакция суммарных белков отмечается в области ядерной оболочки. По всей цитоплазме миоцитов и миобластов суммарные белки проявляются в виде сеточки темно-синего цвета.

Анализ динамики интенсивности реакции (в баллах СГК) суммарных белков в миоцитах мышечной оболочки слепой, ободочной и прямой кишок у новорожденных поросят показал, что интенсивность реакции на суммарные белки сохраняется на уровне 5,0 баллов СГК, с небольшим снижением до 4,9 баллов в ободочной кишке. В 45-суточном возрасте реакция выявляется на уровне 5,0 баллов. В миоблестах динамика интенсивности окраски на суммарные белки сохраняется, но окрашивание менее интенсивное, чем в миоцитах.

В раннем постнатальном онтогенезе свиней происходит усиление интенсивности реакции кислых белков в мышечной оболочке кишечной стенки.

ВЫВОДЫ

1. Возрастные изменения специфической архитектоники стенки толстых кишок и ее слоев характеризуются: а) динамикой роста толщины кишечной стенки и составляющих ее оболочек; б) высотой и формой складок слизистой оболочки (области вершины и дна складок); в) формированием крипт и количеством на единицу длины измерения (550 мкм) собственного слоя слизистой оболочки.

2. Толщина кишечной стенки слепой, ободочной, прямой кишок у поросят от рождения до 45-суточного возраста увеличивается неравномерно и асинхронно. Толщина кишечной стенки слепой кишки в области вершины складки увеличивается в 2,5 раза, а в области дна складки — 2,8 раза. В ободочной кишке — соответственно в 2,0 и 2,1 раза, в прямой кишке — в 2,4 и 2,1 раза.

3. Развитие слизистой оболочки, ее собственного слоя слизистой оболочки и подслизистой основы слепой, ободочной и прямой кишок происходит неравномерно и асинхронно. Слизистая оболочка и подслизистая основа в области вершины складок ободочной кишки опережает их развитие в слепой и прямой кишках, а в области дна складок слепой кишки опережает их развитие в ободочной и прямой кишках. Собственный слой слизистой оболочки в области вершины и дна складок слепой кишки опережает ее развитие в ободочной и прямой кишках.

4. Морфологическая зрелость по линейному показателю толщины кишечной стенки у поросят в области вершины и дна складок выявляется в слепой кишке на 10 и 15 сутки; в ободочной кишке на 5 сутки; в прямой кишке на 15 сутки. Морфологическая зрелость по линейному показателю толщины собственного слоя слизистой оболочки и подслизистой основы в слепой кишке в области вершины складки выявляется на 15 сутки, а в области дна складки соответственно – на 4, 3 сутки; в ободочной кишке – на 5, 3 сутки и на 15, 20 сутки; в прямой кишке соответственно – на 13, 15 сутки и на 20, 15 сутки

Морфологическая зрелость развития мышечной оболочки, кольцевого и продольного слоев выявляется на 10; 5; 15 сутки в слепой кишке, на 3 сутки в ободочной кишке и соответственно – на 10; 3; 15 сутки в прямой кишке.

5. Гистогенез эпителиальной и гладкой мышечной тканей стенки толстых кишок подчинен: а) брыжеечно-дистальному градиенту структур и тканей в кишечной стенке; б) асинхронности и гетерохронности развития клеточных дифферонов тканей в зависимости от их локализации в кишечной стенке; в) определенной динамикой изменения площади ядра и всей клетки, цитоплазма-ядерного отношения (саркоплазма-ядерного), митотического индекса и индекса апоптоза.

6. Возрастная специализация нуклеинового, нуклеопротеидного, белкового и углеводного обменов в клеточных дифферонах эпителиальной и мышечной тканей толстого кишечника характеризуется:

- наличием краниально-каудального градиента интенсивности реакции на ДНК (ДНП) и РНК (РНП) в эпителиоцитах разных участков толстого кишечника. Нуклеопротеидный обмен наиболее интенсивен в слепой кишке по сравнению с ободочной и прямой кишками.

- с увеличением возраста поросят увеличивается концентрация суммарных белков и кислых белков в клеточных дифферонах эпителиальной и мышечной тканей.

- с увеличением возраста поросят происходит уменьшение содержания гликогена и гликозаминогликанов с появлением ШИК - положительных амилазоустойчивых, преимущественно гликопротеинов, особенно в бокаловидных клетках.

ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

Результаты исследований: по возрастной архитектонике кишечной стенки слепой, ободочной, прямой кишок и образующих их тканей; по закономерностям развития эпителиальной и гладкой мышечной тканей стенки толстых кишок; по динамике роста площади ядра и цитоплазмы клеточных дифферонов, их ЦЯО, СЯО, МИ и ИА; по локализации и динамике нуклеиновых кислот, нуклеопротеидов, белков, углеводов компонентов и критическим фазам развития относятся к фундаментальным и могут быть использованы:

- при написании соответствующих разделов и справочных руководств по сравнительной анатомии, эмбриологии, гистологии и эволюционной физиологии;

- в учебном процессе при чтении лекций и проведения практических занятий по общей и частной эмбриологии, гистологии, цитологии, анатомии и физиологии на биологических, ветеринарных факультетах высших учебных заведений;

- в лабораторных исследованиях при изучении породных и индивидуальных особенностей развития пищеварительной системы свиней с

целью установления адаптационных возможностей организма.

- полученные данные о возрастной архитектонике кишечной стенки ее оболочек и слоев являются морфофункциональным статусом для свиней крупной белой породы от рождения до 45-суточного возраста при технологии раннего отъема. Они необходимы для практики выращивания животных в разных климатических зонах, при различных технологических условиях выращивания, содержания, и кормления свиней.

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Боряева, Ю.А. Схема проведения исследований развития тканей толстого и тонкого отделов кишечника у поросят от рождения до 2-месячного возраста / В.А. Столяров, В.А. Гаврилова, Ю.А. Боряева, А.В.Федотов // Уч. зап. Казан. гос. акад. ветеринарной медицины. – Казань, 2006. Т. 185. – С. 287 -290.

2. Боряева, Ю.А. Динамика белкового обмена эпителиоцитов тонкой кишки у телят новорожденного этапа развития / В.А. Столяров, В.А. Гаврилова, Ю.А. Боряева // Ресурсосберегающие экологически безопасные технологии получения сельскохозяйственной продукции: материалы респ. научн. - практ. конф., посвящ. памяти С.А. Лапшина. - Саранск, 2006. - С. 251-253.

3. Боряева, Ю.А. Методическое обоснование применение схемы комплексного исследования тканей желудочно-кишечного тракта у млекопитающих и птиц / В.А. Столяров, СВ. Столярова, В.А. Гаврилова, Ю.А. Боряева, А.В, Федотов // Естественнонаучные исследования: теория, методы, практика: межвуз. сб. научн. тр. - Саранск, 2006. - С. 86 – 90.

4. Боряева, Ю.А. Морфология крипт слизистой оболочки толстого от-

24

дела кишечника у поросят крупной белой породы / Ю.А. Боряева, В.А. Столяров // Ресурсосберегающие экологически безопасные технологии получения сельскохозяйственной продукции: материалы респ. научн. практ. конф., посвящ. памяти С.А. Лапшина. - Саранск, 2008. - С. 289 - 291.

5. Боряева, Ю.А. Цитометрические характеристики каемчатых эпителиоцитов слизистой оболочки толстого отдела кишечника у новорожденных и трехсуточных поросят крупной белой породы / В.А. Столяров, Ю.А. Боряева // Ресурсосберегающие экологически безопасные технологии получения сельскохозяйственной продукции: материалы респ. научн. - практ. конф., посвящ. памяти С.А. Лапшина. - Саранск, 2008. - С. 377-379.

6. Боряева, Ю.А. Морфометрические показатели мышечной оболочки толстого отдела кишечника поросят от рождения до 30-суточного возраста / Ю.А. Боряева, В.А. Столяров // Уч. зап. Казан. гос. акад. ветеринарной медицины. – Казань, 2008. Т. 195. – С. 26 – 30.

7. Боряева, Ю.А. Цитометрические характеристики бокаловидных клеток слизистой оболочки толстого отдела кишечника у поросят крупной белой породы / Ю.А. Боряева // Ресурсосберегающие экологически безопасные технологии получения сельскохозяйственной продукции: материалы респ. научн. - практ. конф., посвящ. памяти С.А. Лапшина. - Саранск, 2008. - С. 287 - 289.

Подписано в печать 23.03.09. Объем 1, 15 п. л.
Тираж 100 экз. Заказ № 398.
Типография Издательства Мордовского университета
430005, г. Саранск, ул. Советская, 24