

На правах рукописи

ШУМЕЙКО Сергей Александрович



003054933

**ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ МОРФОЛОГИЯ НАДПОЧЕЧНИКОВ
И МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ ПОРОСЯТ ПРИ ОТЪЕМНОМ
СТРЕССЕ И ЕГО ПРОФИЛАКТИКЕ**

16 00.02 - патология, онкология и морфология животных

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата ветеринарных наук

Воронеж - 2007

Работа выполнена в ГНУ «Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии»

Научный руководитель: кандидат биологических наук, доцент
Слободяник Валентина Сергеевна

Официальные оппоненты: доктор ветеринарных наук, профессор
Алтухов Николай Михайлович

кандидат ветеринарных наук
Моргунова Валентина Ивановна

Ведущая организация: ФГОУ ВПО «Донской государственный аграрный университет»

Защита состоится «29» марта 2007 года в «13⁰⁰» часов на заседании совета Д 220.010.05 при ФГОУ ВПО «Воронежский государственный аграрный университет имени К.Д. Глинки»: 394087, г. Воронеж, ул. Мичурина, 1, тел (4732) 53 – 71 – 66.

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

Автореферат разослан «28» февраля 2007 года.

Ученый секретарь
диссертационного совета



Хромова Л.Г.

1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

1.1. Актуальность темы. Перевод свиноводства на промышленную основу обострил и технологически закрепил воздействие на животных неблагоприятных факторов, вызывающих состояние стресса (Бузлама В.С., 1976, 1997; Гома Н.А. с соавт., 1983; Зеньков А.С. с соавт., 1985; Толкачев И.С., 1998; Макарадзе Л.А., 1999 и др.).

Отъем, перегруппировки, транспортировка, ненормированное кормление и другие неотъемлемые особенности промышленного свиноводства приводят к снижению резистентности и продуктивности свиней (Gmelin W., 1974; Kelley K., 1980; Самохин В.Т. с соавт., 1983; Чумаченко В.Е., 1983; Бузлама В.С. с соавт., 1984, 1987, 1995).

Алтухова О.Н. с соавт. (1983) сообщает, что транспортировка свиней вызывает стресс-реакцию, сопровождающуюся значительными морфофункциональными сдвигами в надпочечниках, которые проявляются уже через сутки после транспортировки и лишь на 20 сутки наблюдались признаки нормализации гормонообразования. При этом у животных не только снижается продуктивность и ухудшается качество продукции, но и повышается предрасположенность к заболеваниям (Плященко С.И. с соавт., 1983; Шахов А.Г. с соавт., 1980). В частности, транспортный стресс способствует переболеванию болезнями органов пищеварения и дыхания до 80% телят (Фомичев Ю.П., 1974). Из технологического наиболее отрицательным для поросят является отъемный стресс, предрасполагающий массовому возникновению желудочно-кишечных расстройств (Пушкарский В.Г., 1979).

В целом, как указывает Бузлама В.С. (1996), все стрессы, в отдельности каждый, и тем более в совокупности ведут еще к большему снижению сопротивляемости организма, к появлению массовых клинических и субклинических заболеваний, к снижению продуктивности, воспроизводительной способности и в конечном итоге, это отрицательно сказывается на эффективности свиноводства. Низкое качество продуктов в свиноводстве при стрессе связано с нарушением обмена веществ в организме и изменений состава его органов и тканей, что приводит к образованию PSE свинины. Поэтому для профилактики отрицательных последствий стресса и улучшения качества мяса животных, необходимо использование высококачественных кормов, обогащенных биологически активными веществами, энергией, насыщенными жирными кислотами, гликозидами, незаменимыми аминокислотами, микроэлементами и витаминами, особенно витаминов группы В – пантотеновой кислоты и других.

Следовательно, профилактика технологического стресса в промышленном свиноводстве является дополнительным и достаточно сильным резервом увеличения производства продукции и снижения потерь, складывающихся из за не до получения привесов, затрат на лечение, ущерба от падежа и снижения качества мяса (Kosztolich O., 1983; Kietzmann M., 1984).

Однако многие вопросы структурно-функциональной сущности стресса при промышленной технологии свиноводства остаются невыясненными и требуют разрешения (Л.А.Макарадзе, 1999). В частности, недостаточная изученность функциональной морфологии надпочечников и мышечной ткани не позволяет раскрыть основные моменты потери продуктивности, отставания в росте и развитии поросят при отъемном стрессе и тем самым разработать научно-обоснованные меры борьбы с ним.

1.2. Цели и задачи исследований Целью настоящей работы явилось изучение функциональной морфологии надпочечников и мышечной ткани у поросят при отъемном стрессе и его профилактике. В этой связи на разрешение

были поставлены следующие задачи:

1. Изучить клиническое проявление стресса у поросят после отъема;
2. Изучить функциональную морфологию надпочечников у поросят при отъеме и в период дорастивания;
3. Изучить влияние препаратов пантотеновой кислоты и карнитина на морфофункциональное состояние надпочечников и мышечной ткани поросят;
4. Разработать рекомендации по профилактике отъемного стресса у поросят.

1.3. Научная новизна. Впервые изучена клиничко-морфологическая характеристика отъемного стресса у поросят. Впервые выяснен патоморфогенез отъемного стресса у поросят на клеточном и субклеточном уровнях в надпочечниках. Впервые изучена функциональная морфология надпочечников и мышечной ткани у поросят при профилактике отъемного стресса препаратами пантотеновой кислоты и карнитином и научно обоснована целесообразность их применения.

1.4. Практическая значимость и внедрение. Знание морфофункциональных особенностей надпочечников и мышечной ткани у поросят при отъемном стрессе позволяет создать научно-обоснованные меры борьбы с ним. Результаты исследований вошли в методическое пособие «Методы морфологических исследований» (Одобрено секцией «Патология, фармакология и терапия животных» ОВМ РАСХН 30.03.2000 г., протокол № 1) и методические рекомендации «Морфофункциональная характеристика гепатодистрофии молодняка свиней, лечение и профилактика препаратами пантотеновой кислоты и карнитина» (Одобрены секцией «Патология, фармакология и терапия» ОВМ РАСХН 03.05.2006 г., протокол № 1). Результаты исследований используются в учебном процессе и в работе научно-исследовательских учреждений.

1.5. Апробация. Материалы диссертации представлены, обсуждены и одобрены на: научных конференциях Всероссийского научно-исследовательского ветеринарного института патологии, фармакологии и терапии (1997-2006); международном координационном совещании «Экологические проблемы патологии, фармакологии и терапии животных» (Воронеж, 1997), международной конференции, посвященной 100-летию со дня рождения члена корр. ВАСХНИЛ Котова В.Т. (Воронеж, 1999); международной конференции, посвященной 80-летию Московской ветеринарной академии (Москва, 1999); международной конференции, посвященной 100-летию со дня рождения профессора А.А. Авророва (Воронеж, 2006)

1.6. Публикация. Основные материалы по диссертации опубликованы в 7 научных трудах.

1.7. Объем и структура диссертации. Материалы диссертации изложены на 143 страницах текста компьютерного исполнения и включают введение, обзор литературы, материал и методы исследований, результаты собственных исследований и их обсуждение, выводы, практические предложения и список использованной литературы, содержащий 372 источника, в том числе 106 зарубежных авторов. Диссертация иллюстрирована 10 таблицами и 29 рисунками.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Клиническое проявление стресса у поросят после отъема;
2. Функциональная морфология надпочечников у поросят при отъеме и в период дорастивания;
3. Влияние препаратов пантотеновой кислоты и карнитина на морфофункциональное состояние надпочечников и мышечной ткани поросят.

2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЙ

Работа выполнена в 1997-2006 годы в отделе патологической морфологии Всероссийского научно-исследовательского ветеринарного института патологии, фармакологии и терапии Российской академии сельскохозяйственных наук (ВНИВИФит 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 (№ госрегистрации: 01860113279 ; 01.9.90001257 ; 01.200.117018). Научный консультант: Заслуженный деятель науки Российской Федерации, доктор ветеринарных наук, профессор - Сулейманов Сулейман Мухитдинович.

Для проведения опытов поросят подбирали по принципу парных аналогов по возрасту, массе тела и интенсивности роста. Оценку адаптивных способностей и состояния здоровья поросят-отъемышей проводили по продуктивности, морфологических и биохимических показателей крови животных. Рост поросят-отъемышей контролировали по изменениям массы тела. Взвешивание проводили четыре раза: при комплектовании групп, в день отъема, через 1 и 10 суток после отъема. Отъем поросят проводили в 30 - 35 дневном возрасте.

На 5 группах (по 15 голов в каждой) поросят сразу после отъема изучалось профилактическое действие препаратов пантотеновой кислоты и карнитина при отъемном стрессе. В опыте использовались препараты пантотената Са в дозе 10 мг/кг, карнитина в дозе 25 мг/кг и липамида (положительный контроль) в дозе 1 г/голову. Первой группе поросят применялся пантотенат, второй группе - карнитин, третьей группе - липамид, четвертой группе - сочетание карнитина с пантотенатом, а пятой группе (отрицательный контроль) – препараты не применялись.

Препараты задавались в смеси с сухим комбикормом один раз в сутки в течение 30 дней. Через 35 дней от начала опыта от 5 голов из каждой группы была взята кровь для проведения соответствующих гематологических и биохимических исследований. В течение опыта за поросятами велось клиническое наблюдение. Подопытные поросята до и после опыта взвешивались, а при убое учитывались абсолютные и относительные массы паренхиматозных органов.

Кровь для исследований брали у поросят из хвостовых сосудов. В крови и ее сыворотке определяли содержание эритроцитов, лейкоцитов, гемоглобина, гематокрита, общего белка и др. В общей сложности для проведения экспериментальных исследований было использовано 176 голов молодняка свиней, из них было убито 19 поросят.

Определение аминокислотного состава печени, сердца и длиннейшей мышцы спины поросят проводилось на аминокислотном анализаторе «AAA-339Т» методом ионообменной хроматографии. Образцы ткани перед исследованием в течение 24 часов подвергались гидролизу в 6N HCl с предварительным окислением надмуравьиной кислотой в соотношении 1: 9.

Для проведения гистологических, гистохимических и электронно - микроскопических исследований по 3 поросенка убивали на 1, 3, 7 и 15 дни после отъема. Морфологическим исследованиям были подвергнуты печень, надпочечники, сердце, длиннейшая мышца спины. Материал для гистологического

и гистохимического исследования фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина, 96° спирте и жидкости Карнуа. Кусочки органов заливали в парафин с последующим приготовлением серийных срезов, а при необходимости срезы изготавливали на замораживающем микротоме.

Фиксацию материала для электронной микроскопии проводили в 2,5 % - ном глютаровом альдегиде на 0,114 М коллидновом буфере на холоде с постфиксацией в 1 % - ном растворе тетраокси осмия на том же буфере. Осмолярность 360 мосм достигали введением во второй фиксатор 0,05 М железосинеродистого калия и раствора Рингера. Материал заключали в эпон-812. Ультратонкие срезы контрастировали цитратом свинца и уранилацетатом и просматривали в электронном микроскопе «Тесла ВС - 500».

Для изучения общей морфологической структуры органов срезы окрашивали гематоксилин - эозином и гематоксилин - пикрофуксином (Ван - Гизон) Липиды выявляли суданом 3 + 4 и суданом черным, гликоген и нейтральные мукополисахариды – ШИК-реакцией по Шабадашу и Бауэру.

Окуляр-микрометром (МОВ-15) измеряли объем ядер клеток коры надпочечников, соотношение коркового и мозгового слоев надпочечника, толщину клубочковой, пучковой и сетчатой зон коры надпочечника Цифровые данные обрабатывали методом вариационной статистики с использованием критерия Стьюдента при использовании программируемых ЭВМ МК - 56 и МК - 61. На ЭВМ выявляли коррелятивную связь между различными показателями органов и организма.

3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1. Клиническое проявление отъемного стресса у поросят

Главным показателем здоровья молодого организма являлась интенсивность его роста (табл. 1). При этом отъем вызывал существенное угнетение роста поросят. Так, за 10 дней до отъема интенсивность роста составила 31 %. В течение суток после отъема рост поросят прекратился и они даже потеряли набранное. Вследствие этого средний прирост массы тела был ниже на 16,3 %, чем до отъема. Через 10 дней после отъема скорость роста поросят восстанавливалась очень медленно и среднесуточный прирост массы тела был только на 11,6 % больше исходного.

Таблица 1.

Влияние на рост поросят отъемного стресса

| Сроки исследования | Масса поросят (г) |
|----------------------------|-------------------|
| За 10 дней до отъема | 7340 ± 160 |
| В день отъема | 9620 ± 200 |
| Через сутки после отъема | 9150 ± 230 |
| Через 10 дней после отъема | 10470 ± 210 |

Отъем, являющийся обязательным элементом современной технологии производства свинины, оказал неблагоприятное влияние на состояние здоровья и

интенсивность роста поросят. Продуктивность поросят снизилась сразу после отъема до 16,3 %. После отъема поросят прирост живой массы медленно увеличивался и к 10 дню после отъема достигал величины на 11,6 % больше исходного. При отъеме прирост массы тела поросят снижался в первые 10 дней после отъема и составлял менее 76 г в сутки, а на 25 день после отъема достигал вновь исходной величины – 215 г/сутки. В первые 3 дня после отъема поросята чувствовали себя дискомфортно, беспокоились.

3.2. Функциональная морфология надпочечников у поросят при отъеме

В надпочечниках у поросят до отъема толщина клубочковой и пучково-сетчатой зон составляла в среднем $158,9 \pm 17,1$ мкм и $798,3 \pm 47,5$ мкм, а объем ядер – в среднем $95,1 \pm 4,3$ мкм³ соответственно (таблица 2).

Таблица 2.

Морфометрические показатели коры надпочечников у поросят при отъеме

| Показатели | сроки исследования (дни) | | | | |
|--|--------------------------|------------------|------------------|-----------------|--------------|
| | До отъема | После отъема | | | |
| | | 1 | 3 | 7 | 15 |
| Толщина клубочковой зоны (мкм) | $158,9 \pm 17,1$ | $161,9 \pm 12,0$ | $215,3 \pm 11,2$ | $225 \pm 7,8$ | 169 ± 12 |
| Толщина пучково-сетчатой зоны (мкм) | $798,3 \pm 47,5$ | $838 \pm 87,3$ | $1030 \pm 60,1$ | $1250,1 \pm 72$ | 815 ± 70 |
| Объем ядер пучковой зоны (мкм ³) | $95,1 \pm 4,3$ | $180,1 \pm 14,1$ | $128 \pm 10,3$ | $115,2 \pm 7,4$ | $97 \pm 4,2$ |

Установлено, что через день после отъема поросят толщина клубочковой зоны увеличилась и в среднем составляла $161,9 \pm 12,0$ мкм, а пучково-сетчатой – увеличилась до $838 \pm 87,3$ мкм. По сравнению с контрольными животными объем ядер пучково-сетчатой зоны резко увеличивался и достиг $180,1 \pm 14,1$ мкм³. Через три дня после отъема толщина клубочковой зоны увеличилась до $215,3 \pm 11,2$ мкм, а толщина пучково-сетчатой зоны – $1030 \pm 60,1$ мкм. Объем ядер пучково-сетчатой зоны уменьшался и составлял $128,0 \pm 10,3$ мкм³. На 7 день после отъема толщина клубочковой зоны незначительно увеличивалась и составила $225 \pm 7,8$ мкм, толщина пучково-сетчатой зоны увеличилась до $1250,1 \pm 72$ мкм, а объем их ядер уменьшилась до $115,2 \pm 7,4$ мкм³. Через 15 дней после отъема, полученные цифровые данные резко приближались к исходным величинам, что указывало на нормализацию морфофункциональных показателей.

Проведенные исследования показали, что, начиная со второго дня (через день после отъема) кора надпочечников находилась в состоянии повышенной функциональной активности, которая нормализовалась лишь в 15-й день после отъема.

3.3. Функциональная морфология надпочечников в период дорашивания

В надпочечниках у поросят на первый же день после отъема при гистологическом исследовании отмечали увеличение толщины коркового слоя. Толщина клубочковой зоны составляла $128,4 \pm 10,9$ мкм, а пучково-сетчатой – $652,4 \pm 12,7$ мкм. Объем ядер кортикальных клеток увеличивался в клубочковой зоне до $90,2 \pm 5,9$ мкм³, а пучково-сетчатой – до $127,9 \pm 12,3$ мкм³. В пучковой зоне увеличивалось число «темных» клеток (рис. 1). В наружной пучковой зоне коры надпочечников значительно возрастало количество крупных вакуолизированных клеток, электронномикроскопически в кортикальных клетках отмечали расширение микроциркуляторного русла, появление множества полиморфных митохондрий с просветленным матриксом (рис. 1 г). Канальцы гранулярной эндоплазматической сети были расширены, однако 54 % от общего объема цитоплазмы кортикальных клеток занимали митохондрии, около 43 % - агранулярная эндоплазматическая сеть и лишь 2 % - жировые включения. Комплекс Гольджи серьезным изменениям не подвергался.

На 3-й день после отъема в надпочечниках у поросят наблюдали нарушение гемодинамики и структурной организации кортикальных клеток. В этот же период клетки клубочковой зоны содержали незначительное количество липидных включений и были вакуолизированы. На границе клубочковой и пучковой зон отмечалась гиперплазия кортикальных клеток (рис. 2 а). В пучковой зоне отмечалось нарушение гемодинамики в виде гиперемии капилляров и обновление этой зоны преимущественно темными клетками с изредка появляющимися светлыми клетками с вакуолизированной цитоплазмой (рис. 2 б). Увеличивалось количество светлых клеток (рис. 2 в) в клубочковой и пучковой зонах коры надпочечников у поросят на 3-й день после отъема, выявили значительные изменения в структуре клеточных органелл, свидетельствующие об активизации процессов синтеза кортикостероидов. Наблюдали увеличение количества темных клеток. В них ядра были крупными с измененной конфигурацией, изрезанными фестончатыми краями и неправильно распределенным хроматином. Встречались ядра в состоянии сморщивания (рис. 2 г). Обращало на себя внимание уменьшение количества липидного материала, что проявлялось в уменьшении числа и размеров липидных капель, а также снижении их электронной плотности. Встречались липидные капли с небольшим изменением конфигурации. Обычно липидные

включения соприкасались с митохондриями и канальцами эндоплазматической сети. Не зернистая эндоплазматическая сеть хорошо была развита, занимала 55,43 % от общего объема цитоплазмы. Канальцы зернистой эндоплазматической сети были резко расширены и образовывали множество электронно-прозрачных вакуолей различной величины. Комплекс Гольджи был слегка гипертрофирован, имел типичное строение. В области расположения комплекса Гольджи наблюдали довольно большое количество вторичных лизосом средних размеров. Значительным изменениям подверглись митохондрии. Для митохондрий был характерен полиморфизм. Встречались митохондрии крупных размеров, средние и мелкие. Основную массу составляли митохондрии средней величины с просветленным матриксом. Относительный объем митохондрий составил 40,91 % от общего объема цитоплазмы. Наблюдали функциональную неоднородность клеток лучковой зоны. Встречали светлые клетки с относительно небольшим количеством митохондрий и светлыми липидными каплями, содержимое которых подверглось резорбции. На 7-й день после отъема наблюдали стирание границ между зонами коры надпочечников, гиперплазию клеток. В надпочечниках некоторых поросят наблюдали соединительнотканые волокна в клубочковой зоне.

Встречались участки, утратившие характерное для этой зоны строение, с беспорядочно расположенными клетками (рис. 3 а). В пучковой зоне отмечали гиперемию, капилляры были расширены и заполнены кровью. Вокруг капилляров преобладали темные клетки. В некоторых местах встречались мелкие точечные кровоизлияния. Вокруг кровоизлияний структура эпителиальных тяжей нарушалась, клетки располагались хаотично. Ядра клеток были деформированы, местами находились в состоянии лизиса, цитоплазма многих клеток была набухшей, вакуолизированной. Границы клеток стирались. В сетчатой зоне наблюдали гиперемию и единичные мелкие точечные кровоизлияния (рис. 3 б). Наблюдалось увеличение количества светлых клеток (рис. 3 в), ядра клеток увеличивались в размерах с образованием многочисленных инвагинаций ядерной мембраны (рис. 3 г). Кариоплазма содержала большое количество гетерохроматина, расположенного по периферии ядра. В дальнейшем происходило увеличение профилей незернистой эндоплазматической сети. Канальцы эндоплазматической сети были резко расширены и образовывали большое количество мелких и средних вакуолей, заполненных электроннопрозрачным содержимым. Относительный объем незернистой эндоплазматической сети составил 66,45 % от общего объема цитоплазмы. Митохондрии подверглись резким изменениям. Для них был характерен значительный полиморфизм. Встречались митохондрии округлые, средних размеров с немногочисленными, продольно расположенными кристами и электронноплотным матриксом. Наблюдали единичные митохондрии бобовидной формы. Часть митохондрий имела большие размеры с плотно расположенными кристами. Другая часть характеризовалась гигантскими размерами, просветлением матрикса и единичными, частично редуцированными кристами. Относительный объем митохондрий составил 31,8 %.

На 15-й день после отъема поросят в надпочечниках наблюдали ослабление дистрофических процессов и усиление репаративных изменений, которые проявлялись в виде увеличения количества митозов и появления большого количества мелких, густо расположенных клеток, на границе клубочковой и пучковой зон (рис. 4 а). В корковом веществе надпочечников поросят убитых на 15-е сутки отъема наблюдали умеренное количество липидов

Основная часть липидных включений располагалась в корковой зоне. Особенно в корковой зоне надпочечников в этот период значительно увеличивалось количество темных клеток, что наиболее хорошо видно было в ультраструктурной организации клеток клубочковой зоны (рис. 4 б). В кортикальных клетках регистрировались деструктивные процессы, характеризующиеся редукцией клеточных мембран, вакуолизацией и разрушением цитоплазматических органелл, дистрофией ядер (рис. 4 в). Одновременно в ультраструктуре кортикальных клеток наблюдали развитие процессов регенерации. Четко прослеживалось два типа митохондрий. Одни из них были крупными с просветленным матриксом и единичными продольно расположенными длинными кристами (рис. 4 г), другие митохондрии преимущественно имели мелкие размеры и выделялись осмиофильностью. Гранулярный компонент эндоплазматической сети был представлен небольшим количеством канальцев. Незернистая эндоплазматическая сеть состояла из множества мелких везикул со светлым содержимым. Выявлялось множество цистерн комплекса Гольджи. Кроме того, выявлялось умеренное количество липидного материала в кортикальных клетках различной электронной плотности, незначительное количество первичных лизосом. Характерной особенностью органа являлось наличие клеток, в которых наблюдалось чередование зон, где шел активный синтез. Отмечалось много клеток в меньших размерах с небольшими ядрами

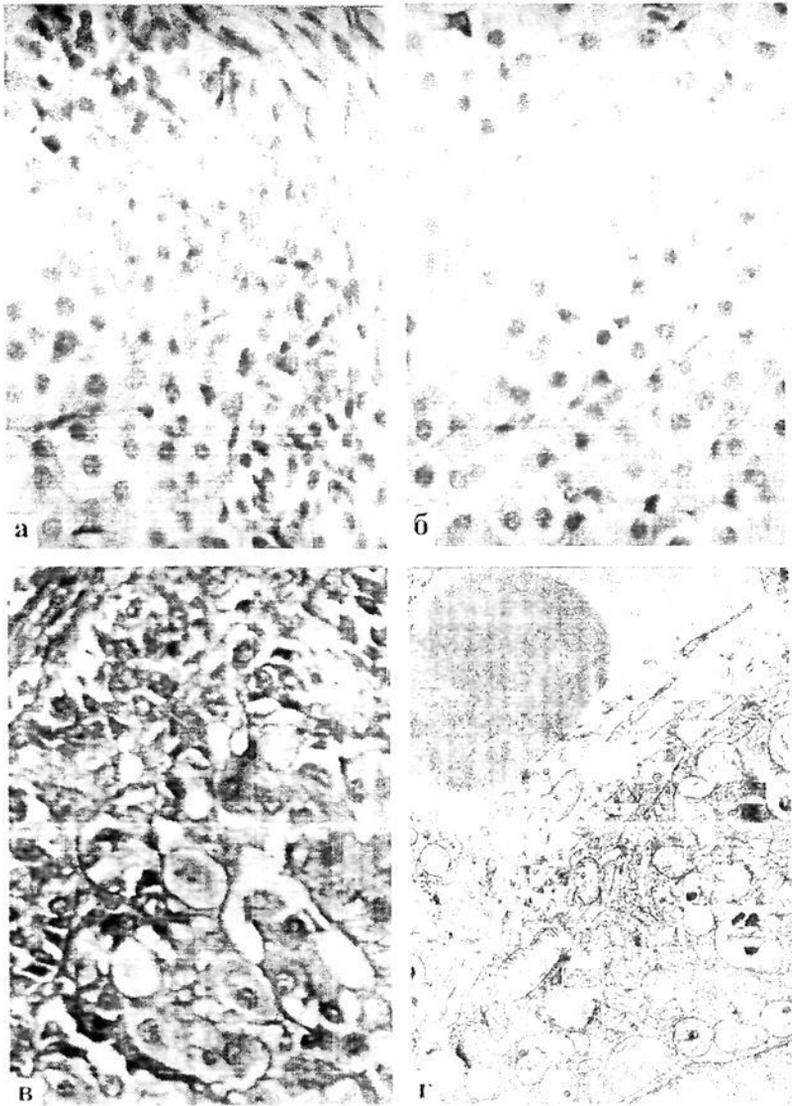


Рис. 1. Структурная организация коры надпочечников у поросят на 1 день после отъема:

- а) дисконкомплексация клеток клубочковой зоны;
- б) Увеличение количества темных клеток в пучковой зоне;
- в) Вакуолизация клеток наружной пучковой зоны;
- г) Расширение микроциркулярного русла.

Окр. гем.-эозин. Ув. ок. 7, об. 40 (а, б, в), г - х 6000.

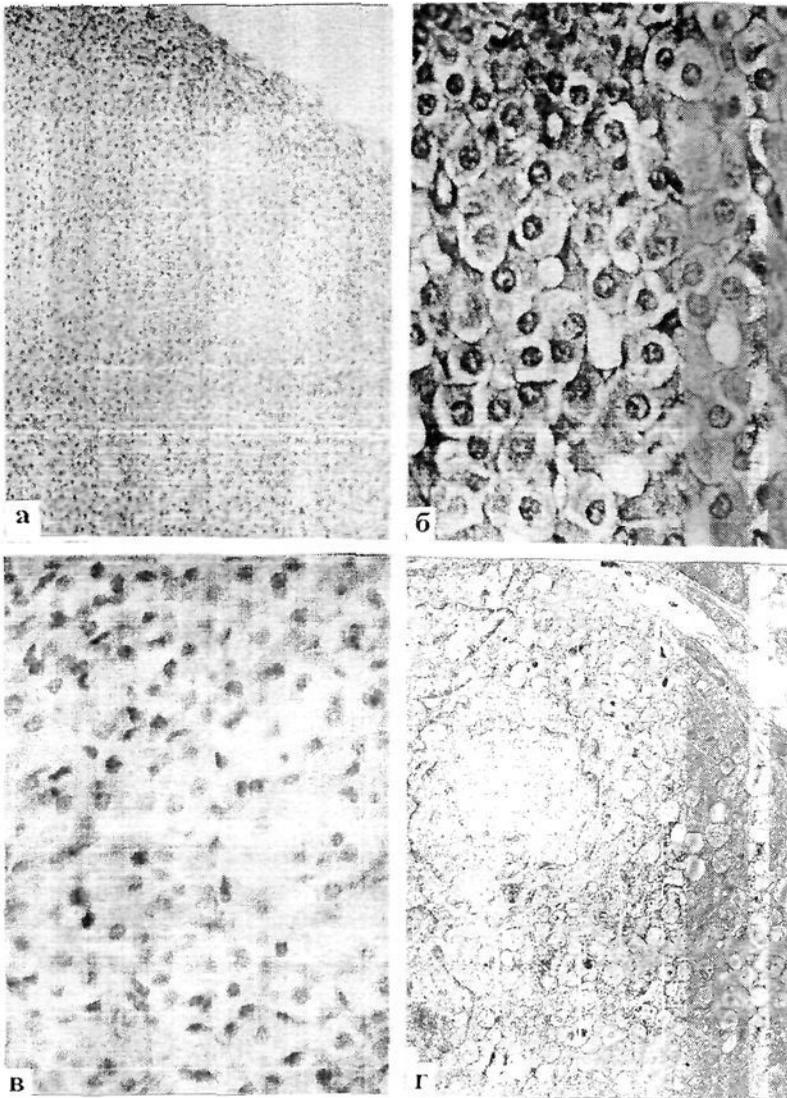


Рис. 2. Структурная организация надпочечников у поросят на 3 день после отъема: а) Незначительная гиперплазия клеток в клубочково - пучковой зоне; б) Вакуолизация клеток пучковой зоны; в) Увеличение количества светлых клеток в сетчатой зоне; г) Ультраструктура темных клеток. Окр. гем. – эозин. Ув. ок. 7, Об. 10 (а), 40 (б, в), x 4000 (г).

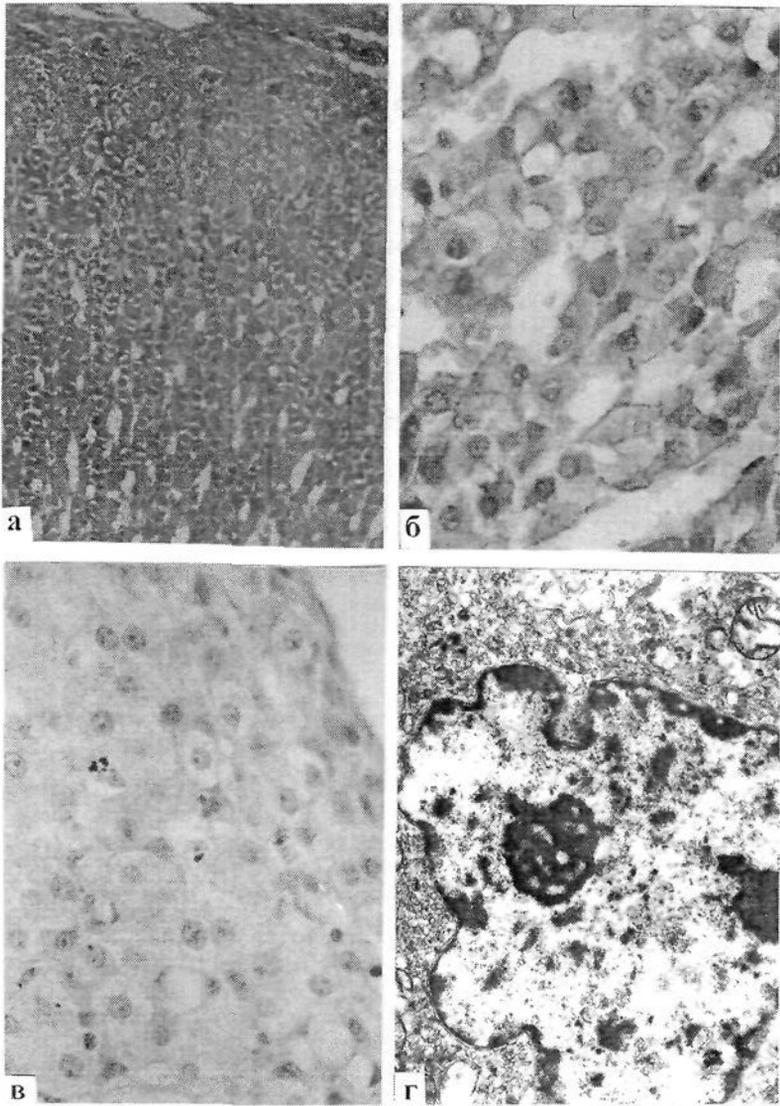


Рис. 3. Структурная организация надпочечников у поросят на 7-й день после отъема: а) Стирание границ между зонами коры;

б) Нарушение гемодинамики и дистрофия клеток в пучковой

зоне; в) Увеличение количества светлых клеток коры

надпочечников; г) Инвагинация ядерной мембраны в

кортикоците. Окр. гем. – эозин. Ув. ок. 7, об. 10 (а), 40

(б, в), x 6000 (г).

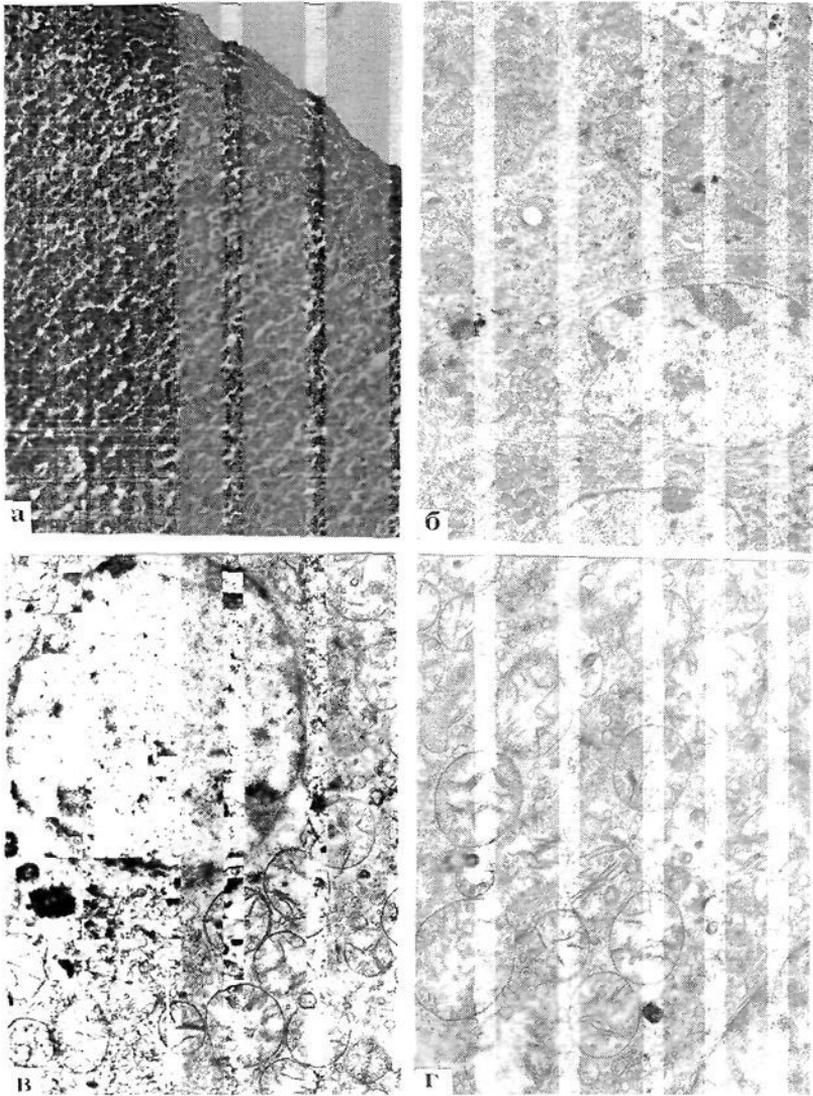


Рис. 4. Структурная организация надпочечников у поросят на 15 день после отъема: а) Увеличение количества мелких густо расположенных клеток в клубочково – пучковой зоне; б) Ультраструктура темных клеток клубочковой зоны; в) Набухание ядерной мембраны и деструкция цитоплазматических органоидов кортикоцита; г) Наличие митохондрий с продольными кристами. Окр. гем. – эозин. Ув. ок. 7, об. 10 (а), х 4000 (б), х 6000 (в), х 10000 (г).

3.4. Профилактика отъемного стресса у поросят препаратами пантотеновой кислоты и карнитина

В период опыта поросята всех групп находились в пределах нормы, т.е. были клинически здоровыми. Поросята в опытных группах интенсивно набирали в массе тела по сравнению с поросятами контрольной группы (табл.3). При этом среднесуточные привесы в первой группе поросят составили 268 г, во второй - 337 г, в третьей - 307 г и четвертой - 257 г, а в контрольной группе поросят среднесуточные привесы составили всего 164 г. Убойный выход мяса в группе поросят, получавших препараты пантотеновой кислоты и карнитина, также были выше в 1,5 - 2 раза.

Таблица. 3.

Среднесуточные привесы у поросят в период применения препаратов

| № п/п | Наименование препаратов | Масса тела (кг) | | Масса туши (кг) | Выход мяса (%) | Средн.суточный привес (г) |
|-------|-------------------------------------|------------------|-------------------------|-----------------|----------------|---------------------------|
| | | До опыта | Через 35 дней от начала | | | |
| 1 | Пантотенат Са | 9,86 ± 2,23 | 19,2 ± 2,02 | 11,9 ± 2,0 | 61,75 | 268 |
| 2 | Карнитин | 11,025 ± 2,64 | 22,82 ± 2,52 | 14,6 ± 2,51 | 65,0 | 337 |
| 3 | Липамид (положительный контроль) | 11,15 ± 3,37 | 21,9 ± 3,34 | 13,9 ± 3,24 | 63,5 | 307 |
| 4 | Карнитин с пантотенатом | 10,17 ± 1,04 | 19,17 ± 1,97 | 12,0 ± 1,84 | 62,5 | 257 |
| 5 | Без препарата (контроль) | 9,22 ± 0,69 | 14,97 ± 0,97 | 9,0 ± 0,91 | 60,08 | 164 |

Положительное влияние препаратов на организм поросят проявилось увеличением массы тела, среднесуточного привеса и убойного выхода мяса. В карнитиновой группе поросят убойный выход мяса составил 65 %, на втором месте оказался липамид - 63,5 %, а карнитин с пантотенатом убойный выход мяса обеспечили на 62,5 % и пантотенат - на 61,75 % по сравнению с контролем (60,08 %). Относительные веса некоторых паренхиматозных органов снижались. В частности, наблюдалось достоверное снижение относительного веса таких паренхиматозных органов как сердце, легкие, почки и селезенка по сравнению с печенью и поджелудочной железой, а относительный вес надпочечников во всех группах стабильно повышался.

Морфологическими исследованиями крови было установлено, что

гематологические показатели у подопытных поросят относительно содержания эритроцитов, гемоглобина и величины гематокрита находились в пределах нормы. Исключение составляло содержание лейкоцитов, которое находилось на верхней границе нормы или увеличивалось достоверно на 2 - 3,5 тыс./мл. Это заметно было во второй и четвертой группе поросят, хотя клинические признаки заболеваемости у них не было отмечено.

Исследования биохимических показателей крови у подопытных поросят показало, что содержание белка, глюкозы, АсАТ и АлАТ находилось в пределах физиологических норм (табл. 4). Исключение составило содержание липидов и холестерина, которое увеличилось на 40 – 50 %, а также заметно повышалась активность щелочной фосфатазы.

Таблица 4.

Биохимические показатели крови у поросят при профилактике отъемного стресса

| № | Наименование препаратов | | | | | |
|---|-------------------------|-------------|--------------|-------------------------|-------------|--------------|
| | Показатели | Карнитин | Липамид | Карнитин с пантотенатом | Пантотенат | Контроль |
| 1 | Белок г/л | 69,33 ± 4,5 | 71,26 ± 3,7 | 67,78 ± 4,9 | 68,94 ± 3,9 | 69,13 ± 4,1 |
| 2 | Холестерин мм/л | 3,32 ± 0,2 | 3,1 ± 0,19 | 3,16 ± 0,21 | 3,2 ± 0,16 | 3,5 ± 0,1 |
| 3 | Липиды г/л | 3,1 ± 0,17 | 3,16 ± 0,12 | 3,2 ± 0,11 | 3,5 ± 0,13 | 4,87 ± 0,14 |
| 4 | Мочевина мм/л | 4,87 ± 0,3 | 3,83 ± 0,28 | 4,33 ± 0,27 | 4,92 ± 0,25 | 4,77 ± 0,09 |
| 5 | Фосфор мм/л | 2,59 ± 0,07 | 2,52 ± 0,008 | 2,49 ± 0,09 | 2,51 ± 0,08 | 2,67 ± 0,007 |
| 6 | Глюкоза мм/л | 3,3 ± 0,11 | 3,85 ± 0,12 | 3,64 ± 0,17 | 3,24 ± 0,19 | 4,14 ± 0,21 |
| 7 | ЩФ мм/л.час | 1,92 ± 0,07 | 1,84 ± 0,08 | 1,89 ± 0,07 | 1,65 ± 0,08 | 1,58 ± 0,07 |

Установлено, что общая характеристика аминокислот в ткани печени, сердца и длиннейшей мышцы спины у поросят качественно была одинаковой, но количественно достоверно отличалось. Говоря качественно, как в печени, так и в мышцах сердца и спины выявлялись все незаменимые и заменимые аминокислоты. Причем они в процентном соотношении между собой вписывались в физиологические нормы. Исключением составляли аминокислоты норлейцин и триптофан, которые полностью разрушались и не представлялось возможность определения их количества или содержания. Из определенных аминокислот в количественном отношении наиболее

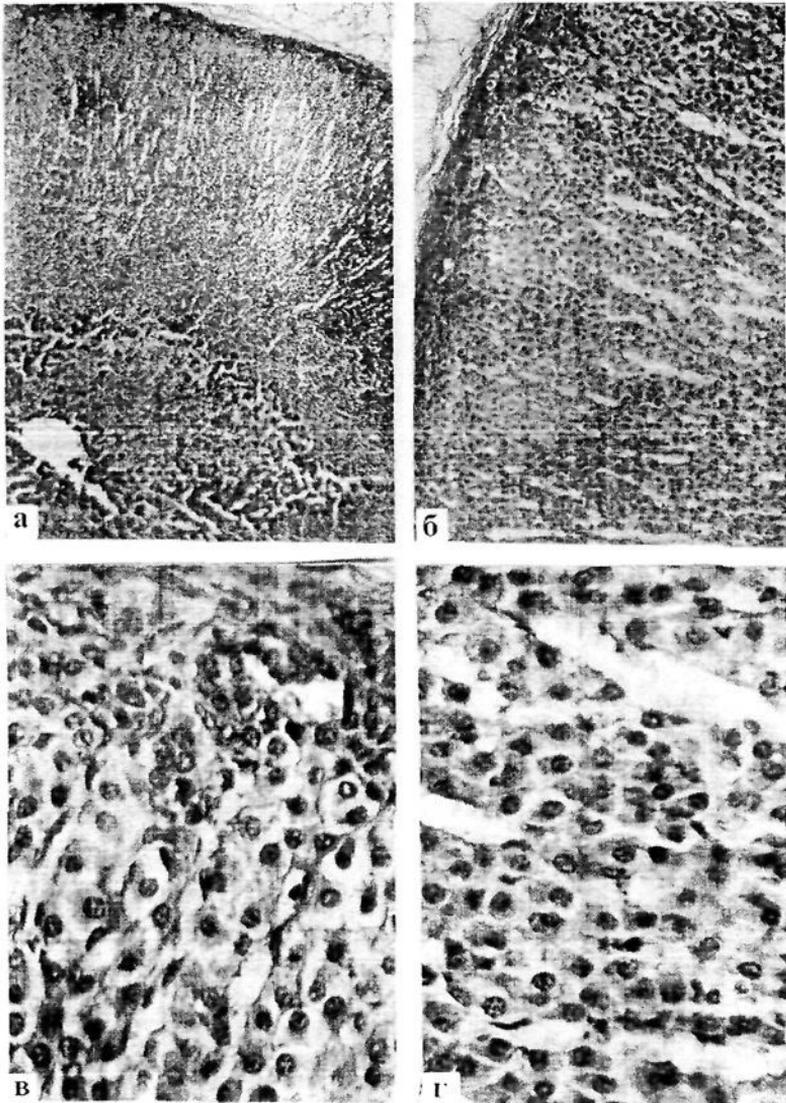


Рис. 5. Структурная организация надпочечников у поросят при профилактике отъемного стресса карнитином:
 а) Толщина коркового слоя в 2-3 раза превышает толщину мозгового слоя; б) Гиперплазия темных клеток в клубочково-пучковой зоне; в) Фрагмент рисунка б; г) Фрагмент рисунка а. Окр. гем. – эозин. Ув. ок. 7, об. 3,2 (а), 10 (б), 40 (в, г).

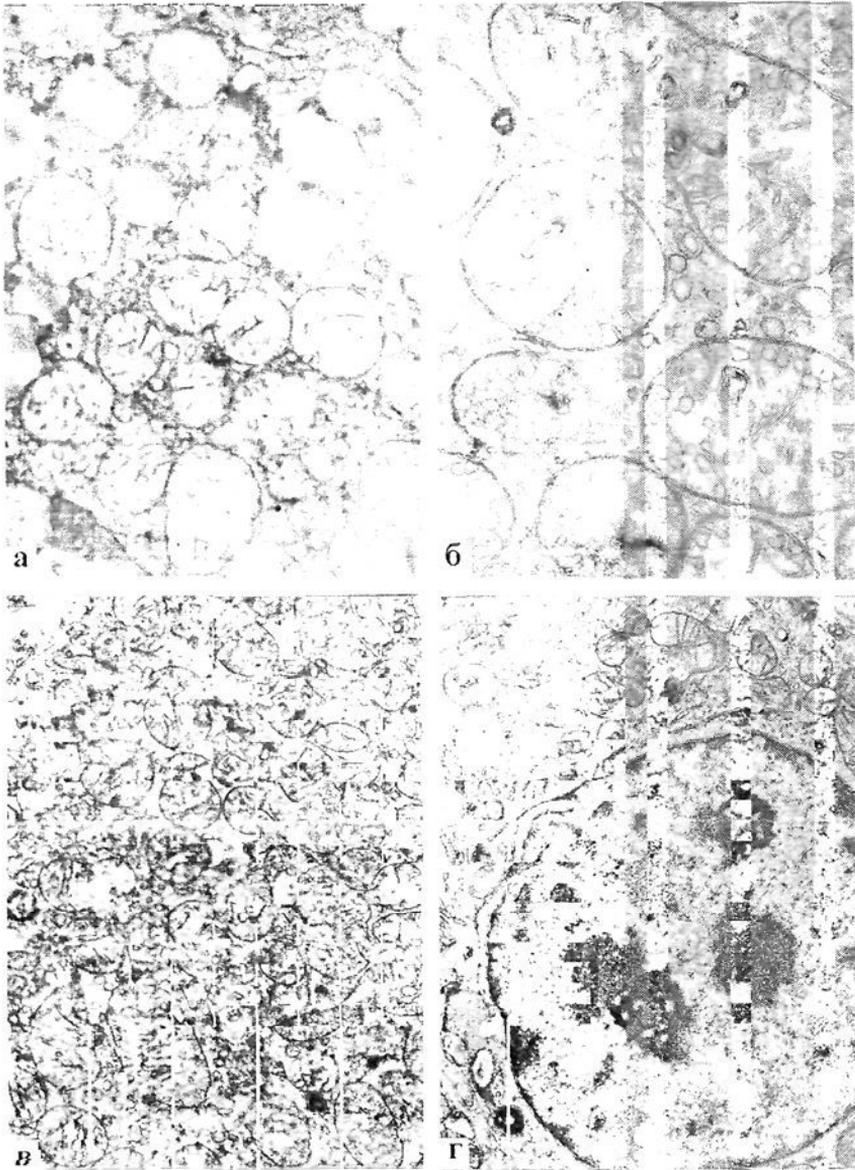


Рис. 6. Ультраструктурная организация кортикоцитов коры надпочечников у поросят при профилактике отъемного стресса карнитином: а) Увеличение липидных включений; б) Полиморфно-активные митохондрии; в) Увеличение количества митохондрий; г) Активизация гранулярной эндоплазматической сети в перинуклеарной зоне. Ув. x 4000 (в), x 6000 (а, г), x 14000 (б).

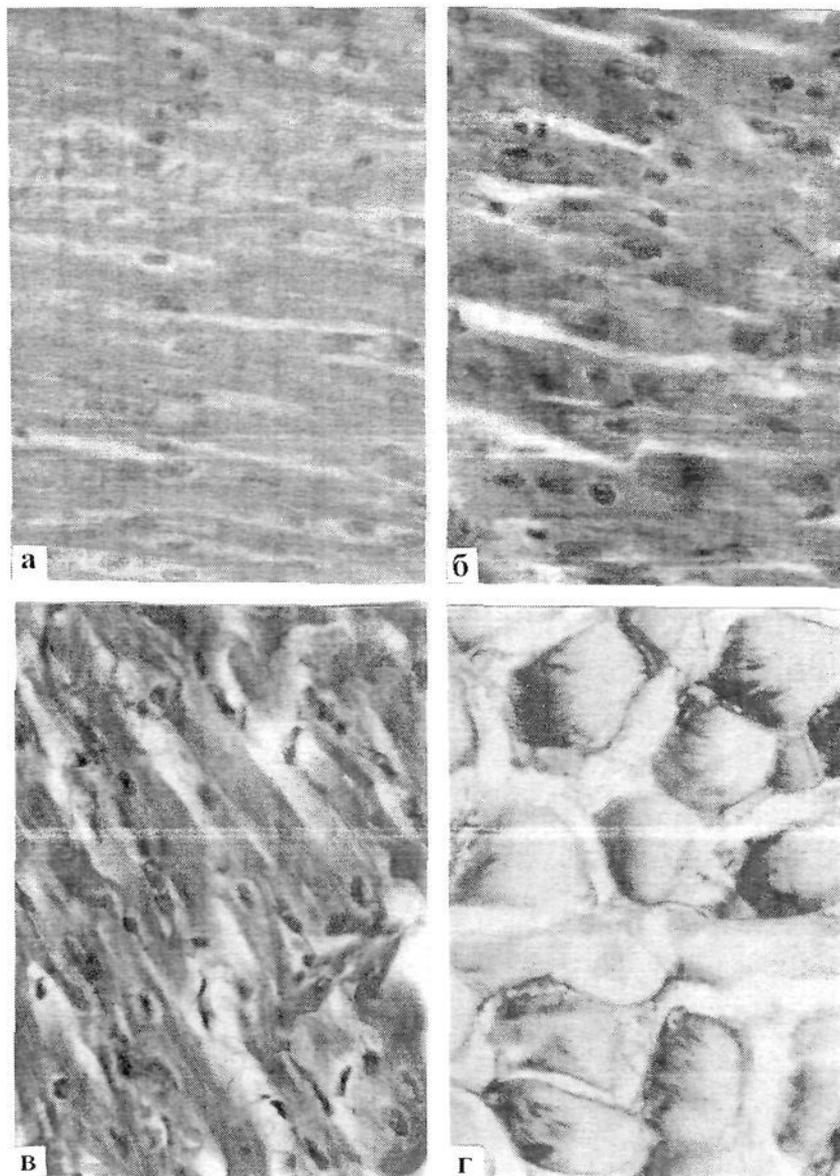


Рис. 7. Структурная организация миокарда у поросят при применении

карнитина : а, б) Компактное строение мышечных волокон с выраженной поперечной исчерченностью; в) незначительное расширение межмышечных пространств; г) Умеренное содержание ШИК – позитивного материала.

Окр. гем. –озин (а, б, в), ШИК – реакция (г).

Ув.ок. 7, об. 40.

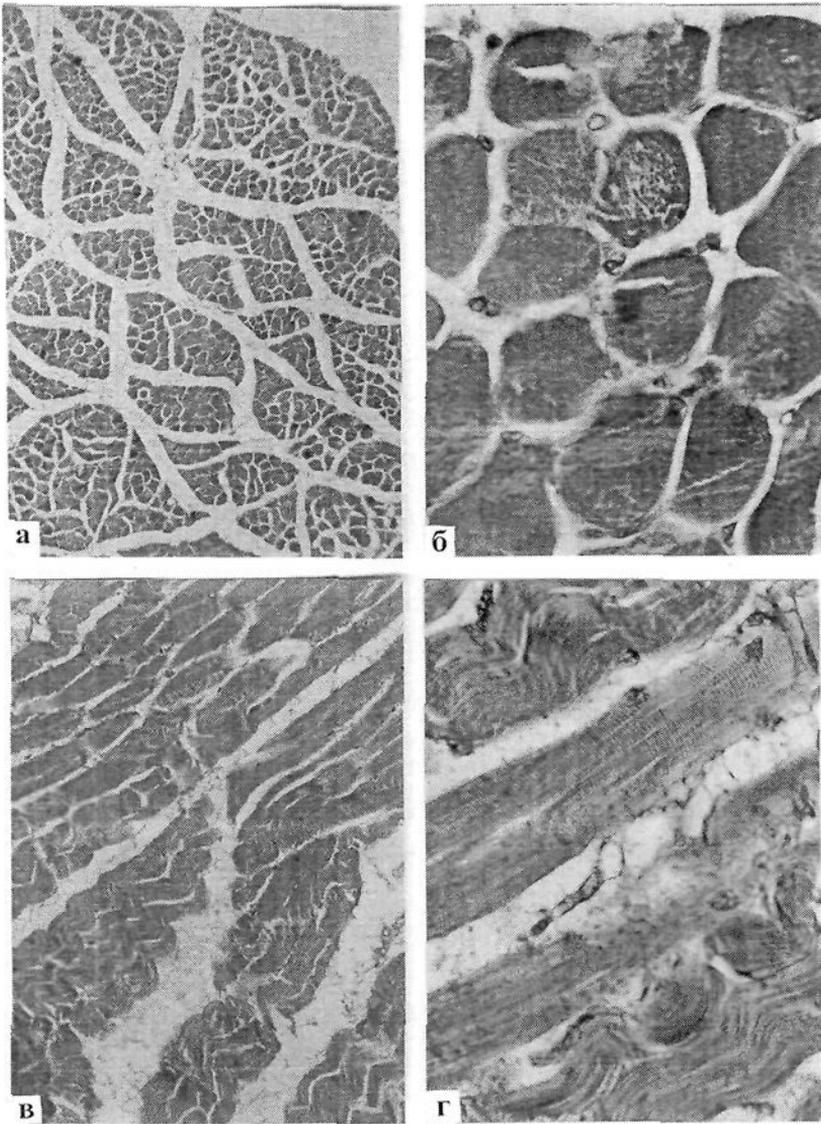


Рис. 8. Структурная организация мышечной ткани длиннейшей мышцы

спины у поросят при применении карнитина :

а, б) Компактность мышечных волокон; в, г) Расширение эндомизия и сохран поперечной исчерченности. Окр. гем.- эозин.

Ув. ок. 7, об. 3, 2 (а), 10 (в), 40 (б, г).

представительными оказались во всех тканях аспаргиновая кислота (5,5 - 7,2 %), глутаминовая кислота (9,8 - 11,25 %), лейцин (5,2 - 7,01 %), аргинин (4,76 - 5,36 %), аланин (4,32 - 5,27 %), гистидин (2,71 - 5,11 %), фенилаланин (2,66 - 4,22 %), треонин (2,9 - 4,13 %), серин (2,8 - 3,52 %) и другие.

3.5. Структурная организация надпочечников и мышечной ткани у поросят после применения препаратов пантотеновой кислоты и карнитина

Изучение структурной организации надпочечников показало, что во всех группах поросят, получивших в течение месяца препараты пантотеновой кислоты и карнитина происходило улучшение морфофункционального состояния надпочечных желез.

В частности, в группе поросят, получивших карнитин, в надпочечниках наблюдалось дифференцированная структура. Границы слоев выделялись хорошо, толщина коркового слоя почти в 2–3 раза превосходила толщину мозгового слоя (рис. 5 а). При этом заметно выделялись клубочковая, пучковая и сетчатая зоны в коре надпочечников. В клубочковой и наружной пучковой зонах коркового слоя увеличивалось количество мелких темных клеток, свидетельствующих о наличии процессов гиперплазии (рис. 5 б, в). При этом в средней пучковой зоне наблюдалось расширение микроциркуляторного русла, содержащего единичные форменные элементы крови (рис. 5 г). Ядра кортикоцитов имели не большие размеры, круглую форму и были богатыми ядерным хроматином. Гистохимически цитоплазма кортикальных клеток незначительно содержала пылевидную зернистость липидных включений. В субклеточной организации клеток коры надпочечников у поросят после применения карнитина наблюдалось увеличение количества липидных включений (рис. 6 а), полиморфно – активных митохондрий (рис. 6 б), митохондрий (рис. 6 в) и активизировалась гранулярная эндоплазматическая сеть в перинуклеарной зоне (рис. 6 г).

После применения карнитина в структурной организации мышечных волокон миокарда наблюдалось компактное строение. Мышечные волокна плотно прилегали друг к другу с выраженной поперечной исчерченностью (рис. 7 а, б). Ядра в мышечных волокнах миокарда выглядели сочными овальной формы. Местами незначительно расширялись межмышечные пространства, содержащие мелкие кровеносные капилляры (рис. 7 в) Мышечные волокна миокарда на своих полюсах умеренно содержали ШИК-позитивный материал (рис. 7 г).

Длиннейшая мышца спины у поросят после применения карнитина имела компактную архитектуру мышечных волокон (рис. 8 а, б), в некоторых из них сохранялась поперечная исчерченность (рис. 8 г), в эндомиоции наблюдались единичные гистиоцитарные клетки с веретеновидными темными ядрами, а строма мышечной ткани местами значительно расширялась (рис. 8).

4. ВЫВОДЫ

1. Отъем поросят в 35-дневном возрасте сопровождался снижением прироста массы тела в первые 10 дней после отъема до 76 г/сутки с постепенным его восстановлением до 215 г/сутки.

2. Ответная реакция организма поросят на отъемный стресс через одни сутки после отъема в надпочечниках характеризовалась наличием дистрофических процессов, незначительного увеличения толщины клубочковой зоны до $161,9 \pm 12,0$ мкм и пучково-сетчатой зоны - до $838 \pm 87,3$ мкм по сравнению с исходных величин $158,9 \pm 17,1$ и $798,3 \pm 47,5$ мкм соответственно. При этом объем ядер клеток увеличился до $180 \pm 14,1$ мкм³ против $95,1 \pm 4,3$ мкм³ исходного

3. На 3-е сутки после отъема дистрофические процессы в структурной организации клеток коры надпочечников у поросят прогрессировали, увеличивалась толщина клубочковой зоны до $215,3 \pm 11,2$ мкм, а пучково-сетчатой зоны – до $1030 \pm 60,1$ мкм, а объем ядер клеток пучково-сетчатой зоны уменьшался до $128 \pm 10,3$ мкм³. На 7-е сутки эти показатели увеличивались и соответственно составляли $225,0 \pm 7,8$ и $1250,0 \pm 72$ мкм и $115,2 \pm 7,4$ мкм³. Только на 15-е сутки после отъема поросят морфометрические показатели коры надпочечников уменьшались до предотъемного периода, происходило восстановление структурной организации клеток коры и соответственно составляли $169,0 \pm 12,0$ и $815,0 \pm 70,0$ мкм и $97,0 \pm 4,2$ мкм³.

4. В динамике отъемного стресса в надпочечниках у поросят отмечались структурно-функциональные изменения различной степени:

а) Через одни сутки после отъема поросят в надпочечниках на фоне дистрофических процессов увеличивалась толщина зон коры и объем ее клеток, снижалось количество липидов и отмечалось расширение микроциркуляторного русла органа, увеличивалось количество полиморфных митохондрий (54%) и агранулярной эндоплазматической сети (43%);

б) На 3-е сутки после отъема поросят в надпочечниках наблюдалось усиление нарушения гемодинамики и структурной организации кортикальных клеток, увеличение относительного объема незернистой эндоплазматической сети до 55,4% от общего объема цитоплазмы кортикоцитов при снижении объема митохондрий до 40,9%, а также функциональная неоднородность в ультраструктуре кортикоцитов,

в) На 7-е сутки после отъема поросят в надпочечниках отмечалось стирание границ между зонами коркового слоя с наличием гиперплазии кортикальных клеток. При этом в коре надпочечников были сохранены дистрофические и экссудативные процессы, которые местами прогрессировали, в ультраструктуре кортикоцитов доминировала незернистая эндоплазматическая сеть (66,5%), а относительный объем вакуолизированных митохондрий уменьшился до 31,8%;

г) На 15-е сутки после отъема поросят в надпочечниках наблюдалось ослабление дистрофических процессов и усиление репаративных изменений, которые проявлялись в виде увеличения количества митозов и появления большого количества маленьких, густо расположенных клеток на границе клубочковой и пучковой зон. Улучшалась ультраструктурная организация кортикальных клеток с преобладанием мембранных структур эндоплазматической сети, митохондрий и комплекса Гольджи.

5. Применение препарата карнитина в виде L-карнитина тартрата в дозе

25 мг на кг корма пороссятам-отъемышам в течение месяца увеличивало среднесуточный прирост массы тела на 173 г (105,5 %), препарата пантотеновой кислоты в виде D - пантотената кальция в дозе 10 мг на кг корма – на 104 г (63,4 %), а убойный выход мяса - на 4,92 и 1,67 % соответственно. При этом относительная масса надпочечников достоверно повышалась, в сыворотке крови пороссят до 40 % снижался уровень общих липидов, а также холестерина при значительном повышении активности щелочной фосфатазы.

6. Применение препаратов пантотеновой кислоты и карнитина не оказало существенного влияния на аминокислотный состав ткани печени, миокарда и скелетной мышцы. Наибольшая концентрация отмечена аспарагиновой и глютаминовой кислот, лейцина, лизина, аргинина, а в печени, кроме того, аланина, гистидина и валина в среднем от 3,5 до 11,3 %.

7. Структурная организация как надпочечников, так и миокарда и скелетной мускулатуры у пороссят при применении препаратов пантотеновой кислоты и карнитина имела четкую дифференциацию без отклонений от нормы. В ультраструктурной организации кортикальных клеток коры надпочечников у пороссят при профилактике отъемного стресса карнитином наблюдалось увеличение количества полиморфно-активных митохондрий и активизировалась гранулярная эндоплазматическая сеть в перинуклеарной зоне

8. Производственное испытание карнитина одного и в сочетании с пантотенатом показало, что среднесуточный прирост массы тела пороссят увеличивался до 257 - 337 г против 164 г в контроле.

9. Использование препарата карнитина как одного, так и в сочетании с препаратом пантотеновой кислоты увеличивало уровень белка в мышечной ткани до $21,35 \pm 0,86$ - $25,34 \pm 1,18$ % по сравнению с $19,46 \pm 0,48$ % в контроле и улучшало функционально-технологические свойства мясного сырья.

5. ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

1. Результаты исследований могут служить основанием для оценки морфофункционального состояния надпочечников у молодняка свиней и вошли в методические рекомендации « Морфофункциональная характеристика гепатодистрофии молодняка свиней, лечение и профилактика препаратами пантотеновой кислоты и карнитина» (Одобрены секцией «Патология, фармакология и терапия» Отделением ветеринарной медицины Россельхозакадемии 03.05.2006 г., протокол № 1).

2. С целью профилактики отъемного стресса у пороссят применять препарат карнитина тартрат в дозе 25 мг/кг сухого корма, а также в сочетании с препаратом пантотеновой кислоты в дозе 10 мг/кг сухого корма в течение месяца ежедневно.

5. Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Толкачев И.С. Ультраструктура аденогипофиза и коры надпочечников у быков при профилактике транспортного стресса / И.С. Толкачев, С.А. Шумейко // Экологические проблемы патологии, фармакологии и терапии животных: Мат. Междунар. координационного совещания, Воронеж 1997. – С. 138-139.

2. Макарадзе Л.А.. Влияние адаптогенов на ультраструктуру эндокринных желез животных при транспортном стрессе / Л.А. Макарадзе, С.М. Сулейманов, И.С. Толкачев, С.А. Шумейко // Экологические аспекты эпизоотологии и патологии ж-х: Мат.конф., посвящен. 100-летию В.Т. Котова, Воронеж 1999. - С. 345-346.

3. Сулейманов С.М. Влияние экстракта элеутерококка на функциональную морфологию коры надпочечников при транспортном стрессе / С.М. Сулейманов, Л.А. Макарадзе, И.С.Толкачев, С.А. Шумейко // Актуальные проблемы ветеринарной науки: Тез. Докл. МГА ВМиБ им. К.И.Скрябина – М 1999 г. С. 47-48.

4. Сулейманов С.М. Методы морфологических исследований / С.М.Сулейманов, П.А. Паршин, Ю.П.Жарова ... С.А.Шумейко и др. // Методическое пособие Воронеж – 2000 г., 64 с.

5. Сулейманов С.М. Гепатодистрофия поросят и ее профилактика / С.М Сулейманов, В.С. Слободяник, П.А. Паршин ... С.А.Шумейко // Журнал «Ветеринарная патология» 2005 г. № 3 (14), - С. 118-124.

6. Сулейманов С.М. Влияние препаратов карнитина и пантотеновой кислоты на микроструктуру, химический состав и функционально-технологические свойства мяса молодняка свиней / С.М.Сулейманов, В.С. Слободяник, О.В. Чудненко, Н.П Лопатина., С.А Шумейко // «Актуальные проблемы ветеринарной патологии и морфологии животных » посвящен. 100-летию со дня рожд. Проф. А.А. Авророва: Мат. Междунар. Конф. Воронеж, 22-23 июня 2006 г., Воронеж: Научная книга, 2006, С. 4-6.

7. Сулейманов С.М. Морфофункциональная характеристика гепатодистрофии молодняка свиней, лечение и профилактика препаратами пантотеновой кислоты и карнитина / С.М.Сулейманов, В.С. Слободяник ... С.А. Шумейко и др.// Методические рекомендации: Воронеж, ЦНТИ, 2006 г.15 с.

На правах рукописи

ШУМЕЙКО Сергей Александрович

Функциональная морфология надпочечников и мышечной ткани поросят при отъемном стрессе и его профилактике

16.00.02 - патология, онкология и морфология животных

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата ветеринарных наук

Формат 60x84¹/₁₆

Гарнитура Таймс. Печать офсетная. П. л. 1,0 Тираж 100 экз. Заказ № 543

отпечатано в типографии

ООО «Формат», г. Воронеж, Московский пр-т, 36-а