

Заклучение. Проведенными исследованиями установлено, что при физиологическом течении отела через плацентарный барьер в направлении кровь матери → материнская часть плаценты → фетальная часть плаценты проникают Pb, Zn и Mn, накапливаясь при этом в определенной концентрации в материнской части плаценты, а Cd полностью задерживается и кумулируется в ней. При задержании послета в материнской части плаценты накапливается меньше Mn, Mg и больше Pb, Cd, Zn, Cu, Fe, P, в фетальной части плаценты – меньше Cd, Mn, Mg, Co, Ca, Mg, K и больше Zn, Pb, Fe, Cu, P. Проницаемость плацентарного барьера для минеральных веществ и их накопление в материнской и фетальной части плаценты является одним из важных звеньев в цепи патогенетических факторов, обуславливающих задержание послета у коров.

Литература. 1. Авцын А.А., Жаворонков А.А., Стругнова Л.С. Микроэлементозы человека: этиология, классификация. – М.: Медицина, 1991. – 496 с. 2. Асташев Н.П., Лазарев Н.М., Дрозденко В.П. Влияние добавок микроэлементов на некоторые показатели обмена веществ и продуктивности у крупного рогатого скота на территории с повышенным уровнем радиоактивного загрязнения // Проблемы сельскохозяйственной радиологии. Сб. науч. трудов. – Л., 1992. Вып. 2. С. 141-145. 3. Микроэлементозы сельскохозяйственных животных / Н.А. Судаков, Н.И. Онипенко, В.С. Козачок и др. – К.: Урожай, 1974. – 150 с. 3. Зверева Г.В., Хомин С.П. Гинекологические болезни коров. – К.: Урожай, 1976. – 151 с. 4. Славов В.П., Високос М.П. Зооэкология. – К.: Аграрна наука, 1997. – 375 с. 4. Корейба Л.В., Чала І.В., Калиновський Г.М. Вплив мікроелементів на амінокислотний склад крові корів в умовах тривалої дії низьких доз іонізуючого випромінювання // Наук. вісн. ЛДАВМ ім. С.З. Гжицького. – 2002. – Т. 4 (№2), част. 4. – С. 67-70. 5. Аршавский Й.А. Плацентарный барьер. // Физиология гисто-гематических барьеров. – М.: Наука, 1977. – С. 443-465. 6. Засєкін Д. Роль плацентарного бар'єра при міграції важких металів з організму корови-матері до плоду // Вет. мед. України, 2003. - №8. – С. 40-41. 7. Краєців Р.Й., Марків А.М. Динаміка міді в організмі сухостійних корів і їх телят за підодівлі біологічно активними речовинами // Наук. вісн. ЛДАВМ ім. С.З. Гжицького. – 1999. – Вып. 2. – С. 15-21. 8. Афанасієва Л.П. Плацентарний бар'єр корови: стан і перспективи дослідження проникності / Г.М. Калиновський, Л.П. Афанасієва, М.М. Омеляненко // Науковий вісник національного університету біоресурсів і природокористування. – Київ, 2009. – № 136. – С. 120-126.

Статья передана в печать 30.08.2013

УДК 636.5:611.36:619:616.98

МАКРОСКОПИЧЕСКИЕ И ГИСТОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ У КУРИНЫХ ЭМБРИОНОВ ПРИ ИНФЕКЦИОННОЙ АНЕМИИ

*Громов И.Н., *Журов Д.О., **Алиев А.С., **Емельянова С.А.

*УО «Витебская ордена "Знак Почета" государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск

**ФГОУ ВПО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины», г. Санкт-Петербург

В работе изучены патологоанатомические изменения у СПФ-куриных эмбрионов при экспериментальном заражении вирусом куриной анемии. Составлен патологоанатомический диагноз. Представлены также данные о влиянии вируса инфекционной анемии на показатели миелограммы и парциальных формул различных групп кроветворных клеток костного мозга.

The morphological changes in SPF-chicken embryos by experimental flow of infectious anaemia have been observed. Pathoanatomical diagnosis is made. It also contains information about the impact of the virus infectious anemia indicators myelogram and partial formul of hematopoietic cells in the bone marrow.

Ключевые слова: СПФ-эмбрионы, патологоанатомические изменения, костный мозг, миелограмма, инфекционная анемия цыплят.

Keywords: SPF-embryos, pathological changes, bone marrow, myelogram, chicken infectious anemia.

Введение. Инфекционная анемия цыплят (ИАЦ) – высококонтагиозная вирусная болезнь птиц раннего возраста, характеризующаяся поражением кроветворной и иммунной систем, серозными отеками подкожной клетчатки и некрозами кожи. В настоящее время вспышки ИАЦ регистрируются во многих странах с развитым птицеводством, в том числе в Республике Беларусь, Российской Федерации и Украине.

Диагностика ИАЦ проводится с учетом эпизоотической ситуации, клинических признаков и патологоанатомических изменений, результатов лабораторных исследований. При этом в комплексе диагностических мероприятий особая роль отводится морфологическим методам исследования, результаты которых позволяют в предельно короткие сроки поставить предположительный диагноз на ИАЦ. Очевидным преимуществом патоморфологического исследования является не только быстрота и высокая достоверность, но и значительная дешевизна, по сравнению с другими специальными исследованиями. Например, проведение вирусологического исследования требует значительных материальных затрат на приобретение СПФ-эмбрионов и культур клеток. Иммуноферментный анализ (ИФА) и полимеразная цепная реакция (ПЦР) также являются высокзатратными методами исследования ввиду дороговизны импортного оборудования и реактивов. Несмотря на эти преимущества, патоморфологические методы диагностики ИАЦ используются врачами редко и не всегда эффективно. В большой степени это связано с тем, что характерные морфологические признаки могут отмечаться только при классическом течении инфекционной анемии, протекающей в виде моноинфекции. В настоящее

время ИАЦ очень часто протекает в ассоциации с другими вирусными инфекциями с развитием тяжелого комбинированного иммунодефицита. В таких случаях доминируют морфологические признаки осложняющих болезней – ИББ и реовирусной инфекции. В результате своевременная диагностика ИАЦ оказывается весьма затруднительной. Установлено, что вирус ИАЦ передается горизонтально и вертикально. При этом вертикальный способ передачи вируса через инкубационное яйцо принято считать основным источником распространения возбудителя. Источником вертикальной трансмиссии инфекции может служить сперма больных петухов. При наличии антител у 80% кур-несушек в стаде процент неинфицированного потомства может составить до 20. Следует отметить, что патоморфологические изменения у куриных эмбрионов, развивающиеся при заражении вирусом ИАЦ, остаются малоизученными. Решение данной проблемы позволит значительно повысить достоверность, упростить и ускорить сроки постановки патологоанатомического диагноза на инфекционную анемию.

Цель работы: изучение макроскопических и гистологических изменений у куриных эмбрионов при экспериментальном заражении их вирусом инфекционной анемии.

Материал и методы исследований. Исследования были проведены на СПФ-эмбрионах суточного возраста. Они были подобраны по принципу аналогов и разделены на 2 группы, по 10 эмбрионов в каждой. Эмбрионы 1 группы в суточном возрасте были заражены в желточный мешок изолятом «Краснодарский» вируса инфекционной анемии (депонирован в Государственной коллекции вирусов НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского под № 2722). Вирусосодержащим материалом служил стерильный 20%-ный гомогенат печени экспериментально зараженных вирусом ИАЦ СПФ-цыплят, обработанный по общепринятой методике. Интактные СПФ-эмбрионы 2 группы служили контролем. За всеми эмбрионами было установлено клиническое наблюдение. На 19 день после заражения эмбрионы 1 и 2 групп охлаждали при $t=4^{\circ}\text{C}$ в течение 12 часов.

Проводили наружный осмотр зараженных и интактных эмбрионов, плодных оболочек с последующей их аутопсией. При изучении и описании анатомических полостей, трубчатых и компактных органов использовали схемы, общепринятые в патологической анатомии. На основании анализа данных патологоанатомического вскрытия был поставлен патологический диагноз.

Кусочки трубчатых костей (бедренной, большеберцовой) фиксировали в 10%-ном растворе нейтрального формалина и 96% этиловом спирте. Зафиксированный материал подвергали уплотнению путем заливки в парафин по общепринятой методике [7]. Кусочки костной ткани предварительно декальцинировали в 10%-ном растворе уксусной кислоты [7]. Обезвоживание и парафинирование кусочков органов проводили с помощью автомата для гистологической обработки тканей «MICROM STP 120» (Германия) типа «Карусель». Для заливки кусочков и подготовки парафиновых блоков использовали автоматическую станцию «MICROM EC 350». Гистологические срезы кусочков органов, залитых в парафин, готовили на роторном (маятниковом) микротоме «MICROM HM 340 E».

Для изучения общих структурных изменений срезы окрашивали гематоксилин–эозином [6, 7, 8]. Депарафинирование и окрашивание гистосрезов проводили с использованием автоматической станции «MICROM HMS 70».

При изучении гистологических срезов костного мозга учитывали характер структурных изменений, подсчитывали число клеток различных ростков кроветворения. Миелограмму выводили, исходя из подсчета 1000 клеток в мазках, окрашенных по Романовскому–Гимза [4]. При подсчете костномозговых клеток придерживались унитарной теории кроветворения, дополненной И.А. Болотниковым и Ю.В. Соловьевым [1].

Наряду с оценкой миелограммы выводили парциальные формулы различных групп клеток костного мозга [4, 5]:

- лейкоэритробластический индекс – соотношение костномозговых элементов лейкоцитарного и эритроцитарного ростков;
- костномозговой индекс созревания псевдоэозинофилов – отношение молодых клеток псевдоэозинофильной группы (промиелоциты, миелоциты, метамиелоциты) к зрелым псевдоэозинофилам (палочкоядерные, сегментоядерные);
- костномозговой индекс созревания эозинофилов – соотношение молодых (промиелоциты, миелоциты, метамиелоциты) и зрелых (палочкоядерные, сегментоядерные) клеток эозинофильной группы;
- костномозговой индекс созревания эритронормобластов – отношение числа гемоглобинизированных форм нормоцитов (полихроматофильные нормоциты) к количеству всех клеток эритроидного ряда.

Гистологические исследования проводили с помощью светового микроскопа «OLYMPUS BX51» (Япония). Полученные данные документированы микрофотографированием с использованием цифровой системы считывания и ввода видеоизображения «ДСМ-510», а также программного обеспечения по вводу и предобработке изображения «ScopePhoto».

Цифровые данные обработаны статистически с использованием программы Microsoft Excel 2003.

Результаты исследований. При патологоанатомическом вскрытии зараженных эмбрионов отмечалась гиперемия зародышевых оболочек (рисунок 1), их помутнение и инъекция кровеносных сосудов. Отмечались также признаки омфалита и омфалофлебита: выраженная гиперемия и отечность тканей, наличие в венах тромбов темно-красного цвета (рисунок 2). У эмбрионов контрольной группы зародышевые оболочки были полупрозрачными, серо-розового цвета, без признаков гиперемии и отека.

На большей площади кожи, ее производных и скелетных мышцах выявляли признаки анемии. Ткани же у основания клюва, в области век и шеи выглядели цианотичными.

Подкожная клетчатка в области головы и век была набухшая, студневидная, блестящая, полупрозрачная, при разрезе стекают капельки прозрачного транссудата (рисунки 3; 4).

Сердце увеличено в размере, пери- и эпикард слегка набухшие, влажные, блестящие, коронарные сосуды гиперемированы. В полостях сердца - несвернувшаяся кровь. В одних случаях сердце принимало мешкообразную форму. При этом миокард был бледным. В области венечной борозды выраженная гиперемия, имеются единичные кровоизлияния (рисунок 5). В других случаях отмечалась выраженная синюшность сердечной мышцы с наличием в полости сердечной сорочки темно-красного трансудата.

Печень увеличена в размере, отечная, дряблой консистенции, цвет пестрый: чередуются темно - красные и светло - желтые участки; рисунок долек на разрезе не различим (рисунок 6). У интактных эмбрионов печень была без структурных изменений: не увеличена в размере, упругой консистенции, темно-коричневого цвета, рисунок дольчатого строения на разрезе не выражен.

Тимус резко уменьшен в объеме, плотной консистенции, серого цвета, рисунок дольчатого строения на разрезе нечеткий. У отдельных эмбрионов отмечалось не только недоразвитие, но и полное отсутствие отдельных долек (рисунки 7, 8). При макроскопическом исследовании тимуса эмбрионов контрольной группы существенных морфологических изменений выявлено не было. Дольки органа располагались в перитрахеальной клетчатке, имели нормальную величину и форму, серо-розовый цвет, рисунок дольчатого строения на разрезе четкий.

Патологоанатомический диагноз:

1. Выраженный инфантилизм тимуса.

2. Острое расширение сердца, гиперемия коронарных сосудов, кровоизлияния в перикарде. Гидроперикардиум.

3. Острая венозная гиперемия зародышевых оболочек, коронарных сосудов, миокарда, мягких тканей в области шеи, у основания клюва и в области век.

4. Серозный отек соединительнотканной клетчатки.

При гистологическом исследовании костного мозга интактных СПФ-эмбрионов установлено, что строма органа была образована соединительнотканными трабекулами, отходящими от эндооста кости. В метафизарной области выявлялись также участки хрящевой ткани. В эндотелиальной выстилке капилляров, а также среди элементов ретикулярной ткани локализовались макрофаги, содержащие гранулы железосодержащих пигментов. В петлях ретикулярной сети располагались молодые и зрелые гемопоэтические элементы. Развивающиеся диффероны кроветворных клеток располагались островками. При этом эритробластические островки часто формировались в непосредственной близости от макрофагов. Созревающие гранулоциты также лежали в виде островков. Клетки тромбоцитарного ряда (тромбобласты, протромбоциты и тромбоциты) локализовались, как правило, рядом с синусоидными капиллярами. Вокруг кровеносных сосудов встречались также небольшие группы лимфоцитов и моноцитов. Среди клеток костного мозга преобладали малодифференцированные клетки. Желтый костный мозг выявлялся в диафизах трубчатой кости. Он состоял из ретикулярной ткани, которая местами была замещена скоплениями липоцитов.



Рисунок 1 – Макрофото. Гиперемия зародышевых оболочек



Рисунок 2 - Макрофото. Признаки омфалофлебита у эмбриона



Рисунок 3 - Макрофото. Отек подкожной клетчатки в области головы у эмбриона



Рисунок 4 - Макрофото. Отек подкожной клетчатки в области век у эмбриона



Рисунок 5 - Макрофото. Макровид сердца и органов грудобрюшной полости эмбриона при заражении вирусом ИАЦ



Рисунок 6 – Макрофото. Альтеративный гепатит у эмбриона при заражении вирусом ИАЦ



Рисунок 7 - Макровид интактного эмбриона



Рисунок 8 - Макровид эмбриона опытной группы (признаки инфантилизма тимуса)

В миелограмме эмбрионов опытной группы мы отмечаем достоверное уменьшение в 3 раза общего количества гранулоцитов по сравнению с контролем. Изменение данного показателя происходило в основном за счет клеток эозинофильного ряда. Так, количество псевдоэозинофилов уменьшилось с $8,08 \pm 0,84$ до $6,88 \pm 0,30$ %. В некоторых случаях в костном мозге опытной группы эмбрионов наблюдалось полное отсутствие отдельных видов клеток (миелобластов, миелоцитов эозинофильных и миелоцитов псевдоэозинофильных).

В миелограмме эмбрионов подопытной группы отмечено также резкое уменьшение числа эозинофилов с $42,25 \pm 11,09$ (контроль) до $10,25 \pm 5,98$ %. Изменение данного показателя происходило за счет существенного (в 3,1-4,1 раза) снижения числа эозинофильных метамиелоцитов, палочкоядерных и сегментоядерных эозинофилов. Данные показатели уменьшились по сравнению с контролем ($P < 0,05$). Количество базофильных клеток уменьшилось с $12,53 \pm 5,84$ до $2,60 \pm 2,08$ % ($P < 0,05$), что также повлияло на общее содержание клеток гранулоцитарного ряда.

Общее количество эритробластических клеток в миелограмме подопытных птиц увеличилось с $0,20 \pm 0,01$ (контроль) до $2,23 \pm 1,32$ % ($P < 0,001$), а число лимфоцитов, наоборот, уменьшилось в 2 раза ($P < 0,01$). Одновременно отмечалось увеличение содержания полихроматофильных нормоцитов в 2,7 раза. Однако количество других видов нормоцитов уменьшилось. При этом общее количество клеток эритроцитарного ряда уменьшилось с $7,52 \pm 8,91$ до $4,88 \pm 2,88$ %.

Различия в показателях по тромбоцитарному и моноцитарному рядам клеток между 1 и 2 группами эмбрионов были недостоверными.

В костном мозге эмбрионов опытной группы отмечено также увеличение лейкоэритробластического индекса в 1,8 раза ($P < 0,01$) при одновременном уменьшении в 2 раза индекса созревания эритронормобластов по сравнению с контрольными значениями. При этом костномозговые индексы созревания эозинофилов и псевдоэозинофилов оставались практически на одном уровне.

Заключение. Таким образом, экспериментальное заражение куриных СПФ-эмбрионов вирусом инфекционной анемии приводит к развитию у них тяжелых патологоанатомических изменений со стороны сердечно-сосудистой и иммунной систем, а также печени. При гистологическом исследовании красного костного мозга выявлены глубокие структурные изменения, характеризующиеся угнетением миелоидного кроветворения, достоверными изменениями парциальных формул различных групп кроветворных клеток. На основании полученных результатов исследований составлен патологоанатомический диагноз инфекционной анемии у эмбрионов.

Литература. 1. Болотников, И.А. Гематология птиц / И.А. Болотников, Ю.В. Соловьев. – Ленинград : Наука, 1980. – 115 с. 2. Гусева, Е.В. Инфекционная анемия цыплят : Обзор литературы / Е.В. Гусева, Т.А. Сатина, Т.А. Фомина // ВНИИЗЖ. – Владимир, 1997. – 72 с. 3. Инфекционная анемия цыплят / А.С. Апиев [и др.] // Ветеринарная

медицина. – 2011. - №1. – С. 49-53. 4. Карпуть, И.М. Гематологический атлас сельскохозяйственных животных / И.М. Карпуть. – Минск : Ураджай, 1986. – 183 с. 5. Коленкин, С.М. Основные правила исследования пунктата костного мозга / С.М. Коленкин, А.И. Михеева // Клиническая лабораторная диагностика. – 1999. - №2. – С.41-43. 6. Лилли, Р. Патогистологическая техника и практическая гистохимия / Р. Лилли ; под ред. В.В. Португалова ; пер. с англ. И.Б. Краснов [и др.]. – М.: Мир, 1969. – С. 577-592. 7. Меркулов, Г.А. Курс патологистологической техники / Г.А. Меркулов. – Ленинград : Медицина, 1969. – 432 с. 8. Микроскопическая техника: Руководство / Д.С. Саркисов [и др.] ; под ред. Д.С. Саркисова, Ю.Л. Петрова. – М. : Медицина, 1996. – 544 с. 9. Серологический мониторинг инфекционной анемии цыплят и молекулярно-биологическая характеристика изолятов вируса / В.А. Лобанов [и др.] // Вестник Российской академии сельскохозяйственных наук. - 2003. - №2. - С. 66-69.

Статья передана в печать 07.08.2013

УДК 619:636.2:615.9:577.15:546.48

ВЛИЯНИЕ МЕВЕСЕЛА И Е-СЕЛЕНА НА ПРОЦЕССЫ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И АНТИОКСИДАНТНУЮ СИСТЕМУ ОРГАНИЗМА БЫЧКОВ ПРИ КАДМИЕВОМ ТОКСИКОЗЕ

Гутый Б.В.

Львовский национальный университет ветеринарной медицины и биотехнологии имени С.З. Гжицкого, г. Львов, Украина

При скормливании бычкам хлорида кадмия в дозе 0,04 мг/кг массы тела активность ферментов антиоксидантной системы в сыворотке крови опытных бычков в течение всего опыта снижалась, а продукты перекисного окисления липидов росли. Установлено активизирующее действие Мевесела и Е-селена на активность ферментов каталазы, супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы, глутатионредуктазы и угнетающее действие на процессы перекисного окисления липидов при хроническом кадмиевом токсикозе. При кадмиевом токсикозе бычков лучшее действие на активность системы антиоксидантной защиты организма бычков и перекисное окисление липидов проявляет Мевесел по сравнению с Е-селеном.

When feeding gobies cadmium chloride at a dose of 0,04 mg/kg of the animal activity of antioxidant enzymes in the blood serum of calves experienced throughout the experiment was reduced, and the products of lipid peroxidation increased. Established activating effect Mevesela and E-selenium on the activity of the enzymes catalase, superoxide dismutase, glutathione peroxidase and glutathione reductase inhibitory effect on lipid peroxidation in chronic cadmium toxicosis. When cadmium toxicosis steers better effect on the activity of the antioxidant defense system of the body steers and lipid peroxidation shows Mevesel compared with E-selenium.

Ключевые слова: хроническая кадмиевая интоксикация у бычков, антиоксидантная система, продукты перекисного окисления липидов, препараты Мевесел и Е-селен, ферменты каталаза, супероксиддисмутаза, глутатионпероксидаза, глутатионредуктаза.

Keywords: Chronic cadmium intoxication in calves, antioxidant system, lipid peroxidation products, and drugs Mevesel E-selenium, enzymes catalase, superoxide dismutase, glutathione peroxidase, glutathione.

Введение. В условиях прогрессирования техногенного загрязнения окружающей среды одним из приоритетных направлений токсикологии и ветеринарной медицины остается изучение особенностей и механизмов действия наиболее распространенных токсикантов - тяжелых металлов [1,10,12]. Большинство тяжелых металлов проявляют высокую биологическую активность, однако некоторые из них вызывают токсическое воздействие даже при незначительном содержании в организме. Они способны накапливаться в тканях животных и через пищевую цепь попадать в организм человека в опасных количествах. Одним из вредных химических элементов является кадмий, который при попадании в организм животных способствует активации процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) [2,4,5,9]. Отравление животных кадмием приводит к возникновению так называемого окислительного стресса, который возникает тогда, когда действие прооксидантных факторов превосходит активность системы антиоксидантной защиты организма животных, результатом которой является чрезмерная, первичная или вторичная, активация свободнорадикальных реакций [3,10].

Установив, что в процессе хронического кадмиевого токсикоза наступают расстройства ПОЛ, мы пришли к выводу, что при действии кадмия, для подавления чрезмерных свободнорадикальных реакций в организме животных, необходимо применять препараты с выраженным антиоксидантным действием, способные подавлять процессы перекисного окисления липидов. Из большого количества антиоксидантов при кадмиевом токсикозе бычков, мы изучали профилактическое действие Мевесела и Е-селена.

Целью наших исследований было установить профилактическое действие Мевесела и Е-селена на организм бычков в условиях хронического кадмиевого токсикоза.

Материал и методы исследований. Опыты проводились на 15 бычках шестимесячного возраста, которые были сформированы в 3 группы по 5 животных в каждой:

1 группа - контрольная (К), бычкам скормливали с кормом хлорид кадмия в дозе 0,04 мг/кг массы тела животного;