

УДК 611.441:636.92

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПЕРЕСТРОЙКИ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ И ГОРМОНАЛЬНЫЙ СТАТУС КРОЛИКОВ ПОД ВЛИЯНИЕМ СЕЛЕНСОДЕРЖАЩЕГО ПРЕПАРАТА

*Николаев С.В., *Федотов Д.Н., **Кучинский М.П.

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

** РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского», г. Минск, Республика Беларусь

Изучено влияние препарата на основе селена и витамина Е на морфологические перестройки щитовидной железы и уровень гормонов в крови кроликов в период отъема.

The effect of the medicine on selenium and vitamin E on the basis of morphological reconstruction of the thyroid gland, and hormone levels in the blood of rabbits during the period of weaning was studied.

Ключевые слова: щитовидная железа, кролик, морфология, гормоны, селен.

Keywords: thyroid gland, rabbit, morphology, hormones, selenium.

Введение. Для успешного развития кролиководства необходима корректная и научно обоснованная оценка морфогенеза щитовидной железы кроликов в онтогенезе с изысканием и применением новых отечественных ветеринарных препаратов, регулирующих обмен веществ, повышающих продуктивность и сохранность поголовья молодняка, профилаксирующих гипопункцию и патологию эндокринных желез [2, 5, 7, 11, 14]. Значение микроэлемента селена для организма сельскохозяйственных животных многогранно. Селен обладает высокой биохимической активностью и способствует интенсификации обмена веществ. Он влияет на процессы тканевого дыхания, регулирует скорость течения окислительно-восстановительных реакций, повышает иммунную реактивность организма, влияет на функцию щитовидной железы, а недостаточная выработка тиреоидных гормонов ведет к нарушению практически всех видов обмена веществ. Следовательно, его недостаток в рационах приводит к снижению роста и развития молодняка, снижению продуктивности и ухудшению воспроизводительных качеств кроликов, а также нарушению обмена веществ в организме [3, 5, 12, 14].

Крольчата начинают поедать растительные и концентрированные корма с двух недель. До этого они питаются только материнским молоком. В 24-дневном возрасте потребность в молоке снижается до 50%. В 28 дней почти все крольчата, за исключением самых легковесных, могут существовать за счет растительных и гранулированных кормов. Отъем проводят с месячного возраста. При отъеме крольчат от матери перемена места является стрессом и в большей мере задерживает часто их рост, а иногда молодняк очень чувствителен к смене рациона, что может вызвать падеж [2, 3].

Цель исследований – определить морфологические особенности строения щитовидной железы у кроликов под влиянием ветеринарного препарата «Е-селен».

Материалы и методы исследований. Исследования проводились в условиях прозектория и лаборатории кафедры патологической анатомии и гистологии УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины». По принципу условных аналогов создали 2 группы животных – контрольную (n=4) и опытную (n=8). Обе группы крольчат находились в унифицированных условиях содержания и были свободны от инфекционных и инвазионных болезней. Подопытным кроликам месячного возраста в период отъема от крольчих применяли внутримышечно, однократно препарат «Е-селен» с целью предотвращения отъемного стресса и стимуляции роста в дозе 0,04 мл на 1 кг массы тела.

Для морфологических исследований от крольчат отбирали щитовидные железы и фиксировали в 10%-ном растворе нейтрального формалина и в жидкости Бродского. Затем морфологический материал подвергали уплотнению путем заливки в парафин по общепринятым методикам [8, 11]. Изготавливали гистологические срезы толщиной 3–5–7 мкм на санном МС-2 микротоме. Гистологические препараты окрашивали гематоксилин-эозином.

Терминология описываемых гистологических структур щитовидной железы приводилась в соответствии с Международной гистологической номенклатурой [13].

Абсолютные измерения структурных компонентов щитовидной железы кроликов осуществляли при помощи светового микроскопа «Olympus» модели ВХ-41 с цифровой фотокамерой системы «Altra₂₀» и спектрометра HR 800 с использованием программы «Cell^A».

На фотометре универсальном «VITYAZ – Ф300ТП» стандартизированными методами иммуноферментного анализа в крови животных выявляли содержание гормонов (тиреотропного гормона, тироксина, трийодтиронина) с помощью наборов реагентов ДС-ИФА-Тиротид-ТТГ, Т3-Имаксиз (IMAXYZ), Т4-Имаксиз (IMAXYZ).

Все цифровые данные, полученные при проведении экспериментальных исследований, были обработаны статистически с помощью компьютерной программы «Microsoft Office Excel», критерий Стьюдента на достоверность различий сравниваемых показателей оценивали по трем порогам вероятности.

Результаты исследований. В результате проведенных исследований установлено, что щитовидная железа у месячных кроликов к моменту отъема структурно и функционально зрелая. Железу снаружи покрывает тонкая нежная капсула, от которой отходят соединительнотканые перегородки, делящие орган на дольки. В щитовидной железе соединительнотканые перегородки и межфолликулярные прослойки совместно с капсулой формируют строю органа. У крольчат контрольной и опытной групп толщина капсулы достоверных изменений не имеет и составляет соответственно $16,35 \pm 0,86$ и $15,13 \pm 0,67$ мкм. Следовательно, на стромальные компоненты железы селенсодержащий препарат не оказывает воздействия. У крольчат выявляются в щитовидных железах интерфолликулярные островки в виде скоплений небольших размеров клеток с шаровидными крупными ядрами. В железах месячных кроликов после обработки селенсодержащим препаратом можно видеть появление молодых фолликулов, так как скопления клеток интерфолликулярных островков представлены в виде «подушечек Сандерсона», которые служат резервом развития новых фолликулов.

Паренхима щитовидной железы у кроликов представлена всеми структурными элементами. Тироциты в железах месячных крольчат представлены преимущественно кубической формы, формируя стенку для каждого фолликула. Ядра тироцитов шаровидной формы, расположены параллельно стенкам фолликулов. Объем ядер тироцитов в железах контрольных животных равен $52,50 \pm 3,42$ мкм³, а у подопытных крольчат в 1,25 раза больше ($p < 0,05$). В щитовидной железе подопытных животных большая часть ядер тироцитов содержит эухроматин, что указывает на активное участие железистых клеток в процессах белкового синтеза. Цитоплазма тироцитов светлая, ядра – базофильные. В железах у контрольных особей большая часть стенок фолликулов представлена кубическими тироцитами, высота которых меньше в 1,75 раза ($p < 0,01$) по сравнению с опытом, где показатель составляет $5,43 \pm 0,64$ мкм.

Таблица 1 – Морфометрические параметры щитовидной железы у кроликов

Показатели		Группы животных		
		контрольная	опытная	
Толщина капсулы, мкм		$16,35 \pm 0,86$	$15,13 \pm 0,67$	
Высота тироцитов, мкм		$3,11 \pm 0,33$	$5,43 \pm 0,64^{**}$	
Объем ядер тироцитов, мкм ³		$52,50 \pm 3,42$	$65,63 \pm 3,74^*$	
Размер С-клеток, мкм		$8,59 \pm 0,41$	$8,61 \pm 0,30$	
Индекс Брауна, усл. ед.		$17,72 \pm 2,23$	$10,09 \pm 1,81^{**}$	
Фолликулы	мелкие	диаметр, мкм	$38,78 \pm 5,37$	$34,34 \pm 2,92$
		встречаемость, %	$36,25 \pm 8,54$	$49,60 \pm 7,30^*$
	средние	диаметр, мкм	$54,53 \pm 3,13$	$52,90 \pm 2,01$
		встречаемость, %	$47,50 \pm 11,90$	$45,40 \pm 8,82$
	крупные	диаметр, мкм	$85,73 \pm 3,76$	$83,86 \pm 2,88$
		встречаемость, %	$16,25 \pm 7,50$	$5,00 \pm 3,08^{***}$

Примечания: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; * - по отношению к контрольной группе.

Фолликулы в щитовидной железе месячных крольчат представлены преимущественно округлой формы. Они плотно прилегают друг к другу. У подопытных животных полость фолликулов заполнена коллоидом, на их периферии располагаются резорбционные вакуоли, что свидетельствует о начинающейся активизации секреторных процессов в железах. При этом щитовидная железа кровенаполнена, сосуды микроциркуляторного русла широкие, что говорит о поступлении гормонов в кровоток. В щитовидных железах крольчат контрольной группы полость фолликулов заполнена густым, плотным, гомогенным коллоидом. В крупных фолликулах он не вакуолизирован, а в мелких – единично присутствуют резорбционные вакуоли.

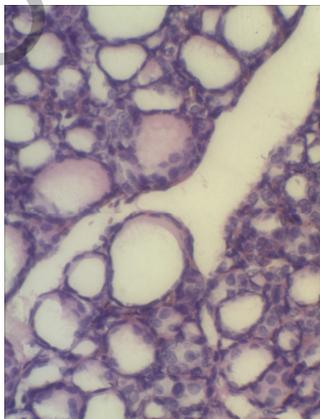


Рисунок 1 – Преобладание средних и крупных фолликулов с плоскими тироцитами в щитовидной железе контрольного кролика (окраска гематоксилин-эозином, x100)

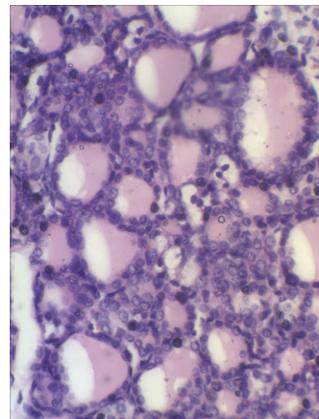


Рисунок 2 – Преобладание мелких фолликулов с кубическими тироцитами, резорбция коллоида в щитовидной железе подопытного кролика (окраска гематоксилин-эозином, x100)

У крольчат опытной группы преобладают в железе мелкие фолликулы, крупные встречаются редко ($5,00 \pm 3,08\%$) и располагаются небольшими группами на периферии или одиночно в центре органа. У животных контрольной группы относительное содержание крупных фолликулов в 3,25 раза больше ($p < 0,001$) по сравнению с подопытными кроликами. Это указывает, что щитовидные железы у месячных крольчат в период отъема относятся к железам мелкофолликулярного типа строения. В щитовидной железе месячных крольчат контрольной группы диаметр мелких фолликулов составляет $38,78 \pm 5,37$ мкм, средних фолликулов – $54,53 \pm 3,13$ мкм, а крупных – $85,73 \pm 3,76$ мкм. В железах подопытных особей диаметр мелких фолликулов практически стабилен ($34,34 \pm 2,92$ мкм), но происходит плавное уменьшение размеров крупных и средних аденомеров.

Индекс Брауна у крольчат опытной группы составляет $10,09 \pm 1,81$ усл.ед., что в 1,76 раза меньше ($p < 0,01$) по сравнению с контрольной, что свидетельствует о повышении функциональной активности структур щитовидной железы под влиянием препарата «Е-селен».

Таблица 2 – Гормональный статус кроликов

Показатели	Группы животных	
	контрольная	опытная
ТТГ, мкМЕ/мл	$0,51 \pm 0,01$	$0,52 \pm 0,02$
Т ₃ , нг/л	$0,85 \pm 0,17$	$0,91 \pm 0,15$
Т ₄ , пмоль/л	$12,57 \pm 3,53$	$19,49 \pm 3,71^{**}$

Примечания: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$, * - по отношению к контрольной группе.

Показатели ТТГ в крови крольчат в контрольной и опытной группах достоверных отличий не имеют, колеблются в пределах от $0,51 \pm 0,01$ до $0,52 \pm 0,02$ мкМЕ/мл. Уровень Т₃ в крови подопытных крольчат незначительно выше по сравнению с контролем и составляет $0,91 \pm 0,15$ нг/л. Содержание Т₄ в крови после применения препарата «Е-селен» достоверно повышается в 1,55 раза ($p < 0,01$) и равно $19,49 \pm 3,71$ пмоль/л против $12,57 \pm 3,53$ пмоль/л в контрольной группе кроликов.

Закключение. Наши данные указывают, что структурно-функциональная активность щитовидной железы у крольчат зависит от поступления в рацион селена и йода. В опытной группе животных, которым применяли препарат «Е-селен», быстрее происходит полная морфологическая дифференциация структурных элементов железы и наблюдается наибольшая ее функциональная активность в период отъема. Щитовидные железы у месячных крольчат относятся к железам мелкофолликулярного типа строения. Уровень ТТГ и Т₃ в крови подопытных крольчат достоверных изменений не имеет, а содержание Т₄ после применения препарата «Е-селен» достоверно повышается в 1,55 раза и составляет $19,49 \pm 3,71$ пмоль/л. Следовательно, за 3 дня до отъема крольчатам рекомендуется применять препарат «Е-селен» для профилактики отъемного стресса, стимуляции роста и коррекции морфологических перестроек щитовидной железы и активизации ее функции.

Литература. 1. Дайлиденюк, В. Н. Морфологические и биохимические показатели крови кроликов разных пород, разводимых в Республике Беларусь / В. Н. Дайлиденюк, А. Ю. Норейко // Зоотехн. наука Беларуси: сб. науч. тр. / Науч.-практ. центр Нац. акад. наук Беларуси по животноводству. – Жодино, 2014. – Т. 49, ч. 1. – С. 76-84. 2. Комлацкий, В. И. Эффективное кролиководство: учебное пособие / В. И. Комлацкий [и др.]. – Ростов-на-Дону: Феникс, 2014. – 238 с. 3. Кролиководство: учебник / Н. А. Балакирев, Е. А. Тинаева, Н. И. Тинаев, Н. Н. Шумилина; под ред. Н. А. Балакирева. – М.: Колос, 2007. – 232 с. 4. Кухаренко, Н. С. Морфологические аспекты развития тонкого отдела кишечника кроликов при различных способах выращивания / Н. С. Кухаренко, Е. В. Кирильцов // Зоотехния. – 2006. – № 11. – С. 27-28. 5. Кучинский, М. П. Биозлементы – фактор здоровья и продуктивности животных: монография / М.П. Кучинский. – Минск : Бизнесофсет, 2007. – 372 с. 6. Луппова, И. М. Возрастная морфология органов иммунной и эндокринной систем у нутрий / И. М. Луппова, О. М. Куришко, Д. Н. Федотов // Ученые записки учреждения образования «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины». – 2014. – Т. 50, вып. 2, ч. 1. – С. 185–188. 7. Мамцев, А. Н. Биохимический статус у кроликов при коррекции гипотиреоза йодпектином / А. Н. Мамцев, В. Н. Байматов, В. Н. Козлов, Н. В. Байматов, Т. В. Зверева // Ветеринария. – 2009. – № 6. – С. 53-56. 8. Организация гистологических исследований, техника изготовления и окраски гистопрепаратов: учебно-методическое пособие / В. С. Прудников, И. М. Луппова, А. И. Жуков, Д. Н. Федотов. – Витебск: ВГАВМ, 2011. – 28 с. 9. Руководство по гистологии : учебник в 2 т. / ред. И. Г. Акмаев, В. Л. Быков [и др.]. – СПб. : «СпецЛит», 2001. – Т. II. – 735 с. 10. Федотов, Д. Н. Сравнительная морфология щитовидной железы насекомых животных, обитающих на территории Республики Беларусь / Д. Н. Федотов // Ученые записки учреждения образования «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины». – 2014. – Т. 50, вып. 1, ч. 1. – С. 40–42. 11. Федотов, Д. Н. Рекомендации по морфологическому исследованию щитовидной железы у животных / Д. Н. Федотов, И. М. Луппова // Утверждены Главным управлением ветеринарии с Государственной ветеринарной и Государственной продовольственной инспекциями Министерства сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь 15.06.2010 г., № 10-1-5/66. – Витебск, 2011. – 16 с. 12. Чекуров, И. В. Особенности функциональной микроморфологии щитовидной железы крольчих в первой половине беременности при применении селенсодержащих препаратов / И. В. Чекуров, Л. Л. Абрамова // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2011. – № 2. – С. 275-278. 13. Федотов, Д. Н. Особенности десквамации эпителия щитовидной железы у европейской косули / Д. Н. Федотов // Наука

– образованию, производству, экономике : Материалы 67-ой Региональной научно-практической конференции преподавателей, научных сотрудников и аспирантов, г. Витебск, 12 – 13 марта 2015 г.; в 2-х т. – Витебск : ВГУ им. П.М. Машерова, 2015. – Т. 1. – С. 81–83. 14. Junqueira, L.C. Basic histology: text & atlas (eleventh edition) / L.C. Junqueira, J. Carneiro. – New York: McGraw-Hill, 2005. – 502 p. 15. Kaisin, L. Selenium supplement use in young rabbits feeding / L. Kaisin // Stiinta Agricola. – 2007. – № 1. – P. 50-53.

Статья передана в печать 08.12.2016 г.

УДК 636.09:57.083.3:616.155.392:615.373:636.2

МОЛОКО КАК ОБЪЕКТ ИММУНОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ ЛЕЙКОЗА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

*Петренко А.С., *Алексеева Г.Б., *Прискока В.А., **Головаха В.И., **Корниенко Л.Н.

*Государственный научно-исследовательский институт по лабораторной диагностике и ветеринарно-санитарной экспертизе, г. Киев, Украина

**Белоцерковский национальный аграрный университет, г. Белая Церковь, Украина

Использование объединенных образцов (пулов) молока как объекта иммунологической диагностики энзоотического лейкоза крупного рогатого скота иммуноферментным методом требует достоверной оценки чувствительности тест-системы ИФА, поскольку выход за пределы их аналитических возможностей может представлять угрозу эпизоотическому благополучию.

Целью работы было определить и сравнить чувствительность тест-систем ELISA для диагностики лейкоза крупного рогатого скота различных производителей при использовании последовательных разведений положительного образца молока как вторичного внутрिलाбораторного эталонного образца.

Слабоположительный эталонный образец является критическим фактором, обеспечивающим гарантии диагностической чувствительности исследования. Только при его использовании можно гарантировать, что используемый иммунологический метод пригоден для выявления определенного уровня специфических антител.

Использование сборных проб молока в качестве объекта иммунологической диагностики лейкоза крупного рогатого скота, даже при существенных разведениях отдельного образца в пуле молока, является экономически эффективным в благополучных хозяйствах и гарантирует качественную диагностику заболевания, уменьшение себестоимости мониторинговых исследований (за счет использования вторичного эталона вместо международной стандартной сыворотки E05).

Using pooled samples (pools) milk, as an object of immunological diagnosis of enzootic bovine leukemia ELISA requires a reliable assessment of the sensitivity of the ELISA test system, as going beyond its analytical capabilities could pose a threat to the welfare of epizootic.

The goal of the work was to determine and compare the sensitivity of ELISA test kits for the diagnosis of bovine leukemia from different manufacturers using serial dilutions of a positive sample of milk as a secondary intralaboratory reference sample.

Low positive reference sample is the critical factor that contributes to guarantee the diagnostic sensitivity of the investigation. Only when it is used it can be ensured that suitable immunological method is used to detect a certain level of specific antibodies.

Using prefabricated milk samples as the object of immunological diagnosis of bovine leukosis, even substantial dilutions a separate sample in a pool of milk, is cost-effective in the prosperous farms and ensures high-quality diagnosis of the disease and reducing the cost of monitoring studies (through the use of a secondary standard instead of an international standard serum E05).

Ключевые слова: лейкоз, ИФА, валидация, методология, пул, молоко.

Keywords: leukosis, ELISA, milk, validation, methodologies, pool.

Введение. Основой обеспечения благополучия животноводства по энзоотическому лейкозу крупного рогатого скота является качественная диагностика заболевания. В соответствии с требованиями действующей «Инструкции по профилактике и оздоровлению крупного рогатого скота от лейкоза», основными методами прижизненной диагностики лейкоза является реакция иммунодиффузии и иммуноферментный анализ. Кроме того, она регламентирует применение ИФА в благополучных стадах для исследования объединенной пробы молока от групп животных [1].

Использование сборных образцов молока для диагностики энзоотического лейкоза крупного рогатого скота иммуноферментным анализом (ELISA) имеет определенные преимущества. Молоко как исследуемый объект может обеспечить простой, точный способ скрининга заболевания, поскольку антитела против вируса лейкоза в продромальной стадии