



ВЕТЕРИНАРИЯ

УДК 619:616-092.19

А.В. Сахаров

ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ РАЗВИТИЯ ПОЗВОНОЧНИКА СВИНЬИ В ОНТОГЕНЕЗЕ

Изучены возрастные особенности развития позвоночника свиньи в пренатальном и постнатальном периодах онтогенеза. Установлена неравномерность развития дорсального и вентрального отделов тела позвонка, обусловленная различным уровнем дифференцировки клеток хондрогенного дифферона в соответствующих отделах. Выявленные морфогенетические закономерности развития тел позвонков в различные периоды онтогенеза могут являться морфологической основой для формирования деформации позвоночного столба.

Ключевые слова: позвоночник свиньи, онтогенез, развитие, деформация позвоночника.

A.V. Sacharov

AGE PECULIARITIES OF THE PIG BACKBONE DEVELOPMENT IN ONTOGENESIS

The age peculiarities of the pig backbone development in prenatal and postnatal periods of ontogenesis are studied. The irregularity in development of the vertebra dorsal and ventral parts of the backbone caused by the different levels of chondrogenic cells differentiation in the correlative parts is determined. These morphogenetic regularities of vertebra development in the different periods of ontogenesis are morphologic basis for the formation of the spinal column deformation.

Key words: pig backbone, ontogenesis, development, spinal column deformation.

Рост позвоночного столба представляет собой сложный морфогенетический процесс, который обеспечивается функциональной активностью хрящевых клеток пластинки роста [1]. Сведения об особенностях её морфофункциональной организации в онтогенезе у различных видов млекопитающих, включая свинью, в современной отечественной и зарубежной литературе не нашли должного отражения. Анализ публикаций последних лет свидетельствует, что известное сходство некоторых биологических показателей человека и свиньи позволяет использовать данный вид животного не только как объект хозяйственной деятельности, а как наиболее адекватную модель для изучения различных патологий, характерных для человека [6]. Углубленное исследование закономерностей морфогенеза органов различных систем прокладывает путь к установлению терминационного тератогенного периода, а также позволяет подойти к пониманию патогенеза некоторых заболеваний, в том числе позвоночника животных и человека.

Материалы и методы исследований. Материалом для исследований служили пластинки роста тел позвонков (ПР) 6–12-недельных плодов помесных свиней породы крупная белая и ландрас, а также поросят от рождения и до 40-суточного возраста. Всего исследовалось 686 образцов.

Тела позвонков фиксировали в 10%-м растворе нейтрального формалина, декальцинировали в забуференном растворе ЭДТА, обезживали в спиртах возрастающей концентрации, просветляли в ксилоле и заливали в целлоидин-парафин. На санном микротоме изготавливали серийные срезы толщиной 3–5 мкм и монтировали на предметные стекла. Для изучения общей морфологической картины срезы окрашивали гематоксилином и эозином. Реакцию на суммарные кислые ГАГ ставили с альциановым синим. Распределение гликогена и гликопротеинов в клетках и межклеточном веществе определяли при постановке ШИК-реакции. Для дифференцировки гликогена и гликопротеинов срезы перед постановкой реакции подвергали ферментативной обработке 0,5%-м раствором панкреатической амилазы в термостате при 37°C в течение 10 часов.

Дифференциальное определение сульфатированных, несulfатированных гликозаминогликанов (ГАГ) и изучение их пространственно-упорядоченной организации в поляризованном свете осуществлялось постановкой топо-оптических реакций с толуидиновым синим. Кератансульфат (КС) и хондроитинсульфат (ХС) выявляли при значении pH-раствора красителя 1,5 и 2,5 соответственно, гиалуроновую кислоту при pH 4,6–5,0. Интенсивность

рефракции макромолекул коллагена в межклеточном веществе определяли постановкой реакции с пикросириусом красным [2].

Исследование препаратов проводили с использованием комплекса оптико-структурного анализа Olympus B-071, микроскопов Polmu-A и Polam-R. Морфометрические характеристики определяли с помощью комплекса программ AxioVision. Статистическую обработку данных проводили с использованием t-критерия Стьюдента, различия считали достоверными при $P \leq 0,05$.

Результаты исследований и их обсуждение. На сроке 6 недель гестации позвоночный столб плода свиньи представлен хрящевыми телами позвонков и межпозвонковыми дисками. ПР тела позвонка не сформирована. Зона роста тела позвонка образована группами клеток, расположенными радиально вокруг центра оссификации, который располагается эксцентрично – смещен к вентральной продольной связке (рис., А). Со стороны вентральной поверхности хрящевого тела позвонка определяется снижение плотности клеток на единицу площади, и отмечаются начальные этапы ориентирования пролиферирующих и гипертрофических клеток в колонковые структуры. В межклеточном веществе зоны роста со стороны вентральной поверхности тела позвонка степень пространственно-упорядоченной организации коллагена, гиалуриновой кислоты, ХС и КС превышает соответствующие показатели по сравнению с дорсальным (рис., Б). Таким образом, у плода свиньи на сроке 6 недель пренатального периода онтогенеза впервые регистрируются признаки асимметрии при формировании тела позвонка, обусловленные более высокой степенью дифференцировки хондробластов и зрелостью хрящевого матрикса в вентральном отделе зоны роста тела позвонка, по сравнению с дорсальным.

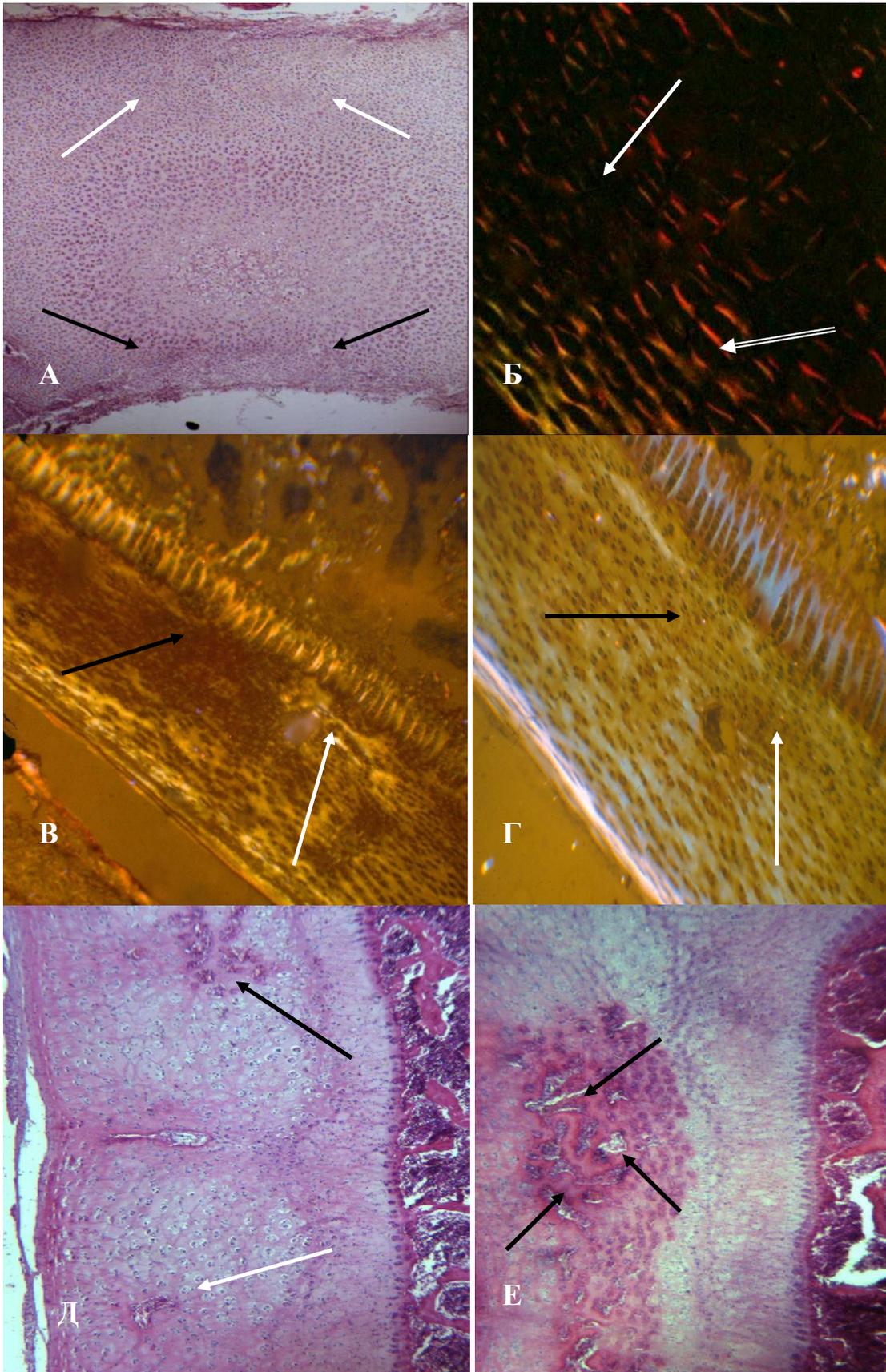
На 8-й неделе гестации ПР тела позвонка сформирована и в ней четко определяются характерные для неё зоны: резервная, пролиферации, созревания, гипертрофии и остеогенеза. Центр оссификации в хрящевых телах позвонков остается смещенным к вентральной продольной связке. На неравномерное развитие ПР указывают морфологические и гистохимические признаки клеток в вентральном и дорсальном отделах. Уплотненная форма клеток в вентральном отделе, а также присутствие в высокополимерной форме кислых ГАГ, которые определяются в виде мелких гранул, могут свидетельствовать о более высокой дифференцировке хондробластов вентрального отдела.

В дорсальном отделе ПР локализируются хондробласты овальной формы, основное вещество при постановке реакции на кислые ГАГ окрашивается в виде крупных альциапозитивных структур. Неравномерность развития дорсального и вентрального отделов ПР подтверждают и результаты поляризационно-оптического анализа: степень пространственно-упорядоченной организации макромолекул коллагена и ХС в межклеточном веществе гиалинового хряща ПР в вентральном отделе превышает аналогичные показатели дорсального отдела (рис., В).

Поскольку процессы остеогенеза и хондрогенеза являются взаимозависимыми, неравномерность развития дорсального и вентрального отделов ПР находит свое отражение при формировании костной ткани в зоне энхондрального остеогенеза. Со стороны вентрального отдела тела позвонка костные балки выполнены зрелой пластинчатой костной тканью. В дорсальном отделе костные балки представлены первичной грубоволокнистой костной тканью со следами перестройки и содержат значительные включения хрящевой ткани, которые указывают на несовершенный остеогенез.

У плодов свиньи на 12-й неделе гестации тело позвонка выполнено костной тканью. Морфологические и гистохимические признаки неравномерного развития дорсального и вентрального отделов ПР становятся менее заметными. Результаты поляризационного анализа показали, что степень макромолекулярной организации коллагена, а также сульфатированных и несulfатированных ГАГ в межклеточном веществе хряща, в дорсальном и вентральном отделе ПР достоверно не различается (рис., Г).

В постнатальном периоде развития (от новорожденности до 30 суток) ПР тела позвонка сохраняет схожие морфологические признаки. Несмотря на общность ее строения, в данный промежуток времени отчетливо прослеживаются признаки морфогенетических преобразований, которые приводят к структурному обособлению ПР от замыкательной пластинки тела позвонка. В ПР новорожденного поросенка в толще зоны пролиферации отмечается перфорация сосудами хрящевого матрикса, что, безусловно, приводит к изменению оксигенации хряща и дистрофии хрящевого матрикса в данном компартменте. В возрасте 7–14 суток деструкция хряща в толще зоны пролиферации ПР происходит строго в плоскости, перпендикулярной продольной оси тела позвонка по всей ее толщине. К 14-м суткам наблюдается расширение сосудистых каналов за счет интенсивной деструкции клеток и матрикса хрящевой ткани. Морфологическим проявлением повреждения клеток является наличие многочисленных оптически прозрачных вакуолей в цитоплазме. Клетки по периферии сосудистых каналов располагаются не по одиночке, а кластерами по 4 и более, что может рассматриваться в качестве ответной реакции низкодифференцированных клеток на повреждение активными кислородными метаболитами.



Неравномерное развитие тел позвонков свиньи

Примечание к рисунку:

А – зона роста тела позвонка плода свиньи на 6-й неделе гестации. Центр оссификации смещен к вентральной продольной связке. Темная стрелка – вентральный отдел тела позвонка; светлая – дорсальный. Гематоксилин-эозин. Ув. 40 х;

Б – неравномерное развитие зоны роста тела позвонка плода свиньи на 6-й неделе гестации. Рефракция макромолекул ХС в дорсальном отделе обозначена светлой стрелкой, двойной – в вентральном отделе. Топо-оптическая реакция на ХС. Ув. 200 х;

В – неравномерное развитие пластинки роста тела позвонка плода свиньи на 8-й неделе гестации. Рефракция макромолекул ХС в дорсальном отделе обозначена темной стрелкой, светлой – в вентральном отделе. Топо-оптическая реакция на ХС. Ув. 100 х;

Г – пластинка роста тела позвонка плода свиньи на 12-й неделе гестации. Рефракция макромолекул ХС в дорсальном отделе обозначена темной стрелкой, светлой – в вентральном отделе. Топо-оптическая реакция на ХС. Ув. 100 х;

Д – два очага деструкции матрикса в пластинке роста поросенка в возрасте 20-ти суток. Темная стрелка – дорсальный отдел ПР; светлая – вентральный отдел. Гематоксилин и эозин. Ув. 40 х;

Е – деструкция матрикса хряща и формирование костных балок в зоне пролиферации пластинки роста поросенка в возрасте 30-ти суток. Стелкой обозначены костные балки. Гематоксилин и эозин. Ув. 100 х.

В возрасте 20 суток становится заметной строго определенной закономерность дистрофических изменений клеток и матрикса хряща. В ПР морфологически четко определяются два центра деструкции хрящевого матрикса в вентральном и дорсальном отделах (рис., Д). Дистрофия и оссификация хрящевого матрикса наиболее выражены в дорсальном отделе ПР, что может объясняться замедлением дифференцировки клеток дорсального отдела ПР по сравнению с вентральным. Следовательно, их повреждение и деструкция матрикса оказываются выше в дорсальном отделе ПР. Считается, что именно клетки зоны пролиферации являются центром фокального поражения хряща при многих патологиях [31–33; 48].

К 30-ти суткам в зоне пролиферации ПР локальные участки деструкции клеток и матрикса сливаются (рис., Е). Оссификация и остеогенез принимают тотальный характер. Формирующиеся костные балки приводят к полному морфологическому разобщению замыкательной пластинки и ПР. При этом отчетливо заметно, что фронт остеогенеза в дорсальном отделе значительно шире, чем в вентральном. К 40-м суткам в зрелой ПР неравномерное развитие структурных компонентов тела позвонка доступными методами анализа не определяется.

Таким образом, ассиметричное расположение центра оссификации в телах позвонков изначально является фактором, обуславливающим неравнозначность трофики и влияния регуляторных факторов (гормонов, факторов роста, цитокинов) на хондробласты в дорсальном и вентральном отделах зоны роста, а позднее и ПР. Можно полагать, что неравнозначность дифференцировки клеток в дорсальном и вентральном отделах предполагает их различный уровень молекулярной организации трансмембранной системы клеток. Следовательно, при предъявлении хондробластам дорсального и вентрального отделов ПР равных требований, например, во время гормонального пика в период интенсивного роста и полового созревания, ответная реакция клеток низкой и более высокой степени дифференцировки будут неодинаковыми. С этой точки зрения возрастные особенности формирования ПР могут рассматриваться как одни из возможных этиологических факторов в развитии такой классической ортопедической патологии позвоночного столба у человека, как идиопатический сколиоз. Предложенная М.Г. Дудиным (2003, 2004) концепция этиопатогенеза идиопатического сколиоза постулирует, что при нарушении гормонального фона, например, при высоком содержании кальцитонина и соматостропина, развитие передних отделов тела позвонка человека опережает развитие задних на уровне суставных отростков. Компенсация этого состояния происходит за счёт торсии удлинённых передних отделов вокруг относительно укороченных задних [3]. В экспериментах А.А. Макеева и др. (2007) было установлено, что в условиях хронического стрессирования у поросят отмечалось нарушение формирования структурных компонентов позвоночника, которые в большей степени затрагивали вентральные отделы ПР [5].

Выявленное в нашем исследовании неравномерное развитие позвоночника свиньи в онтогенезе согласуется с результатами ранних исследований С.И. Лебедевского (1936). Автором было установлено, что в связи с особенностями биологии данного вида животного в норме рост грудного отдела позвоночника опережает рост спинного мозга [4]. Возникающий дисбаланс является физиологической особенностью свиньи и может являться морфологической основой для формирования деформаций позвоночного столба при определенных условиях.

Выводы

1. Неравномерное развитие позвоночника свиньи является возрастной особенностью и может быть морфологической основой для формирования сколиотической деформации позвоночного столба.
2. Свинья, как биологический вид, может рассматриваться в качестве экспериментальной модели для изучения закономерностей морфогенеза деформации позвоночного столба человека.

Литература

1. Archer, C.W. The chondrocyte / C.W. Archer, P. Francis-West // Int. J. Biochem. Cell Biol. – 2003. – Vol. 35. – № 4. – P.401–409.
2. Керн, М. Принципы поляризационно-оптического анализа в изучении соединительной ткани / М. Керн, Л. Модис, Н.В. Дедух // Архив анатомии, гистологии и эмбриологии. – 1985. – Т. 88. – №6. – С. 5–12.
3. Дудин, М.Г. Выявление особенностей нейрогуморальной регуляции опорно-двигательного аппарата у больных идиопатическим сколиозом методом биотестирования / М.Г. Дудин, Т.В. Авалиани, Д.Ю. Пинчук // Хирургия позвоночника. – 2004. – № 2. – С.58–63.
4. Лебедевский, М.А. Изменения в длине сегментов спинного мозга и осевого скелета (позвонков) в течение развития у человека и свиньи / М.А. Лебедевский // Изв. Науч. ин-та им. П.Ф. Лесгафта. – Л., 1936. – Вып.1. – С. 3–102.
5. Влияние окислительного стресса на состояние костной ткани тела позвонка свиньи / А.А. Макеев, А.В. Сахаров, К.В. Жучаев [и др.] // Сиб. вестн. с.-х. науки. – 2007. – № 6. – С. 81 – 86.
6. Cozzi, E. An update on xenotransplantation / E. Cozzi, M. Seveso, S. Hutabba // Vet Res Commun. – 2007. – Vol. 11. – P. 15–25.



УДК 615.32:616-092.18:574

Н.В. Симонова

ФИТОПРЕПАРАТЫ В КОРРЕКЦИИ ПРОЦЕССОВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ БИОМЕМБРАН, ИНДУЦИРОВАННЫХ УЛЬТРАФИОЛЕТОВЫМ ОБЛУЧЕНИЕМ

Ультрафиолетовое облучение теплокровного организма приводит к активации процессов перекисного окисления липидов биомембран, что является одним из ключевых моментов в возникновении ряда предпатологических состояний и заболеваний. Исследована возможность коррекции свободнорадикального окисления липидов мембран в условиях ультрафиолетового облучения введением фитопрепаратов – экстрактов элеутерококка, родиолы розовой, корня солодки и сока подорожника. Показано, что введение экстракта солодки и сока подорожника, в большей степени, и экстрактов элеутерококка и родиолы, в меньшей, препятствует накоплению продуктов перекисного окисления липидов (гидропероксидов липидов, диеновых конъюгатов, малонового диальдегида) в крови облучаемых животных и повышает устойчивость крыс к физической нагрузке.

Ключевые слова: ультрафиолетовое облучение, перекисное окисление липидов, экстракты элеутерококка, родиолы розовой, корня солодки, сока подорожника.

N.V. Simonova

THE ROLE OF PHYTOPREPARATIONS IN CORRECTING BIOMEMBRANE LIPID PEROXIDATION PROCESSES INDUCED BY THE ULTRAVIOLET IRRADIATION

Ultraviolet irradiation of the warm-blooded organism activates the biomembrane lipid peroxidation processes, which results in a number of prepathologic conditions and diseases. The purpose of the research was to study the possibility of correcting membrane lipid oxidation induced by free radicals under ultraviolet irradiation using phytopreparations- extracts of eleutherococcus, snowdon rose (*Rhodiola rosea*), licorice root, plantain juice. It is shown that the administration of licorice root and plantain juice in particular and extracts of eleutherococcus and snowdon rose (*Rhodiola rosea*) in less degree stops accumulation of lipid peroxidation products (lipid hydroperoxides, diene conugates, malonic dialdehyde) in the blood of animals subjected to irradiation and increases rat endurance.

Key words: ultraviolet irradiation, biomembrane lipid peroxidation process, extracts of eleutherococcus, snowdon rose, licorice root, plantain juice.

В настоящее время исследование эффектов воздействия ультрафиолетового излучения для здоровья человека является актуальным и своевременным ввиду последствий возросших уровней УФ-облученности на поверхности земли из-за истощения озона в стратосфере, существенное уменьшение которого в послед-