

ВЛИЯНИЕ ЭКСТРАКТОВ ИЗ ЭМБРИОНОВ КУР И АКТОВЕГИНА НА УРОВЕНЬ ЛЕЙКОЦИТОВ У КРЫС С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМИ ОЖОГАМИ

Мершинец Ю.А., Тимохина Ю.А., Кузнецова В.Г., Жегунов Г.Ф.

Харьковская государственная зооветеринарная академия, г. Харьков

Известно, что ожоги IIIВ степени вызывают выраженную лейкоцитарную реакцию, которая описана многими исследователями как в клинической, так и в экспериментальной практике [1, 9]. В первые часы после ожога число лейкоцитов в крови значительно возрастает. Это связано с «раздражением» костного мозга, о чем свидетельствует увеличение содержания промиелоцитов, отмечаемое при подсчете общих миелограмм, и превалирование молодых форм нейтрофильных гранулоцитов, которое обнаруживается в парциальных гранулоцитограммах, что отметил Sevitt [10]. Спустя 24 часа после ожога происходит резкое снижение лейкоцитов, которое обусловлено шоковым состоянием. После 2-х суток количество лейкоцитов в крови начинает медленно восстанавливаться и к 14-м суткам достигает нормы. Доказано, что чем больше глубина и площадь ожога, тем больше выражена лейкоцитарная реакция, а именно процесс снижения количества лейкоцитов [8].

Таким образом, является актуальной разработка методов нормализации количества лейкоцитов при лечении ожогов. Особого внимания заслуживает применение тканевых препаратов [11], в частности использование экстрактов из эмбрионов кур. Преимуществом таких препаратов является отсутствие аллергических реакций при их применении, а также наличие в них различных биологически активных веществ, которые обладают рядом свойств, присущих клеткам и тканям только на ранних этапах развития.

Целью исследования явилось сравнение экстракта из эмбрионов кур и актовегина на процесс восстановления и поддержания количества лейкоцитов у крыс с экспериментальными ожогами.

Материалы и методы исследования. Экстракт получали из 9 дневных эмбрионов кур. Эмбрионы извлекали из скорлупы, отмывали изотоническим раствором и гомогенизировали в течении 5 минут на механическом гомогенизаторе. Гомогенат центрифугировали 20 минут при 900g. Надосадки отфильтровывали и хранили в жидком азоте (-196°С) до использования [4].

Работа выполнялась на половозрелых белых лабораторных крысах-самцах массой 160-180 гр. Подсчет количества лейкоцитов в крови крыс проводили после моделирования ожога у животных по методу Хакимова [7]. На подготовленном участке спины размером 4x4 см под эфирным наркозом крысам моделировали термический ожог IIIВ степени. Для этого использовали прибор с температурной шкалой и электропаяльник, на конце которого прикрепляется пластина размером 2,5x2,5 см² [7]. Данный метод позволяет получить ожоги стандартные по площади и глубине в толще кожи. Время экспозиции, нагретой до 200°С контактной пластиной составляло 10 сек.

Для лечения крысам спустя 8 ч. после ожога, а затем ежедневно на протяжении 14 дней вводили в бедро: 1 группа – экстракт в дозе 0,002 мл/г массы тела, 2 группа – актовегин в дозе 1,2 мг сухого вещества на 100 г массы тела.

Забор крови у животных производили из хвостовой вены в первые, вторые, третьи, седьмые и четырнадцатые сутки эксперимента. Количество лейкоцитов подсчитывали в камере Горяева [5, 6].

Результаты исследований. После моделирования ожогов у животных, через 4 часа, количество лейкоцитов увеличивалось на 34 % выше нормы, а затем, спустя 8 часов наблюдалось снижение лейкоцитов на 48 % ниже нормы (рис. 1), что соответствует данным литературы [2, 3, 9].

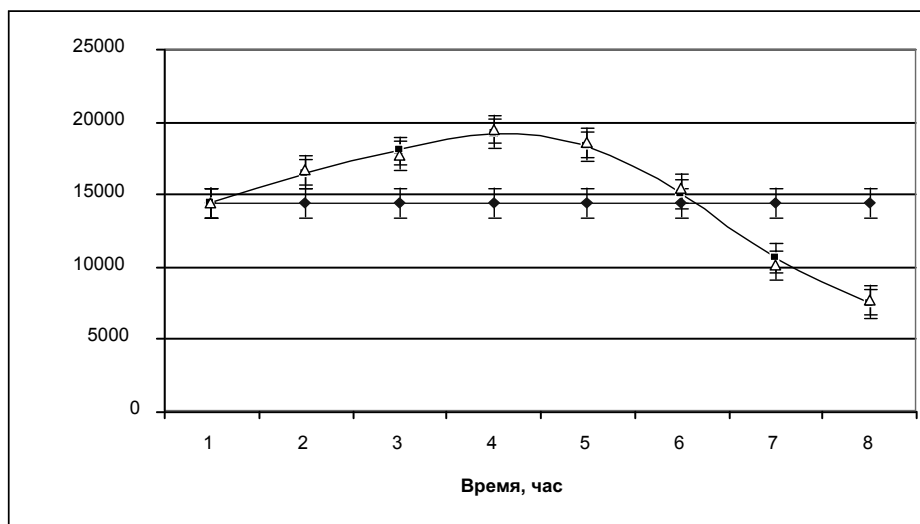


Рис. 1 Динамика изменения количества лейкоцитов у обожженных крыс в первые 8 часов эксперимента.

Обозначения: ● – количество лейкоцитов у интактных животных; ▲ – количество лейкоцитов у обожженных животных. Затем, через 8 часов после ожога, крысам вводили: 1 группа – экстракт из эмбрионов кур, 2 группа – препарат сравнения актовегин. Спустя сутки после введения экстракта или актовегина количество лейкоцитов все еще оставалось значительно ниже нормы. Но была отмечена тенденция к росту числа лейкоцитов в группе 1 и 2 (рис. 2).

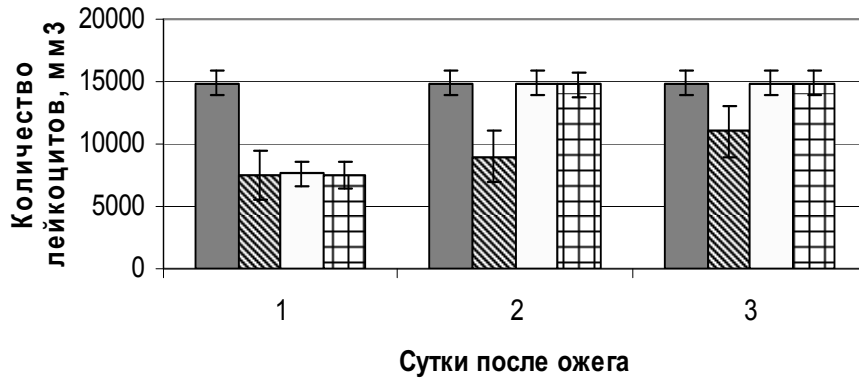


Рис. 2 Динамика изменения количества лейкоцитов у обожженных крыс в течении 1, 2 и 3 суток
Обозначения: ■ – интактные; ▨ – не получавшие экстракт; □ – получавшие экстракт; ▩ – получавшие актовегин.

На вторые сутки после ожога число лейкоцитов в крови крыс, получавших экстракт или актовегин восстанавливалось до нормы, а у животных контрольной группы, не получавших экстракт или актовегин, количество лейкоцитов находилось значительно ниже нормы.

На третьи сутки после ожога, было установлено, что у контрольной группы животных число лейкоцитов оставалось все еще сниженным на 25 % от нормы, тогда как у крыс, которым вводили экстракт, количество лейкоцитов поддерживалось в пределах нормы. Такая же картина наблюдалась у животных, которым вводили препарат сравнения актовегин (рис. 2). Полученный эффект подтверждается полученными нами ранее данными об эффективном восстановлении числа лейкоцитов в крови мышей и крыс при моделировании экспериментальной лейкопении [4].

Для выяснения устойчивости эффекта число лейкоцитов определяли на 7, 10 и 14 суток эксперимента.

Было отмечено, что у животных не получавших экстракт восстановление числа лейкоцитов в крови происходит медленно и на 7 сутки еще не достигает нормы. Спонтанное восстановление числа лейкоцитов до нормы у крыс не получавших экстракт наблюдалось только по истечению 10-14 суток. У животных, которые в течение всего указанного периода получали экстракт из эмбрионов или актовегин, лейкоциты поддерживались постоянно на уровне нормы (рис. 3).

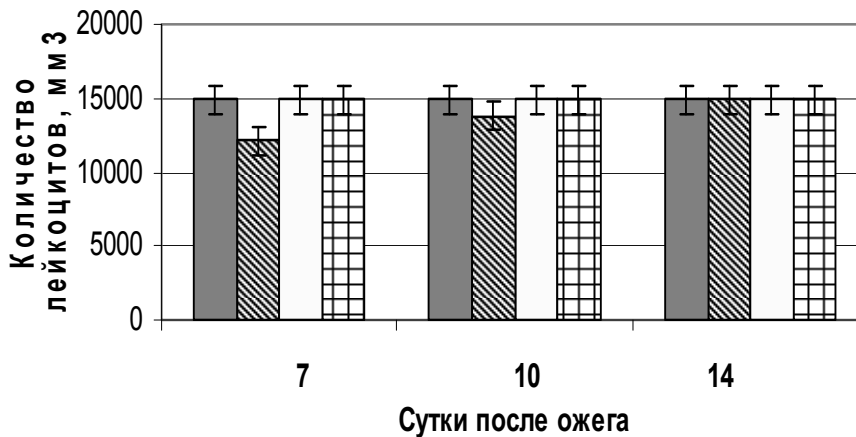


Рис. 3 Динамика изменения количества лейкоцитов у обожженных крыс в течении 7, 10 и 14 суток
Обозначения: ■ – интактные животные; ▨ – не получавшие экстракт; □ – получавшие экстракт; ▩ – получавшие актовегин.

Таким образом, установлено, что биологически активные вещества эмбрионального экстракта обладают сходным с актовегином действием, способствующим восстановлению и поддержанию на уровне нормы лейкоцитов в крови крыс с экспериментальным ожогом. Изучение свойств экстрактов из эмбриональных тканей и разработка на их основе новых лекарственных препаратов является перспективным направлением исследований. Применение экстрактов из эмбрионов кур в ветеринарной практике может значительно облегчить лечение различных раневых и ожоговых процессов у животных.

Вывод. Результаты данных исследований свидетельствуют о том, что экстракты из эмбрионов кур, так же как препарат сравнения актовегин, способны быстро и эффективно восстанавливать число лейкоцитов в крови крыс с экспериментальным ожогом и поддерживать их в течении длительного времени на постоянном уровне.

Список литературы

1. Арьев, Т.Я. Термические поражения. М.-Л.: Медицина, 1977, 704 с 2. Вишневский А.А., Шрайбер М.И. Термические ожоги. В кн.: Ожоговая болезнь. К., 1966, с. 12-17. 3. Втюрин, Б.В., Каем, Р.И. Некоторые аспекты адаптации при тяжелой ожоговой травме. В кн.: Матер. 3-й Республ. конф. по проблеме термических ожогов. Л., 1977, с. 81-82. 4. Кузнецова, В.Г. Влияние криоэкстрактов из эмбрионов кур на мышей и крыс с экспериментальной лейкопенией / В.Г. Кузнецова // Загальна патологія та патологічна фізіологія. Луганск. - 2009. - Т.4, № 4, - С. 64-72. 5. Метелкин, А.И., Утевский, М.Л. Лабораторные клинические исследования. - М.: Медгиз, 1951. - С.158. 6. Сахаров, П.П., Метелкин, А.И., Гудкова, Е.И. Лаб-

раторные животные. - М.: Медгиз, 1952. - С. 283. 7. Хакимов, З. З. Фармакодинамика лекарственных веществ, метаболизирующихся в печени, при ожоговой травме у крыс / Хакимов З. З., Наджимутдинов К. Н., Мавлянов И. Р. // Фармакология и токсикология. -1985. - № 2. - С. 103-106. 8. Huang, Y.S., Yang, L.S., Liu, X.S.: Serial experimental and clinical studies on the pathogenesis of multiple organ dysfunction syndrome (MODS) in severe burns. Burns.-1998.-24.-P. 706-16. 9. Ramzy, P.I., Wolf, S.E., Irtun, O., Hart, D.W.: Gut epithelial apoptosis after severe burn: effects of gut hypoperfusion. J.Am.Coll.Surg.-2000.-V.190.-N 3.-P. 281-7. 10. Sevitt, B.S. Burns. Pathology and therapeutic applications. London, 1957, p. 124.11. Актовегин. Новые аспекты клинического применения / [под ред. С.А. Румянцевой] – М., 2002.-280 с.

THE INFLUENCE OF EXTRACTS FROM CHICKEN EMBRYOSES AND ACTOVEGIN ON THE LEVEL OF LEUCOCYTES IN RATS WITH EXPERIMENTAL BURNS

Mershynets Yu.A., Timohina Yu.O., Kuznetzova V.G., Zhegunov G.F.

Kharkiv State Zooveterinary Academy, Kharkiv

After modeling the burns of the 3rd level in rat blood the number of leucocytes changes. The influence of extract from chicken embryos and actovegin on the process of regeneration and maintenance the number of leucocytes in rats with experimental burn has been studied. It was found that in rats which were injected by extracts or actovegin, the number of leucocytes in blood increased not only to the norm, but also remained at this level during 14 days.

УДК 619.59+576

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ МИОБЛАСТОВ ЭМБРИОНОВ СВИНЬИ

Мкртчян Г.Л., Саакян К.Т.

Ереванский государственный медицинский Университет, г. Ереван, Республика Армения

Аветисян А.С., Семерджян З.Б.

Институт Молекулярной Биологии НАН РА, г. Ереван, Республика Армения

Восканян Г.Е.

Научный центр оценки и анализа рисков безопасности пищевых продуктов ГНКО МСХ РА, г. Ереван, Республика Армения

Эмбриональный период развития представляет собой важную часть онтогенеза животного. В этот период протекают главные формообразовательные процессы, в результате которых организм приобретает основные признаки, характерные для животного данного вида. Уже в начале прошлого столетия появились работы по эмбриональному развитию крупного рогатого скота, овец и свиней, целью которых было разрешение отдельных конкретных вопросов, возникающих при исследовании эмбриогенеза сельскохозяйственных животных. Одним из таких вопросов является изучение процессов роста и дифференцировки мышечной ткани эмбрионов свиней, что актуально для понимания механизмов восстановления мышечной ткани при различных патологиях [1].

Одним из наиболее важных аспектов дифференцировки миобластов является исследование изменений внутриклеточных процессов в ходе их роста и дифференцировки. Целью наших исследований было изучение и сопоставление морфологических изменений миобластов свиньи по стадиям эмбрионального развития. Стадии развития зародышей определялись в соответствии с периодизацией эмбрионального развития свиней по Магакяну Ю.А. [2]. Автор на строго датированном материале обосновал собственную схему периодизации эмбрионального развития свиньи. Исходя из его схемы в зародышевом периоде, который характеризуется интенсивным процессом образования клеток, закладкой органов и тканей, интенсивнейшими процессами дифференцировки и роста, мы отбирали эмбрионы в конце данного периода в фазе органогенеза или вторичной дифференциации зародыша. Эта фаза охватывает временной промежуток с 16-х до 35-х суток зародышевого развития.

Материалы и методы. Для изучения эмбрионального развития проводились забор супоросных свиноматок. Забор проводился на 10, 15, 25, 35, 45 сутки супоросности. В каждой группе забивалось по три беременные свиноматки и из матки извлекались эмбрионы. Содержание и забой животных проводилось в соответствии с требованиями "AVMA Guidelines on Euthanasia, and local guideline for animal care and use" (осуществлялось под контролем Независимого этического комитета Института Молекулярной Биологии НАН РА, протокол № IRB00004079).

Исследование зародышей свиней и идентификация стадий их эмбрионального развития проводилось по общепринятой методике [3] в модификации Магакяна Ю.А. [2]. Исходя из последней, мы исследовали мышечную ткань 25- и 45-и дневных зародышей. Ткань фиксировали в жидкости Буэна, затем заливали в парафин и готовили серийные срезы, которые окрашивали гематоксилин-эозином и проводили гистологические исследования мышечной ткани. Помимо морфологических изменений учитывали размеры ядер миобластов в соответствии с размерами эмбриона.

Морфометрический анализ проводился с помощью программного обеспечения ImageJ.

Результаты исследований. Исследование проводилось на 25- и 45-и дневных эмбрионах свиньи. Для 25-и дневных эмбрионов было характерно появление признаков организации, типичных для высших млекопитающих. Исследование 45-и дневных эмбрионов было обусловлено тем, что именно в этот срок происходит переход от зародышевого к плодному периоду развития. У свиней эта фаза длится с 35- по 45-е сутки и характеризуется появлением признаков, специфичных для данного вида животного.

У 25-и дневного зародыша, который имел размер около 30- мм и вес около 0.5 гр (табл.) были хорошо заметны зачатки скелетной мускулатуры в виде сегментированных тяжей, которые располагались вдоль формирующегося позвоночного столба.

Последующие измерения проводились на 45-и дневных зародышах, имеющих размеры примерно 100-110 мм и вес в среднем 23.0-23.5 гр (табл.).

Полученные результаты показали, что в эмбриональном миогенезе у свиней на ранних этапах развития зародыша преобладают первичные миобласты. При этом имеется два типа миобластов – первичные, с центральным расположением ядра, и вторичные, с более периферическим расположением ядра. У 25-и дневного зародыша миобласты являются клетками неправильной, полигональной или веретенообразной формы, с довольно крупными ядрами, которые, в основном, имели округлую форму и занимали значительную часть клетки. Последние лежали рыхло на значительном расстоянии друг от друга (рис. 1 А).

У (45-и дневных зародышей) клеточная структура скелетных мышц была представлена незрелыми мышечными трубочками. Ядра у преобладающей части клеток располагались в центре, миофибриллы занимали краевое положение, что свидетельство-