

СВЕТЛАНА АЛЕКСАНДРОВНА НЕФЕДОВА

кандидат биологических наук, доцент кафедры биологии и разведения животных факультета ветеринарной медицины и биотехнологии, Рязанский государственный агротехнологический университет им. П. А. Костычева

nefedova-s-a@mail.ru

ДИНАМИКА РАЗВИТИЯ МИОКАРДА И МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ СА²⁺-АНТАГОНИСТОМ НА КОМПЕНСАТОРНУЮ АДАПТИВНОСТЬ ТЕЛЯТ К ГИПОТИРЕОЗУ

Независимо от тиреоидного статуса, без использования гормональных препаратов при введении СА²⁺-регулирующего реагента возможно установить необходимую активность ферментов для нормализации развития кардиомиоцитов. В результате своевременной регуляции компенсаторной адаптивности телят к гипотиреозу оптимизируются резистентность к маститу и лейкозу.

Ключевые слова: гипотиреоз, СА²⁺-антагонист, миокард, резистентность

Целенаправленное совершенствование племенных и продуктивных качеств молочного скота в нашей стране и за рубежом позволило создать высокий генетический потенциал продуктивности и резистентности. Для его полной реализации в условиях интенсификации отрасли молочного скотоводства важное значение имеет создание технологий, стимулирующих формирование и проявление высокого уровня адаптивных качеств организма по средствам регуляции компенсаторно-приспособительных процессов.

Адаптационные особенности любой породы в условиях интенсивного животноводства во многом определяются молекулярными компенсаторными механизмами, обеспечивающими оптимальное развитие и функциональную способность различных органов. Для обеспечения высоких надоев необходимо разработать механизм воздействия на компенсаторно-приспособительные реакции миокарда, что позволит, не используя гормональные препараты, обеспечить оптимальную работу вымени при гипотиреозе.

Ряд регионов Центрального федерального округа, в том числе Рязанская область, входят в группу риска по гипотиреозу из-за малого содержания в окружающей среде естественного йода, необходимого для работы щитовидной железы. Безусловно, в таких регионах в рацион телятам непременно вводится йод, однако гипотиреоз все равно остается актуальной проблемой. Дело в том, что йод является профилактическим средством, позволяющим вырабатывать необходимое количество гормонов нормально развитой щитовидной железе. В том случае если щитовидная железа недостаточно развита, а это часто наблюдается у телят из указанных регионов, необходима гормональная терапия, что практически недопустимо в условиях сельскохозяйственного производства.

Регуляция протеолитических систем, кислых и нейтральных протеиназ кардиомиоцитов, позволяет количественно изменять образование

ферментов и других биологически активных соединений, что существенно влияет на течение физиологических процессов.

Известно, что развитие сердечной мышцы во многом определяется уровнем гормонов щитовидной железы, которые регулируют изоферментный состав миозина в кардиомиоцитах желудочков, особенно в процессе роста особи [3]. Отсюда понятен интерес к возможной роли СА²⁺-зависимых протеиназ в механизме действия аналогов тиреоидных гормонов при развитии наиболее частого проявления дисфункции щитовидной железы из-за ее недоразвития (гипотрофии) – патологии миокарда [4], [5].

ЦЕЛЬ И ЗАДАЧИ

Данные исследования выполнены в рамках комплексной работы, целью которой является решение проблемы оптимизации хозяйственно-полезных признаков (продуктивности, резистентности к маститу, лейкозу, устойчивости к гипотиреозу) коров черно-пестрой породы путем регуляции СА²⁺-антагонистом компенсаторной адаптивности к гипофункции щитовидной железы в процессе роста и развития животных.

Исследования проводились в трех направлениях: физиология и биохимия процессов адаптивности, селекционно-генетические аспекты, экологический мониторинг. Исходя из поставленной цели, одной из задач являлся анализ морфофункциональной регуляции развития миокарда и молочной железы гипотиреоидных животных в процессе их онтогенеза при компенсаторной адаптивности СА²⁺-антагонистом к низкому статусу трийодтиронина, чему и посвящена данная публикация.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЙ

Научно-производственные опыты проводились с 1995 по 2010 год на поголовье крупного

рогатого скота в учхозе Рязанской ГСХА «Стенькино», ЗАО «Авангард» Рязанской области, ОАО ПХ «Лазаревское» Тульской области.

При формировании экспериментальных групп учитывали происхождение животных (линии, семейства, кроссы) по зоотехнической документации. Статистическую обработку результатов проводили после того, как экспериментальные животные выранжировались из стада.

В качестве объекта исследований использовались телята черно-пестрой породы различного происхождения. Учитывали предрасположенность матерей к заболеваниям, наследуемость болезней по линии быков-отцов. Сформировали четыре экспериментальные группы: I – эутиреоидные животные, у которых уровень гормонов щитовидной железы в норме, им не производили активацию развития миокарда Ca^{2+} -антагонистом; II – аналогичные I группе эутиреоидные особи с введением регулятора Ca^{2+} ; III – гипотиреоидные животные с низким уровнем трийодтиронина без индукции развития миокарда Ca^{2+} -антагонистом; IV – гипотиреоидные особи, аналогичные III группе при регуляции блокатором «медленных» Ca^{2+} -каналов развития сердечной мышцы.

Лабораторные исследования проводили в лаборатории нанотехнологий в растениеводстве и животноводстве РГАТУ им. П. А. Костычева, а также в лаборатории электронной микроскопии ЦНИЛа РГМУ им. И. П. Павлова, согласно общепринятым методикам исследования тканей животных на электронном микроскопе ЭМВ 100 АК, с использованием при фиксации и окраске материала глутарового альдегида, осмиевой кислоты, смеси аралдита и эпона. Ультратонкие срезы получали на ультратомах УМТП-4 и УМТП-5. При количественном анализе ультраструктур кардиомиоцитов определяли среднее число митохондрий в одной электронограмме, среднее количество крист в одной митохондрии, количество первичных лизосом с плотным гомогенным содержимым и вторичных гетерогенных лизосом из расчета на 10 электронограмм.

Гистологическое строение молочной железы изучали на образцах, взятых методом биопсии. Оценка коров по устойчивости к маститу осуществлялась согласно коэффициенту устойчивости [1]. Устойчивыми к маститу считались коровы с коэффициентом не выше 0,3.

Диагностика лейкоза проводилась методом иммунной диффузии (РИД) по общепринятой методике. Также использовались «Методические рекомендации для тестирования крупного рогатого скота на предрасположенность к лейкозу», разработанные совместно с профессором А. А. Коровушкиным [2].

Экспериментальная часть работы с целью подбора дозировки препарата проводилась на лабораторных животных в ЦНИЛ РГМУ им. И. П. Павлова, на белых крысах линии Вистар ($n = 80$) и кроликах ($n = 12$) в лаборатории нанотехнологий в растениеводстве и животноводстве РГАТУ

им. П. А. Костычева. С целью выявления влияния Ca^{2+} -антагониста на развитие миокарда лабораторных животных были поставлены серии экспериментов, модулирующих гипотиреоз, который создавали путем удаления щитовидной железы по методу Я. Д. Киршенблата. В эксперимент брали животных через 15 дней после тиреоидэктомии. Контрольную группу крыс и кроликов подвергали ложной операции. Для исключения эффекта недостаточности гормона оперированным животным вводили Z-тиrozин из расчета 50 мкг на 1 кг массы тела.

Для выявления роли Ca^{2+} -антагониста в реализации регуляторного эффекта на миокард гипотиреоидных лабораторных животных использовали кальций-регулирующее вещество нифедипин – блокатор «медленного» кальциевого канала, уменьшающего внутриклеточную концентрацию Ca^{2+} . Нифедипин является высокоспецифичным кальциевым антагонистом. Как отмечают многие ученые из ведущих научных лабораторий мира, деятельность которых направлена на исследование физиологии и патфизиологии сердца, препарат официально признан как « Ca^{2+} -антагонист», так как он угнетает все процессы, связанные с поступлением этого иона в кардиомиоциты, настолько специфически, что остальными его фармакологическими свойствами, по крайней мере в разумном диапазоне доз, можно пренебречь [2]. Регулятор Ca^{2+} вводили перорально в виде масляного раствора в дозе 0,15 мг/кг в течение недели.

С целью выявления роли Ca^{2+} -антагониста в развитии миокарда экспериментальных телят им вводили нифедипин по той же схеме, что и лабораторным животным.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Патология в кардиомиоцитах животных (телят, крыс, кроликов) при гипотиреозе выражается в атрофии миокардиальных волокон, наблюдается отек стромы и паренхимы, которые постепенно перерастают в очаговые некротические поражения. Фуксинофильная дегенерация, плазматическое пропитывание, вакуолярная и жировая дистрофия, миоцитолизис, глыбчатый распад и другие патологические состояния сердечной мышцы явно возникают в кардиомиоцитах животных при недостатке трийодтиронина. Как показывают цитоморфологические исследования, реакция миокарда на введение Ca^{2+} -антагониста у лабораторных животных и у экспериментальных телят идентична, что говорит о правильном подборе дозы препарата, а также об отсутствии видовой специфичности его действия.

Дистрофия миокарда у телят при гипотиреозе, по нашему мнению, сопровождается снижением интенсивности окислительного фосфорилирования, замедлением синтеза белка, уменьшением поглощения кислорода, вследствие этого нарушается циркуляция крови, а в результате происходит

гипоплазия при развитии молочной железы. Сбой в работе иммунной системы возникает из-за нарушений гемопоэза, а вместе с ним – понижение резистентности к ВЛКРС (вирусу лейкоза крупного рогатого скота), что наблюдается из-за снижения окислительно-восстановительных процессов и клеточного дыхания.

При цитологических исследованиях миокарда телят наблюдается митохондриальный компартмент с нарушением архитектоники. Энергетические органеллы набухшие, рыхло располагаются по отношению друг к другу. Общее количество митохондрий по сравнению с нормой (миокард интактных эутиреоидных телят) уменьшается в среднем на 49,6 %. В большинстве митохондрий наблюдаются отечность и просветление матрикса на фоне гомогенизации крист. Количество крист в митохондриях также ниже нормы, их в среднем 9, тогда как в норме для данного вида и возраста животных – не менее 18. Площадь митохондрий достигает 0,38 мкм^2 , в норме – 0,30 мкм^2 .

Количество первичных лизосом в цитограммах миокарда гипотиреозных телят в 5,5 раза превышает норму, что указывает на активацию

аппарата Гольджи к процессам аутолизиса. Однако низкое число вторичных гетерогенных лизосом (их меньше нормы в 2,5 раза) на фоне очагов повреждения актин-миозиновых структур подтверждает изменения проницаемости мембран, что препятствует работе ферментов. В зонах гомогенизированных митохондрий и нарушений сократительных компартментов локализуются вторичные крупные лизосомы с гетерогенным содержимым низкой электронной плотности, остаточные тельца, гранулы липофусцина, что указывает на активацию лизиса структур, неспособных поддерживать работу кардиомиоцита в норме (табл. 1).

Такое нарушение энергетики сердечной мышцы, ее пластического обеспечения и электролитные сдвиги в процессе онтогенеза животных вызывают снижение сократительной функции органа. Недостаточная работоспособность сердечной мышцы неизбежно приводит к снижению циркуляции крови, а вместе с тем – к изменению клеточного дыхания, нарушению функциональной активности вымени, понижению резистентности. Цитоморфология кардиомиоцитов отражена в табл. 2.

Таблица 1
Цитограмма кардиомиоцитов телят при регуляции Ca^{2+} -антагонистом компенсаторной адаптивности к недостатку трийодтиронина

Показатель	Группа			
	эутиреозные		гипотиреозные	
	I (n = 10 гол.)	II (n = 10 гол.)	III (n = 10 гол.)	IV (n = 10 гол.)
Митохондрий в 10 электронограммах	54,0 ± 1,00	51,8 ± 1,36	27,2 ± 0,86***	49,2 ± 2,24
Крист в митохондрии	18,0 ± 0,71	17,8 ± 0,97	8,8 ± 0,66**	16,2 ± 0,97
Средняя площадь митохондрии, мкм^2	0,30 ± 0,01	0,28 ± 0,01	0,38 ± 0,02***	0,33 ± 0,01
Первичные лизосомы на 10 полей зрения	11,2 ± 1,24	8,8 ± 1,59	62,0 ± 3,96***	17,8 ± 2,25*
Вторичные лизосомы на 10 полей зрения	8,0 ± 0,71	8,2 ± 0,66	3,2 ± 0,37***	6,0 ± 1,00

Примечание. P ≤ 0,05 – *, P ≤ 0,01 – **, P ≤ 0,001 – ***.

Таблица 2
Цитограмма кардиомиоцитов коров с низкой резистентностью к маститу и лейкозу при регуляции Ca^{2+} -антагонистом компенсаторной адаптивности к недостатку трийодтиронина

Показатель	Группа			
	эутиреоидные		гипотиреоидные	
	I (n = 10 гол.)	II (n = 10 гол.)	III (n = 10 гол.)	IV (n = 10 гол.)
Восприимчивые к маститу				
Митохондрий в 10 электронограммах	41,8 ± 1,07	41,0 ± 2,07	19,2 ± 1,02***	–
Крист в митохондрии	16,0 ± 0,63	16,2 ± 0,80	6,8 ± 1,16***	15,2 ± 0,80
Средняя площадь митохондрии, мкм^2	0,30 ± 0,01	0,28 ± 0,01	0,63 ± 0,02**	0,33 ± 0,01
Митохондрий на 10 полей зрения	421,6 ± 7,11	446,6 ± 11,70	273,6 ± 9,34***	478,6 ± 14,94
Первичные лизосомы на 10 полей зрения	10,6 ± 1,83	9,0 ± 0,71	–	–
Вторичные лизосомы на 10 полей зрения	8,2 ± 1,02	8,4 ± 0,93	4,0 ± 0,71**	6,2 ± 0,66
Восприимчивые к лейкозу				
Митохондрий в 10 электронограммах	46,6 ± 1,44	49,6 ± 2,64	30,6 ± 1,54***	50,2 ± 2,06
Крист в митохондрии	15,8 ± 0,37	17,2 ± 0,86	10,8 ± 1,24**	18,6 ± 1,12
Средняя площадь митохондрии, мкм^2	0,30 ± 0,01	0,28 ± 0,01	0,49 ± 0,02***	0,31 ± 0,02
Митохондрий на 10 полей зрения	467,8 ± 6,87	502,6 ± 7,03	313,2 ± 4,90**	509,6 ± 4,26
Первичные лизосомы на 10 полей зрения	6,0 ± 0,71	7,2 ± 1,07	67,6 ± 4,23***	7,6 ± 1,60
Вторичные лизосомы на 10 полей зрения	4,8 ± 0,37	11,6 ± 1,08	1,8 ± 0,37 ***	7,0 ± 0,89

Разрабатывая методику оптимизации компенсаторной адаптивности при развитии миокарда телят с гипофункцией щитовидной железы, прежде всего мы выяснили действие Ca^{2+} -антагониста на кардиомиоциты. Обнаружена положительная динамика, показатели цитограммы приблизились к норме, что указывает на высокую эффективность применения Ca^{2+} -антагониста как регулятора развития миокарда при низком гипотиреоидном статусе.

Количество энергетических органелл в среднем для низкорезистентных к маститу эутиреоидных особей в 2,2 раза меньше, для неустойчивых к лейкозу – в 1,5 раза меньше, чем у высокоустойчивых особей. Использование Ca^{2+} -антагониста способствует нормализации количества митохондрий у восприимчивых к маститу животных независимо от трийодтиронинового статуса.

Таким образом, использование блокаторов «медленных» каналов Ca^{2+} при компенсаторно-приспособительной регуляции в процессе роста и развития животных увеличивает энергетический баланс сердца. Это положительно влияет на резистентность животных к маститу, а также к лейкозу, нормализуя проницаемость мембран лизосом, что способствует активации ферментативной системы клеток и увеличению защитной функции.

Регуляция развития миокарда телят под действием Ca^{2+} -антагониста оказывает положительное воздействие на формирование тканевой структуры молочной железы (табл. 3).

По диаметру продольных альвеол, высоте альвеолярных клеток, количеству клеток эпителия на 10 мкм, продольному диаметру жировых клеток, толщине магистральных соединительных тканевых тяжей гипотиреоидные коровы, которым в период раннего онтогенеза до возраста 18 месяцев не проводили стимуляцию развития миокарда, отличаются от своих интактных аналогов по указанным показателям на 19,2, 26,3, 18,6, 21,6, 29,2 % соответственно.

Таким образом, использование Ca^{2+} -антагониста в качестве стимулятора формирования цитоморфологических структур миокарда положительно влияет на развитие сердца независимо от гормонального статуса особи. Методика позволяет без использования гормональных препаратов оптимизировать работу сердца, что обеспечивает высокие метаболические, обменные процессы, реакции молекулярного дыхания, а значит, положительно влияет на развитие вымени коровы, формирует высокую резистентность к маститу и лейкозу.

Гистоструктура молочной железы
экспериментальных коров

Таблица 3

Показатель	Группа			
	эутиреоидные		гипотиреоидные	
	I (n = 10 гол.)	II (n = 10 гол.)	III (n = 10 гол.)	IV (n = 10 гол.)
Продольный диаметр альвеол, мкм	106,4 ± 3,27	104,8 ± 3,20	86,0 ± 1,92***	102,6 ± 3,57
Высота альвеолярных клеток, мкм	7,2 ± 0,16	7,0 ± 0,07	5,3 ± 0,14***	6,6 ± 0,13*
Количество клеток эпителия на 10 мкм диаметра альвеол, шт.	4,3 ± 0,07	4,3 ± 0,06	3,5 ± 0,07***	4,1 ± 0,08
Продольный диаметр жировых клеток, мкм	74,2 ± 1,32	71,8 ± 1,24	58,2 ± 1,07***	70,0 ± 1,92
Толщина магистральных соединительных тканевых тяжей, мкм	415,8 ± 6,41	423,6 ± 6,72	587,6 ± 4,57***	429,0 ± 10,18

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Бороздин Э. К., Клейберг К. В., Зимин Г. Я. Устойчивость крупного рогатого скота к маститу. М.: ВНИИплем, 1993. 207 с.
- Коровушkin A. A., Нефедова С. А. Методические рекомендации для тестирования крупного рогатого скота на предрасположенность к лейкозу. Рязань: Рязанский государственный агротехнологический университет, 2008. 11 с.
- Физиология и патофизиология сердца: Пер. с англ.; в 2 т. / Под ред. Н. Сперелакиса. 2-е изд., испр. М.: Медицина, 1990. 624 с.
- Яворский О. Г. Роль лизосом в патогенезе новодриновых повреждений миокарда // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. 1982. № 4. С. 83–86.
- Hajashi K. An electron microscope study on the conduction cow heart // Jpn. Circ. J. 1962. Vol. 26. P. 765–842.