

НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК КЫРГЫЗСКОЙ РЕСПУБЛИКИ
ИНСТИТУТ БИОТЕХНОЛОГИИ

На правах рукописи
УДК 636.32:611-018(043.)(575.2)

Ногойбаева Раиса Сардаевна

**МОРФО-ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СТАНОВЛЕНИЕ ТКАНЕЙ
МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ СУЯГНЫХ ОВЦЕМАТОК
КЫРГЫЗСКОЙ ТОНКОРУННОЙ ПОРОДЫ**

03.00.13 -физиология

16.00.02 – патология, онкология и морфология животных

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Бишкек - 2003

Работа выполнена в лаборатории биохимии животных
Института биотехнологии НАН КР

Научные руководители: кандидат биологических наук, старший
научный сотрудник Т.Ч.Чекиров

доктор медицинских наук,
профессор Н.Н.Заречнова

Официальные оппоненты: доктор медицинских наук,
профессор Т.К.Кадыралиев

кандидат биологических наук,
доцент Н.С.Матюшенко

Ведущая организация: Кыргызский научно-исследовательский институт
животноводства, ветеринарии и пастбищ

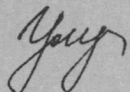
Защита состоится «10» июня 2003 г. в _____ часов

на заседании диссертационного совета Д 03.03.217 при Институте биотехноло-
гии НАН КР по адресу: 720071, г.Бишкек, Чуйский проспект, 265.

С диссертацией можно ознакомиться в центральной научной библиотеке
Национальной академии наук Кыргызской Республики

Автореферат разослан «9» июня 2003 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
кандидат биологических наук

 А.Р.Умралина

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы диссертации. Овцеводство в Кыргызстане является ведущей отраслью животноводства, рентабельность которой в немалой степени зависит от молочной продуктивности овцематок. В селекционной работе, направленной на повышение совершенствования существующих и создание новых пород и породных групп овец, должен учитываться уровень молочной продуктивности животных. Следовательно, фундаментальные исследования по морфо-функциональной характеристике секретирующего молока органа-молочной железы овцематок, той или иной породы овец, разводимой в республике, важны не только в общебиологическом, но и селекционном плане. Селекционная работа по созданию пород животных с нужными человеку признаками должна опираться на следующие исследования, как физиологические, так и морфологические, которые раскрывают закономерности строения, развития и функции молочной железы.

Морфологии и функции молочной железы сельскохозяйственных животных, в частности, овец посвящено значительное количество научных работ (Т.И.Гаврикова, 1975; Г.И.Хрусталева, 1978; И.И.Грачев, Н.П.Алексеев, 1980; Н.О.Мамедова, 1983; А.А.Грачева, А.В. Малов, 1985; Т.Ч.Чекиров, В.Г. Скопичев, 1988; С.А. Аминов, 1990; К.А.Алагушев, Р.А.Байбеков, А.А.Карашев, 1992; А.А.Карашев, 1996; Я.И.Имигеев, А.Д.Жылкыбаева, 1997; З.Мукашев, 2001; Т.Ч.Чекиров, К.Уракунова, Т.А.Корчубекова, 2002 и др.).

Однако морфо-функциональное становление молочной железы у нелактирующих и суягных овцематок на светооптическом (микроскопическом) и ультраструктурном уровнях, с выяснением физиологической роли ряда протеолитических ферментов и некоторых биохимических показателей ткани в этом процессе остается не изученным.

Связь темы диссертации. Работа является одним из разделов разрабатываемой сотрудниками лаборатории биохимии животных Института биохимии и физиологии НАН КР им. Н.И.Захарьева (с 2002 г. Институт биотехнологии) комплексной проблемы по изучению молекулярных и клеточных механизмов формирования секреторной функции молочной железы животных (номер госрегистрации 018601239910.)

Цель исследования: показать в динамике морфо-функциональное становление тканей молочной железы суягных овцематок кыргызской тонкорунной породы на светооптическом и ультраструктурном уровнях. Выяснить физиологическую роль ряда протеолитических ферментов и биохимических показателей ткани молочной железы в этом процессе.

Задачи исследования:

- изучить гистологическую и электронно-микроскопическую структуру тканей молочной железы нелактующих и суягных овцематок в разные сроки суягности в процессе дифференцировки;

- выяснить физиологическую роль протеолитических ферментов и некоторых биохимических показателей тканей молочной железы овцематок в различные сроки суягности в процессе дифференцировки клеток;

- определить морфометрические показатели дифференцировки тканей молочной железы нелактующих и суягных овцематок.

Научная новизна. Впервые на светооптическом, ультраструктурном уровнях:

- описана морфо-функциональная дифференцировка тканей молочной железы нелактующих и суягных овцематок кыргызской тонкорунной породы;
- выяснена физиологическая роль ряда протеолитических ферментов и биохимических показателей тканей молочной железы овцематок в период суягности;
- дана морфометрическая характеристика тканей молочной железы нелактующих и суягных овцематок в разные периоды суягности.

Практическая значимость работы. В диссертации представлены новые данные по морфо-функциональной характеристике дифференцирующихся тканей молочной железы в различные сроки суягности овцематок кыргызской тонкорунной породы. Данные могут быть использованы в высших учебных заведениях при чтении лекций и проведении лабораторных занятий по дисциплинам анатомия, эмбриология, гистология, цитология и физиология сельскохозяйственных животных, а также при написании соответствующих разделов учебников и учебных пособий по этим дисциплинам.

По материалам диссертации изданы и внедрены научно-методические рекомендации “Формирование иммунологического статуса у ягнят” (Бишкек, 1991), “Изучение лактации овец кыргызской тонкорунной породы” (Бишкек, 1995) и “Рекомендации по экспресс методам определения иммуноглобулинов в крови и молозиве коров и овец” (Бишкек, 1995), предназначенные для аспирантов, студентов ветеринарного и зооинженерного факультетов сельскохозяйственных вузов.

Экономическая значимость полученных результатов. Результаты исследований могут быть использованы в селекционной работе направленной на повышение молочной продуктивности животных и выведении новых пород овец.

Основные положения диссертации, выносимые на защиту:

1. В первые 2 месяца суягности увеличение массы молочной железы овцематок кыргызской тонкорунной породы происходит за счет накопления жировой ткани.

2. Дифференцировка тканей альвеолярного комплекса начинается с 3-го месяца суягности из скопления эпителиальных клеток и заканчивается в конце суягности.

3. Морфологически секреторная активность альвеолоцитов обнаруживается в формирующихся альвеолярных полостях в начале 4-го месяца суягности.

4. Физиологическая роль протеолитических ферментов тканей молочной железы заключается в резорбции жировой ткани.

Личный вклад соискателя. Сбор, обработка материала, подготовка и обобщение результатов научных исследований, изложенных в диссертации, выполнены автором самостоятельно. В опубликованных в соавторстве работах, канд. биол. наук, с.н.с. Т.Ч.Чекиров является научным руководителем, а другие соавторы И.А.Абрамова, Т.Ф.Сухорукова, К.Уракунова, Т.А.Корчубекова участвовали в сборе экспериментального материала.

Апробация результатов диссертации. Основные результаты диссертационной работы доложены и одобрены на: VII Всесоюзном симпозиуме по физиологии и биохимии лактации (г. Алма-Ата, 1986), IX межреспубликанской научной конференции молодых ученых АН Киргизской ССР (г.Фрунзе, 1987), I съезде физиологов Казахстана (г. Алма-Ата, 1988), VIII Всесоюзном симпозиуме по физиологии и биохимии лактации, посвященном 100-летию со дня рождения профессора Г.И. Азимова (г.Баку, 1990), юбилейной конференции, посвященной 90-летию со дня рождения академика М.Н. Лушихина (г.Бишкек, 1997), научной конференции “Актуальные проблемы сельскохозяйственной биотехнологии” (пос.Гвардейский, Казахстан, 1998), юбилейной конференции, посвященной 80-летию со дня рождения профессора В.М. Митрофанова (1999), юбилейной конференции, посвященной 50-летию со дня образования Жайылской Государственной ветеринарной лаборатории (2001), юбилейной конференции, посвящ.100-летию со дня рожд. акад. А.А.Волковой и Н.И.Захарьева (2002), расширенном заседании лаборатории физиологии и биохимии животных НАН Кыргызской республики (2002).

Опубликованность результатов. Основные положения диссертации опубликованы в 17 научных статьях и в виде трех рекомендаций.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 121 странице компьютерного текста, иллюстрирована 9 таблицами, 28 рисунками и 8

графиками. Состоит из введения, обзора литературы, собственных исследований, обсуждения полученных результатов, выводов и практических предложений. Список литературы включает 206 источников, в том числе 133 отечественных и 73 иностранных авторов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Научные исследования, результаты которых изложены в настоящей работе, выполнялись в 1985-1989 годы, согласно плану НИР лаборатории биохимии животных Института биохимии и физиологии НАН Кыргызской Республики, в лаборатории электронной микроскопии Института цитологии АМН СССР (г. Ленинград) и хозяйствах "Урюкты" Иссык-Кульского и "Тогуз-Булак" Тонкого районов Иссык-Кульской области. Объектом исследования были овцематки 1-класса, 3-й и 4-й лактации кыргызской тонкорунной породы.

Необходимый для проведения гистологических, электронно-микроскопических и биохимических исследований материал брали после убоя животных на Токмакском мясокомбинате, а также при специальном забое животных частного сектора.

Сроки суягности овцематок определяли по возрасту плодов, извлеченных из матки после убоя овцематок. Для этого плоды взвешивали, измеряли длину их туловища, отмечали места появления волосяного покрова согласно таблице В.Н.Студенцова (1970), по определению возраста плодов сельскохозяйственных животных.

Гистологическому, электронно-микроскопическому и биохимическому исследованиям была подвергнута молочная железа (вымя) от 38 овцематок находящихся на различных сроках суягности (1 месяц, 2 месяца, 3 месяца, 4 месяца и 5 месяцев) и от 23 нелактирующих овцематок в возрасте 3-4 лет.

С целью изучения гистологического становления тканей молочной железы в зависимости от срока суягности овцематки с различных участков её вырезали 10-15 кусочков размером 2 см x 1,5 см x 1 см и фиксировали их в 10%-ном растворе нейтрального формалина и в жидкости Карнуа в соответствии с методиками, описанными в руководстве Г.А.Меркулова по патогистологической технике (1969).

Из парафиновых блоков готовились гистологические срезы на санном микротоме толщиной 6-10мкм. Гистологические препараты окрашивали гематоксилин - эозином и изучали под световым микроскопом (МБИ-15, МБИ-6) при малом и большом увеличении.

Морфометрические исследования гистологических препаратов проводили с использованием окулярной сетки Г.Г. Автандилова (1972).

Микрофотографирование выполнялось с помощью микроскопов МБИ-6 и

МБИ-15 с фотонасадкой. Фотографии готовили на цветных пленках Kodak и Kopica.

Для проведения электронно-микроскопических исследований ткань молочной железы подвергали фиксации, процесс которой состоял из двух этапов: префиксации и постфиксации. Для префиксации применяли забуференный 2% раствор глутаральдегида (в соотношении 3:1). Постфиксацию осуществляли в 2% растворе четырехокиси осмия (OsO_4) по Caulfield J.B. (1957). После фиксации ткань молочной железы заливали в аралдит или эпон-812, контрастировали уранилацетатом и цитратом свинца по Reynolds E.S (1963) и просматривали ультратонкие срезы под электронным микроскопом (Tesla-650, JEM-7A).

Полутонкие срезы толщиной 1-3мкм были получены на ультратоме и окрашены толудиновым синим по Lynn J.A (1965). Микрофотографии тонких срезов выполнялись с применением фотопластинок размером 9X12см.

Полученный материал обрабатывался методом вариационной статистики с учетом стандартных значений критерия достоверности по Стьюденту. Построение графиков осуществлялось в программе "Excel" для "Windows".

Для биохимических анализов ткань молочной железы брали после специального забоя и готовили гомогенат по общепринятой методике.

Протеолитическую активность по расщеплению гемоглобина определяли по методу M.Z. Anzona (1938), с некоторыми модификациями.

Активность ингибитора трипсина в гомогенизированной ткани молочной железы определяли методом Байтнера (N.J. Baintner, 1973).

Содержание жира в тканях молочной железы в различные сроки беременности определяли по ГОСТ-23042-78, кислую фосфатазу – методом Березина и Н.И. Гавриловой (1984). Концентрацию общего белка в гомогенизированной ткани определяли методом Лоури в модификации В.П. Чешева и др. (1967). Сухой остаток - общепринятым методом.

Полученные цифровые данные статистически обрабатывали по В.С. Асатиани (1965) на программируемых микрокалькуляторах типа "Электроника МК-56".

В трехмесячном сроке суягности процесс замещения жировой ткани становится интенсивным и жировые клетки подвергаются резорбции микроскопически обнаруживаются лишь в виде маленьких островков по периферии пластов соединительной ткани.

Важной особенностью этого периода является наличие начальных этапов формирования альвеолярного комплекса с различным уровнем развития.

Жировая ткань постепенно замещается на соединительную ткань, а затем на клетки развивающейся паренхимы.

С развитием процесса эти клетки отделяются и отдельные из них располагаются в центральной части будущей альвеолы. Необходимо отметить, что центральная часть этого скопления клеток представлена мелкими клетками с пикнотическими ядрами.

Альвеолоциты в этот период, по-видимому, образуются из скоплений темноокрашенных клеток. Через соединительнотканную строму, окружающую альвеолу, проходит капиллярная сеть, обеспечивающая благоприятные условия метаболизма этих клеток. Центральные расположенные клетки отслаиваются и в последующем подвергаются деструкции с участием протеолитических ферментов лимфоидных клеток. Таким путем формируется просвет альвеолы и ее выводной проток. Можно заключить, что дифференцировка тканей альвеолярного комплекса в молочной железе начинается с третьего месяца суягности из скоплений эпителия и заканчивается в конце суягности.

К четырехмесячному сроку суягности галактофорные каналы формируют молочные ходы, имеющие двухслойный эпителий. В полости некоторых формирующихся альвеол вместе с разрушенными клетками встречаются лейкоциты, макрофаги. Отмечаются признаки начальной стадии секреции молочного жира в виде появления капель (шариков) жира в цитоплазме эпителиальных клеток, приводящих к оттеснению ядра к базальной части клеток.

К пятому месяцу суягности паренхима железы приобретает характерную для дефинитивного органа структуру, перестройка тканей заканчивается, альвеолы сформированы и имеют растянутую полость. Эпителиальные клетки куполообразно внедряются в полость молочных ходов – альвеол.

В основном они имеют цилиндрическую форму, с хорошо видимыми в поле зрения микроскопа ядрами. Вся железистая масса вымени разделена соединительнотканными тяжами на дольки разной величины, средний диаметр молочных ходов у маток в конце суягности был почти в 2,5 раза больше, чем у маток сроком беременности два месяца. В то же время в различных долях состояние просвета альвеол существенно различается.

Наряду с альвеолами, имеющими пустой просвет, встречаются альвеолы, имеющие содержимое различной оптической плотности. Это может быть объяснено различной степенью дифференцировки секретирующих клеток и фор-

мированием альвеол. Об этом же говорит наличие местами довольно широкой соединительнотканной стромы, еще незамещенной альвеолами, а также скопления клеток жировой ткани и альвеолы с начальным этапом секреции молочного жира.

Исследования по изучению ультраструктуры молочной железы овцематок на первом месяце суягности показали, что в цитоплазме клеток обнаруживаются электронноплотные образования – рибосомы (белок синтезирующий аппарат) и в виде полисомы. На этом сроке суягности клетки синтезируют белковые компоненты для собственной нужды. Ядро ограничено узким перинуклеарным пространством и богато хроматином. В цитоплазме много митохондрий и лизосом. Хорошо выражены границы между клетками, наблюдаются связи между клетками по типу десмосом.

На втором месяце суягности выражена структура шероховатого и гладкого эндоплазматического ретикулума, много полирибосом. Часто встречаются круглые, набухшие митохондрии со слабо выраженными и беспорядочно расположенными кристами и четко выраженными двойными мембранами. В ядерном аппарате хорошо выражена двойная мембрана с периферическим скоплением хроматина. Пространство между мембранами ядерной оболочки узкое, равномерное. В соединительной ткани встречаются многочисленные, еще не функционирующие капилляры. В цитоплазме присутствуют многочисленные лизосомы, которые участвуют в начальной стадии реорганизации ткани молочной железы суягных овцематок.

Характерной особенностью первой половины суягности является то, что в цитоплазме клетки очень много свободных рибосом, набухших митохондрий, которые располагаются вокруг ядра, и наличие лизосом.

Начиная с третьего месяца суягности наблюдается дифференцировка тканей в молочной железе. Элементы стромы активно замещаются на секреторную ткань, в клетках которой электронноплотные и прозрачные включения, много рибосом. Параллельно с этим в органе дифференцируются миоэпителиальные клетки, в которых отмечается наличие многолопастного ядра с хорошо диспергированным хроматином.

На четвертом месяце суягности в клетках обнаруживалось большое овальное или неправильной формы - ядро, а в цитоплазме установлен хорошо выраженный шероховатый эндоплазматический ретикулум и множество полирибосом. Клетки плотно контактируют друг с другом. В апикальной зоне клеток встречались митохондрии различной формы.

К пятому месяцу суягности в наиболее дифференцированных эпителиальных клетках альвеол обнаруживалось формирование межклеточных контактов. В зоне замыкательного комплекса формировались фигуры контакта, часть ко-

того, оказываясь лишней, собиралась в концентрические канальцевые структуры.

Исследование молочной железы в конце суягности показало, что в цитоплазме большинства клеток накапливаются глобулы липидов различного размера. Можно предположить, что шарики жира служат стабилизирующим фактором при дифференциации эпителия. С другой стороны, жир является источником энергии, запас которого необходим при формировании в клетках баланса основных органоидов, на базе которых в дальнейшем протекают синтетические процессы. Известно, что в первых порциях молозива содержится большое количество жира, который выделяется после родов.

В конце суягности можно отметить снижение количества жировых включений и активацию энергетических процессов, о которых можно судить по состоянию митохондрий: они приобретают овально-округлую форму, просветленный матрикс и большое количество крист.

Морфометрический анализ гистологических препаратов тканей молочной железы нелактующих овцематок показал, что в строении преимущественное положение занимает соединительная ткань, которая составила $51,1 \pm 3,1\%$, малодифференцированные эпителиальные клетки – $34,5 \pm 2,05\%$ и жировые клетки – $15,3 \pm 1,7\%$ ($P < 0,01$) (график).

На первом и втором месяце суягности отсутствуют альвеолярные структуры. Характерной особенностью второго месяца оказалось почти двукратное увеличение площади, занятой жировыми клетками, по сравнению с данными, полученными в одномесечном сроке, это подтверждается результатами наших биохимических анализов ткани на втором месяце суягности, которые также показали почти двукратное увеличение общего жира и резкое возрастание содержания сухого остатка. Следовательно, на втором месяце суягности увеличение объема молочной железы идет за счет интенсивного накопления общего жира в виде жировых включений в липоцитах.

С третьего месяца резко уменьшается количество жировых клеток в молочной железе. В этот период обнаруживается микроскопически диффузное разрастание волокнистой соединительной ткани с крупными кровеносными сосудами вместо жировой ткани. По данным морфометрии установлено, что на третьем месяце суягности количество жировых клеток значительно меньше $9,2 \pm 1,2\%$, по сравнению со вторым месяцем $56,0 \pm 3,8$ ($P > 0,001$).

На четвертом месяце количество жировых клеток у суягных овцематок достоверно уменьшалось, по сравнению с нелактующими овцематками и колебалось в пределах $5,1 \pm 0,9\%$ ($P < 0,001$). Перед ягнением количество жировых клеток снижается до $2,0 \pm 0,3\%$.

Гистологически по мере развития суягности жировые клетки постепенно замещаются прослойками соединительной ткани. Количество соединительнот-

каных клеток к концу первого месяца достоверно снижается до $32,2 \pm 2,9\%$ по сравнению с контролем $51,1 \pm 3,12\%$ ($P < 0,001$).

На втором месяце суягности количество соединительнотканых клеток достоверно снижается на 23% в сравнении с контрольной группой овцематок.

Как показывают наши исследования, на четвертом месяце суягности разница соединительнотканых клеток между нелактующими и суягными овцематками составляет около $30,9\%$, это говорит о том, что идет активный процесс формирования альвеолярного комплекса молочной железы. Интересные данные получены нами при исследовании в сравнительном аспекте соединительнотканых клеток молочной железы нелактующих овцематок и овец пятимесячной суягности. Количество соединительнотканых клеток в конце суягности резко уменьшается и составляет $7,6 \pm 0,8\%$ ($P < 0,001$).

Исследования по определению динамики изменения малодифференцированных эпителиоцитов и формирующихся альвеол показали, что количество недифференцированных эпителиоцитов на первом месяце суягности по сравнению с контрольной группой достоверно увеличивается до $46,3 \pm 2,9\%$ ($P < 0,01$). Это говорит о том, что на месте соединительной ткани по мере развития суягности начинается интенсивная пролиферация эпителиоцитов галактофорных каналов. Эпителиоциты имеют мелкие и темно окрашенные ядра, клетки прилегают друг к другу, образуя скопления. Из скоплений начинается формирование трубочек, затем альвеолярных комплексов молочной железы.

В наших наблюдениях, начиная со второго месяца суягности, количество недифференцированных эпителиоцитов достоверно снижается и разница между суягными и нелактующими животными составляет $14,4\%$ ($P < 0,001$). Перед ягнением количество недифференцированных эпителиоцитов доходит до $2,4 \pm 0,2\%$, т.е. формирование альвеолярного комплекса в основном завершается, за исключением 2% малодифференцированных клеток, дифференцировка которых осуществляется в ходе лактации.

Морфометрический анализ гистологических препаратов показал, что с третьего месяца суягности четко выражены альвеолярные структуры, которые занимают $55,0 \pm 4,6\%$.

По мере приближения срока ягнения ткань молочной железы почти полностью замещается альвеолами, среди которых изредка встречаются жировые клетки до $2,0 \pm 0,2\%$, соединительнотканые клетки до $7,7 \pm 0,83\%$ и малодифференцированные эпителиоциты до $2,4 \pm 0,2\%$. Количество альвеол на пятом месяце суягности составляет $89,1 \pm 0,4\%$ (график).

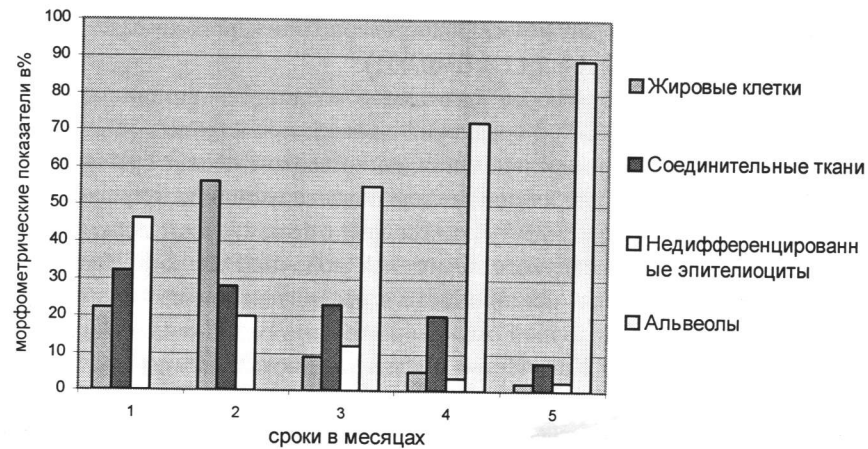


График. Морфометрическая характеристика молочной железы овцематок в различные сроки суягности

Протеолитические ферменты тканей молочной железы. Нами проведены исследования по определению активности протеолитических ферментов и их ингибиторов, а также содержания общего белка, жира, сухих веществ в тканях молочной железы суягных овцематок (табл. 1).

Таблица 1

Изменение активности протеолитических ферментов в тканях молочной железы суягных овцематок (P – относительно 1 месяца суягности)

Сроки суягности (в месяцах)	Кислая протеиназа, млэкв. тир. в час / г белка			Ингибитор трипсина, ИЕ / г белка			Кислая фосфатаза, нкат / г белка		
	M±m	n	P	M±m	n	P	M±m	n	P
1	0,29±0,04	9	–	111,5±14,2	9	–	2,44±0,88	3	–
2	0,28±0,04	9	< 0,05	187,5±30,0	9	< 0,02	0,94±0,08	9	< 0,01
3	0,40±0,02	11	< 0,02	163,8±16,1	11	< 0,02	1,00±0,21	11	< 0,05
4	0,49±0,03	11	< 0,01	139,4±14,0	11	> 0,2	0,89±0,17	11	< 0,05
5	0,30±0,04	8	< 0,05	72,1±11,0	8	< 0,02	1,49±0,25	8	< 0,01

Из данных, изложенных в таблице видно, что самый высокий уровень активности кислой фосфатазы (маркерного фермента лизосом) в молочной железе суягных овцематок отмечен в одномесячном сроке суягности ($2,44 \pm 0,88$

нкат/г белка), то есть тогда, когда орган состоит из многочисленных жировых клеток. В последующие сроки суягности овцематок 2, 3 и 4 месяца, то есть тогда, когда идет активный процесс формирования железистой паренхимы, уровень активности кислой фосфатазы в молочной железе резко снижено по сравнению с уровнем ее активности, отмеченным в одномесячном сроке, и находится в пределах $0,89 \pm 0,17 - 1,00 \pm 0,23$ нкат/г белка ($P < 0,01$).

К конечному сроку суягности активность кислой фосфатазы несколько повышается и составляет $1,49 \pm 0,25$ нкат/г белка, что, видимо, связано с деструкцией частицы эпителиальных клеток в завершающей стадии формирования альвеолярных комплексов.

Активности кислой протеиназы в молочной железе в течение первых двух месяцев суягности и в конце суягности находятся почти на одном уровне ($0,29 \pm 0,04 - 0,30 \pm 0,04$ мл экв. тир. в час/г белка, $P < 0,05$). В трех- и четырехмесячном сроках суягности овцематок показатель уровня активности этого фермента в молочной железе значительно превосходит уровень, который был отмечен в начальных сроках и конце суягности. Следовательно, самая высокая активность протеолитических ферментов в молочной железе имеет место в период активной замены жировой ткани соединительнотканной стромой и становления железистой паренхимы в процессе дифференцировки.

Следовательно, есть веские основания считать, что кислые протеиназы играют важную роль в пролиферации, дифференцировке эпителиальных клеток и формировании альвеолярного комплекса молочной железы овец. Количество ингибитора трипсина в ткани молочной железы в ходе суягности меняется, отражая сложные метаболические процессы, происходящие при дифференцировке секреторных клеток. Самый низкий уровень активности этого фермента наблюдается на 5-ом месяце суягности – перед ягнением ($72,1 \pm 11,0$ ИЕ/г белка). В тканях молочной железы в одномесячном сроке суягности его активность выше, чем в предродовой период (1 месяц: $111,5 \pm 14,2$ ИЕ/г белка, 5-ти месяцев: $72,1 \pm 11,0$ ИЕ/г белка, $P < 0,02$). В 2-х месячном сроке суягности наблюдается максимальное увеличение активности фермента ($187,5 \pm 30,0$ ИЕ/г белка, $P < 0,02$). В трех- месячном сроке суягности его активность падает до $163,8 \pm 16,1$ ИЕ/г белка ($P < 0,001$). На четвертом месяце суягности она продолжает снижаться до $139,4 \pm 14,0$ ИЕ/г белка ($P < 0,001$), но почти в два раза больше активности трипсина по сравнению с пятимесячным сроком суягности. Такой довольно высокий уровень активности ингибитора трипсина, особенно во втором и третьем месяце суягности, свидетельствует о важной роли этого фермента в процессах дифференцировки секреторных клеток молочной железы овцематок.

Эти результаты свидетельствуют о том, что лизосомальный комплекс и ингибитор трипсина тканей молочной железы овец принимает активное уча-

ствие в формировании железистой паренхимы органа, определяя лактационную функцию органа.

Результаты исследования показали, что содержание сухих веществ в тканях молочной железы овец в различные сроки суягности колеблется в пределах $26 \pm 1,6 - 34,3 \pm 4,0$ г %, косвенно отражая характер течения метаболических процессов. Содержание сухих веществ в 2-х месячном сроке увеличивается ($34,3 \pm 4,0$ г %) по сравнению с месячным сроком суягности ($27,9 \pm 1,7$ г %). Затем идет некоторое снижение показателей ($26,0 \pm 1,6$ г %), и к пятимесячному сроку суягности количество сухих веществ возрастает до $33,1 \pm 2,6$ г % ($P > 0,1$) (табл.2).

Таблица 2

Содержание общего белка, жира и сухих веществ в тканях молочной железы суягных овцематок (P – относительно 1-го месяца суягности)

Сроки суягности (в месяцах)	Общий белок, г%			Жир, г%			Сухой остаток, г%		
	M±m	n	P	M±m	n	P	M±m	n	P<
1	14,9±0,5	9	–	8,9±1,6	9	–	27,9±1,7	9	–
2	13,9±1,3	9	>0,5	16,5±4,8	9	>0,1	34,3±4,0	9	>0,1
3	12,6±0,4	11	<0,01	11,8±2,2	11	>0,2	28,7±2,1	11	>0,5
4	11,9±0,2	11	<0,01	10,2±1,5	11	>0,5	26,0±1,6	11	>0,2
5	16,5±1,6	8	>0,5	11,7±0,89	8	>0,1	33,1±2,6	8	>0,1

Сопоставление этих данных с данными биохимических исследований на содержание жира и общего белка в молочной железе позволяет говорить, что увеличение содержания сухих веществ в тканях молочной железе в начале суягности происходит в основном, за счет усиленного накопления общего жира в ней ($8,9 \pm 1,6$ г %-месячный срок; $16,5 \pm 4,8$ г % в двухмесячный срок). Это подтверждается гистологическими исследованиями.

При этом количество общего белка подвергается незначительному изменению до четырехмесячного срока ($11,9 \pm 0,2$ г %). В пятимесячном сроке суягности кривая содержания сухого вещества заметно поднимается за счет повышения содержания общего белка ($16,5 \pm 1,2$ г %, $P < 0,05$).

ВЫВОДЫ

1. В результате гистологических исследований установлено, что в первые два месяца суягности увеличение массы молочной железы овцематок кыргызской тонкорунной породы происходит за счет активного накопления жировой ткани.

2. На основании электронно-микроскопических исследований установлено, что дифференцировка тканей альвеолярного комплекса в молочной железе овцематок кыргызской тонкорунной породы начинается с третьего месяца суягности.

3. Первые морфологические признаки секреторной активности в альвеолярных полостях среди скоплений эпителия у овцематок кыргызской тонкорунной породы обнаруживаются в начале четвертого месяца суягности.

4. Морфометрический анализ гистологических препаратов показал, что ткань молочной железы овцематок в конце суягности полностью замещается альвеолами, за исключением 2%.

5. Протеолитические ферменты в тканях молочной железы овцематок с начальных сроков суягности активно участвуют в резорбции жировых клеток, а в конце суягности – в удалении погибших клеток из полости альвеол.

ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

1. Основные положения диссертационной работы включены в рекомендации “Формирование иммунологического статуса у ягнят, одобренные кафедрой терапии и фармакологии Кырг.СХИ им К.И.Скрябина (протокол 7 от 16.05.1991г.), “Изучение лактации овец кыргызской тонкорунной породы”, одобренные кафедрой внутренних незаразных болезней животных Кырг. СХИ им. К.И.Скрябина (протокол 4 от 12.03.1995г.) и “Рекомендации по экспресс методам определения иммуноглобулинов в крови и молозиве коров и овец”, одобренные Ученым Советом Института биохимии и физиологии НАН КР (протокол 9 от 26.11.1994г.).

2. Результаты исследований могут быть использованы при написании соответствующих разделов учебников и учебных пособий по патологической анатомии, гистологии, эмбриологии, цитологии и физиологии сельскохозяйственных вузов.

3. Полученные данные используются в учебном процессе факультетов ветеринарной медицины Кыргызского аграрного университета им. К.И.Скрябина и Казахского государственного аграрного университета.

**СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ
ПО ДИССЕРТАЦИИ**

1. Дранишникова Л.М., Заровняя З.И., Ногойбаева Р.С. Изменение активности протеолитических ферментов молочной железы в период становления лактации // VII Всесоюз. симпоз. по физиологии и биохимии лактации: Тез. докл.-М., 1986. - Ч.1.-С.55-56.
2. Ногойбаева Р.С. Изменение активности некоторых ферментов ткани молочной железы овец в период ее развития //Мат. IX Междунар. респ. науч.конф. - Фрунзе, 1988. - С.194-196.
3. Дранишникова Л.М., Ногойбаева Р.С. Изменение активности ингибитора трипсина при формировании секреторной функции молочной железы овец // VIII VII Всесоюз. симпоз. по физиологии и биохимии лактации, посвящ.100-летию со дня рождения проф.Г.И.Азимова: Тез. докл. - М., 1990. - Ч.2.-С.43-44.
4. Ногойбаева Р.С., Уракунова К., Мурсакулова С. Некоторые особенности метаболизма ткани вымени овец в различные периоды суягности // VIII Всесоюз. симпоз.по физиологии и биохимии лактации, посвящ.100-летию со дня рождения,проф.Г.И.Азимова: Тез. докл.- М.,1990. - Ч.2. - С.44-46.
5. Рекомендации по экспресс-методам определения иммуноглобулинов в крови и молозиве коров и овец / Чекиров Т., Сухарукова Т.Ф., Валуйский П.П. и др. // НАН Кырг.Респ.-Бишкек: Б.и.,1995. - 10 с.
- 6.Формирование иммунологического статуса у ягнят /Ногойбаев М.Д, Чекиров Т., Сухарукова Т.Ф. и др. // Метод. рекомендации для студентов ветерин. фак. - Бишкек: Б.и., 1991. - 30 с.
7. Изучение лактации овец Кыргызской тонкорунной породы / Ногойбаев М.Д., Чекиров Т., Уракунова К. и др.)// Научно-метод.рекомендации для аспирантов и зооветеринарных факультетов. - Бишкек, 1995. - 17 с.
8. Ногойбаева Р.С. Изменение активности протеолитических ферментов молочной железы овец в различные периоды суягности // Мат. юбил. конф. посвящ. 90-летию со дня рожд. акад. М.Н.Лушихина. - Бишкек, 1997. - С.270-272.
9. Чекиров Т., Ногойбаева Р.С. Роль протеолитических ферментов в дифференцировке секреторных клеток вымени овец // Биотехнология. Теория и практика. - Алматы, 1998. - №1-2. - С.153.
10. Ногойбаева Р.С., Ногойбаев М.Д. Макро и ультраструктура клеток молочной железы овец в различные периоды суягности // Мат. юбил. конф., посвящ. 80-летию со дня рожд. проф. В.М.Митрофанова. - Бишкек, 1999. - С.50-53.
11. Ногойбаева Р.С., Иглманов У.И., Ногойбаев М.Д. Изучение в сравнительном аспекте морфогенеза и метаболизма молочной железы суягных овцематок // Сб. тр. межвед.-практ.науч. конф., посвящ. 50-летию со дня основания

Жайылской зон. гос.вет.лаб. - Кара-Балта, 2001. - С.447-450.

12. Ногойбаева Р.С., Иглманов У.И. Морфофункциональная характеристика молочной железы суягных овцематок // Сб. тр. межвед.-практ. науч. конф., посвящ. 50-летию со дня основания Жайылской зональной гос.вет.лаб. - Кара-Балта, 2001. - С.454-458.
13. Ногойбаева Р.С. Морфометрические изменения молочной железы овцематок в ходе суягности // Сб.тр.межвед.-практ.науч.конф., посвящ. 50-летию со дня основания Жайылской зон. гос.вет.лаб. - Кара-Балта, 2001. - С.350-353.
14. Ногойбаева Р.С., Чекиров Т.Ч., Корчубекова Т.А. Роль некоторых ферментов в дифференцировке секреторных клеток вымени овец // Мат. науч.-метод. конф. «Проблемы повышения продуктивности сельскохозяйственных животных и растений с использованием методов биотехнологии в условиях высокогорья», посвящ. 100 летию со дня рожд. акад. А.А. Волковой и Н.И. Захарьева. - Бишкек, 2002.- С. 198-201.
15. Ультраструктурная цитофизиология вымени лактирующих овец / Чекиров Т.Ч., Уракунова К., Корчубекова Т.А., Ногойбаева Р.С. // Мат. науч.-метод. конф. «Проблемы повышения продуктивности сельскохозяйственных животных и растений с использованием методов биотехнологии в условиях высокогорья», посвящ. 100 летию со дня рожд. акад. А.А. Волковой и Н.И. Захарьева. - Бишкек, 2002. - С. 260-264.
16. Некоторые особенности лактации овец кыргызской тонкорунной породы / Чекиров Т.Ч., Уракунова К., Корчубекова Т.А., Ногойбаева Р.С. // Мат. науч.-метод. конф. «Проблемы повышения продуктивности сельскохозяйственных животных и растений с использованием методов биотехнологии в условиях высокогорья», посвящ. 100 летию со дня рожд. акад. А.А. Волковой и Н.И. Захарьева. - Бишкек, 2002. - С.264-268.
17. О зависимости молочной секреции овец от развития емкостной системы вымени и количество остаточного молока/ Чекиров Т.Ч., Уракунова К., Корчубекова Т.А., Ногойбаева Р.С. // Мат. науч.-метод. конф. «Проблемы повышения продуктивности сельскохозяйственных животных и растений с использованием методов биотехнологии в условиях высокогорья», посвящ. 100 летию со дня рожд. акад. А.А. Волковой и Н.И. Захарьева. - Бишкек, 2002.- С.269-272.

РЕЗЮМЕ

диссертации Ногойбаевой Раисы Сардаевны на тему «Морфо-функциональное становление молочной железы суягных овцематок кыргызской тонкорунной породы» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 03.00.13 – физиологии и 16.00.02 – патология, онкология и морфология животных

Ключевые слова: молочная железа, овцы, кыргызская тонкорунная порода, фермент, нелактующий, суягная, морфо-функциональное, ультраструктура.

Объект исследования: ткани молочной железы нелактующих и суягных овцематок кыргызской тонкорунной породы.

Цель работы: изучение в динамике морфо-функциональной дифференцировки тканей молочной железы суягных овцематок кыргызской тонкорунной породы на светооптическом и ультраструктурном уровнях.

Методы исследования: биохимические, гистологические и электронно-микроскопические, морфометрические.

Подробно описано морфо-функциональное становление тканей молочной железы нелактующих и суягных овцематок в сравнительном аспекте. Выяснена физиологическая роль ряда протеолитических ферментов и биохимических показателей в дифференцировке тканей молочной железы овцематок в период суягности. Дана морфометрическая характеристика молочной железы нелактующих и суягных овцематок в различные сроки суягности.

Полученные результаты могут быть использованы в селекционной работе, направленной на повышение молочной продуктивности животных и в учебном процессе соответствующих дисциплин.

Область применения: анатомия, гистология, эмбриология, цитология и физиология сельскохозяйственных животных.

Ногойбаева Раиса Сардаевнанын биология илиминин кандидаты деген даражаны, адистиги 03.00.13 – физиология, 16.00.02 – малдардын патологиясы, онкологиясы жана морфологиясы, жактоо учун «Кыргыз уян жундуу бооз койдун желининин морфо-функционалдык калыптануусу» деген темада жызылган диссертациясынын

КЫСКАЧА МАЗМУУНУ

Туйундуу создор: желин, кыргыз уян жуундуу парода, кой, фермент, байыган, бооз, морфофункционалдык, ультраструктура.

Изилдоонун объектиси катары дени-соо кыргыз уян жундуу бооз жана субай койдун желини алынды.

Жумуштун максаты – кыргыз уян жундуу бооз жана субай койдун желининин динамикалык морфологиясын жарык оптикалык жана ультраструктуралык денгээлде изилдоого арналган.

Изилдоонун гистологиялык, биохимикалык, электрондук микроскопия жана морфометриялык ыкмалары колдонулду.

Бооз жана субай койдун желининин морфо- функционалдык калыптануусун салыштыруу аспектинде кенири жазылган. Бооз койдун желин тканынын дифференцировкасында, кээ бир протеолитикалык ферменттердин жана биохимиялык корсоткучтордун ролу аныкталган. Субай жана бооз койдун желининин морфометриялык муноздомосу бооздук мезгилине жараша берилген.

Алынган маалыматтар селекциондук иште жана окуу процессинде колдонулат.

Колдонуу тармагы: малдын анатомиясы, гистологиясы, эмбриологиясы жана физиологиясы.

RESUME

Dissertation of Mrs. Nogoibaeva Raisa Sardeevna on the subject “Morphological functional formation of lactic gland of pregnant ewes of Kyrgyz thin wool breed” for academic degree of candidate of biological sciences. Specialization 03.00.13 – physiology, 16.00.02-pathology, oncology and animals morphology

Key words: mammary gland, ewes, Kyrgyz thin wool breed, enzyme, non-lactic, pregnant, morphological, functional, ultrastructure.

Tissues of mammary gland of non-lactic and pregnant ewes of Kyrgyz thin wool breed as investigation objects.

The purpose of this dissertation work was study in dynamics of morphological functional differentiation of lactic gland of pregnant ewes of Kyrgyz thin wool breed at light optical and ultrastructural levels.

Biochemical, histological and electronic microscopic, morphometric investigation methods were applied.

In detail morphological functional formation of lactic gland of inpregnant and pregnant ewes in comparative aspects, was described.

The role of some proteolytical enzymes and biochemical indices in differentiation of tissues of ewes lactic gland during period of pregnancy was elucidated. The morphometric characteristic of lactic gland of inpregnant and pregnant ewes in different periods of pregnancy was given.

Obtained results may be used in selection work, directed to increase of lactic productivity animals and in studying process of respective disciplines.

Range of use: anatomy, histology, embryology, cytology, physiology of agricultural animals.

