

*На правах рукописи*



ДАННИКОВ СЕРГЕЙ ПЕТРОВИЧ

**МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ КРОВИ  
И ПАРЕНХИМАТОЗНЫХ ОРГАНОВ НУТРИЙ  
В ПОСТНАТАЛЬНОМ ОНТОГЕНЕЗЕ**

06.02.01 – Диагностика болезней и терапия животных,  
патология, онкология и морфология животных  
03.03.01 – Физиология

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
доктора биологических наук

Ставрополь – 2022

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Ставропольский государственный аграрный университет» (ФГБОУ ВО Ставропольский ГАУ)

**Научные консультанты:** доктор сельскохозяйственных наук, профессор, доктор экономических наук, профессор, Академик РАН, Заслуженный деятель науки РФ **Трухачев Владимир Иванович**  
доктор биологических наук, профессор РАН, профессор **Квочко Андрей Николаевич**

**Официальные оппоненты:** **Балакирев Николай Александрович**, доктор сельскохозяйственных наук, профессор, Академик РАН, Заслуженный деятель науки РФ, ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К. И. Скрябина», заведующий кафедрой частной зоотехнии

**Илюха Виктор Александрович**, доктор биологических наук, доцент, Институт биологии – обособленное подразделение ФГБУН ФИЦ «Карельский научный центр Российской академии наук», директор, главный научный сотрудник лаборатории экологической физиологии животных

**Ежков Владимир Олегович**, доктор ветеринарных наук, профессор, «Татарский научно-исследовательский институт агрохимии и почвоведения» – обособленное структурное подразделение ФГБУН ФИЦ «Казанский научный центр Российской академии наук», главный научный сотрудник, заведующий отделом разработки био-, нанотехнологий в земледелии и животноводстве

**Ведущая организация:** ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт охотничьего хозяйства и звероводства имени профессора Б. М. Житкова»

Защита состоится 04 июля 2022 г. в 10 часов 00 минут на заседании диссертационного совета Д 220.062.02 на базе ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет» по адресу: 355035, г. Ставрополь, пер. Зоотехнический, 12, тел/факс: 8(8652)71-58-15, e-mail: ydiash@mail.ru.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет».

Автореферат разослан «\_\_\_» апреля 2022 г. и размещен на сайтах: ВАК Министерства науки и высшего образования РФ <http://www.vak.minobrnauki.gov.ru> «\_\_\_» апреля 2022 г.; ФГБОУ ВО «Ставропольский ГАУ» <https://www.stgau.ru> «\_\_\_» апреля 2022 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета



Дьяченко Юлия Васильевна

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы и степень ее разработанности.** Онтогенез – сложная, генетически программируемая последовательность преобразований и изменений в живом организме с момента оплодотворения до смерти. Всестороннее изучение механизмов и особенностей онтогенетических преобразований организмов создает теоретическую и практическую базу для целенаправленного воздействия на биологические процессы на всех уровнях организации жизни и согласно Распоряжению Правительства РФ от 31 декабря 2020 г. № 3684-р, входит программу фундаментальных научных исследований в Российской Федерации на долгосрочный период.

Каждый организм того или иного вида животного по-своему уникален и имеет определенные закономерности механизмов и регуляции онтогенеза, формирующие критические этапы развития, во время которых организм становится наиболее уязвим к ряду эндо- и экзогенных факторов. Комплексный подход к всестороннему изучению биологии развития у разных видов животных является основой для контроля их здоровья, продуктивности и популяции (Л. П. Тельцов, А. А. Степочкин, И. Г. Музыка, 2010; Л. П. Тельцов, Е. О. Михайлевская, И. Г. Музыка, 2011; Л. П. Тельцов, А. С. Зенкин, Э. В. Родина, 2018).

В то же время непосредственное управление морфогенезом тканей осуществляют клетки, которые должны действовать координированно, совершенно иначе, чем отдельные клетки *in vitro*, реализуя все необходимые виды клеточного поведения, таких как рост, деление, миграция и апоптоз (Y. Mao, J. V. Green, 2017).

Паренхиматозные органы млекопитающих, участвующие в центральных механизмах обмена веществ, в числе которых сердце, легкие, печень, почки, поджелудочная железа и другие органы, имеют ряд тесных связей и взаимовлияний на свои функции, структуру и развитие, демонстрируя, таким образом, важность их параллельного изучения на различных этапах онтогенеза (Д. А. Арешидзе, Л. Д. Тимченко, 2009; К. А. Анисимова, 2020; K. Verhoeff, J. R. Mitchell, 2017; T. Kotsis, C. Nastos, K. Stamatis, 2020; M. Markel et al., 2020), в том числе с сопоставлением с показателями состава и свойств крови, во многом отражающих функциональное состояние внутренних органов и гомеостаза организма в целом (А. Н. Квочко, 2002; А. А. Минькова, 2003).

Изучение любого вида животного начинается с фундаментальных вопросов его морфологии и физиологии, дающих основу для понимания и научно обоснованного применения знаний прикладного характера.

Нутрии (*Myocastor coypus*) распространены по всему миру, за исключением Австралии и Антарктиды, являясь в одних странах ценным объектом животноводства, а в других – интродуцированным инвазивным видом, наносящим огромный ущерб экосистемам и сельскому хозяйству (J. Carter, B. P. Leonard, 2002; M. L. Guichon, C. P. Doncaster, M. H. Cassini, 2003; S. Bertolino, R. Viterbi, 2010; A. Farashi, M. S. Najafabadi, 2017;

I. R. Kim et al., 2019), в связи с чем поиск решений по контролю распространения нутрий во всем мире набирает актуальность (K. Klima, S. E. Travis, 2012; Y. S. Jo, J. J. Derbridge, J. T. Vaccus, 2017; S. Hong et al., 2020; A. Schertler et al., 2020).

В России и странах ближнего зарубежья нутриеводство остается перспективной отраслью звероводства, представляющей население диетическое мясо и ценный мех (Н. А. Балакирев, В. Ф. Кладовщиков, 2002; И. М. Луппова, 2006; О. С. Павленко, 2015; Т. В. Калюжная, 2018; А. Saadoun, M. C. Cabrera, 2019). Эта отрасль также может выступать в качестве альтернативного источника производства мясных продуктов (Е. Е. Курчаева с соавт., 2013; В. П. Ангелюк, И. С. Быстрова, Н. В. Горбунова, 2014). Однако нутрии на сегодняшний день остаются одним из самых малоизученных видов зверей, что подтверждается фрагментарными сведениями в научной, учебной и справочной литературе, отражающих их биологическую характеристику.

Исходя из вышеизложенного следует, что изучение особенностей и закономерностей постнатального онтогенеза паренхиматозных органов и крови нутрий является актуальным направлением исследований не только в России, но и во всем мире.

**Цель исследования:** изучить морфофункциональные особенности крови и паренхиматозных органов у самок и самцов нутрий в постнатальном онтогенезе.

**Задачи исследования:**

1. Описать гематологические параметры и биохимические показатели сыворотки крови самок и самцов нутрий в постнатальном онтогенезе.

2. Изучить синхронность изменения активности областей ядрышковых организаторов в лимфоцитах и клетках паренхиматозных органов самок и самцов нутрий в различные возрастные периоды.

3. Выяснить особенности постнатального морфогенеза сердца, легких, печени, почек и поджелудочной железы нутрий разных половозрастных групп.

4. Определить содержание суммарного белка и ядерной ДНК в клетках паренхиматозных органов нутрий в постнатальном онтогенезе.

5. Разработать способ количественной оценки нуклеолина в гистологических препаратах и дать характеристику его экспрессии в клетках паренхиматозных органов самок и самцов нутрий разного возраста.

**Объект исследований:** клинически здоровые нутрии клеточного содержания разных половозрастных групп.

**Предмет исследований:** гематологический статус, биохимический профиль сыворотки крови и морфофункциональные показатели сердца, легких, печени, почек и поджелудочной железы самцов и самок нутрий в постнатальном онтогенезе.

**Научная новизна.** Получены новые расширенные сведения о гематологических параметрах, в том числе интегральных лейкоцитарных индексах, а также биохимических показателях сыворотки крови самок

и самцов нутрий в постнатальном онтогенезе, которые могут быть использованы в качестве референсных величин в научной и практической деятельности специалистов биологического профиля.

Представлены и систематизированы данные о специфике постнатального морфогенеза сердца, легких, печени, почек и поджелудочной железы нутрий с учетом их половой принадлежности и критических периодов онтогенеза, что вносит существенный вклад в понимание морфологии полуводных грызунов. Впервые представлены сведения по содержанию суммарного белка и ядерной ДНК в клетках паренхиматозных органов нутрий в постнатальном онтогенезе. Впервые описаны параметры активности областей ядрышковых организаторов в лимфоцитах, кардиомиоцитах, клетках легочных альвеол, гепатоцитах, клетках структур почек, а также экзокринных панкреатоцитах и инсулоцитах нутрий с учетом пола и возраста. Разработан способ окраски мазков крови для микроскопического определения структурной организации и фаз активности клеток (Патент РФ № 2550879 от 20.05.2015; Евразийский патент № 026081 от 28.02.2017). Предложен способ количественной оценки уровня экспрессии нуклеолина в гистологических препаратах, на основании которого описана половозрастная динамика его экспрессии и характер распределения в клетках паренхиматозных органов нутрий. Проведенные исследования значительно расширяют познание видовых особенностей данного представителя животного мира, в том числе и в сравнительно-эволюционном аспекте, а также позволят проанализировать уязвимые этапы постнатального развития организма нутрий и спрогнозировать их своевременную коррекцию.

**Теоретическая и практическая значимость работы.** Результаты исследований значительно расширят сведения о закономерностях, последовательности и периодизации постнатального онтогенеза нутрий. Морфофункциональные показатели крови и паренхиматозных органов нутрий могут использоваться зооинженерами и ветеринарными специалистами в качестве референсных величин при оценке состояния здоровья, а также дают основание для прогнозирования различных форм патологий у этого вида животных. Полученные данные по параметрам внутриклеточного метаболизма лимфоцитов и клеток паренхиматозных органов нутрий позволят глубже понять специфику их функционального состояния в постнатальном онтогенезе с учетом критических периодов развития. Результаты исследования могут быть использованы в научных целях, при составлении учебных и справочных пособий, чтении лекций и проведении занятий по морфологии, биологии развития, физиологии и клинической диагностике в учебных заведениях биологического и ветеринарного профиля. Получен патент РФ на изобретение (№ 2014112496/05 от 31.03.2014) и Евразийский патент (№ 026081 от 28.02.2017) «Способ окраски мазков крови для микроскопического определения структурной организации и фаз активности клеток», а также подана заявка на выдачу патента РФ на изобретение (№ 2021120836 от 15.07.2021) «Способ коли-

чественной оценки уровня экспрессии белка С23/нуклеолина в гистологических препаратах».

**Методология и методы исследования.** Методологической основой проведенных научных исследований является анализ отечественной и зарубежной литературы, позволивший определить актуальность и новизну темы диссертационной работы, а также комплексный подход с научно обоснованным применением гематологических, биохимических, гистологических, гистохимических и иммуногистохимических методов исследования, что позволило получить новые фундаментальные сведения в области морфологии, физиологии и биологии развития нутрий.

**Основные положения, выносимые на защиту:**

1. Гематологические параметры и биохимические показатели сыворотки крови нутрий в постнатальном онтогенезе проявляют выраженную гетерохронность.

2. Постнатальный морфогенез паренхиматозных органов нутрий зависит от половой принадлежности и обусловлен их видовыми особенностями.

3. Предложенный способ количественной оценки экспрессии белка С23/нуклеолина в гистологических препаратах, объективно отражает его характер содержания и половозрастную динамику в сердце, легких, печени, почках и поджелудочной железе.

4. Метаболическая активность клеток паренхиматозных органов нутрий, оцененная по параметрам активности ядрышковых организаторов, содержания суммарного белка, ДНК и нуклеолина отражает характер половозрастных морфофункциональных изменений на различных уровнях организации организма нутрий.

**Степень достоверности и апробация результатов.** Достоверность результатов проведенных исследований основана на достаточном количестве клинически здоровых животных, находящихся в эксперименте, а также на применении современных методов гематологических, биохимических, гистологических, гистохимических и иммуногистохимических исследований, выполненных на сертифицированном оборудовании с последующей статистической обработкой и анализом полученных данных.

Результаты научных исследований вошли в отчеты по научно-исследовательской работе ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет» за 2013–2021 г. Основные положения диссертации доложены, обсуждены и получили положительную оценку на Международной научно-практической конференции «Актуальные вопросы формирования и развития научного пространства» (г. Калининград, 3 августа 2017 г.), 19-й Международной научно-методической конференции по патологической анатомии животных «Актуальные вопросы патологии, морфологии и терапии животных» (г. Ставрополь, 20–22 сентября 2017 г.), XIII Международной научно-практической конференции «Агропромышленный комплекс: состояние, проблемы, перспективы» (г. Пенза, 27–28 ноября 2017 г.), VI Международной конференции «Ин-

новационные разработки молодых учёных – развитию агропромышленного комплекса» (г. Ставрополь, 27–28 сентября 2018 г.), Международной научно-практической конференции «Современные проблемы радиобиологии, агроэкологии, клинической и экспериментальной ветеринарной хирургии», посвящённой 90-летию со дня рождения академика РАСХН Алексея Дмитриевича Белова, первого президента МАОО (г. Москва, 18–20 октября 2018 г.), 86-й Международной научно-практической конференции «Аграрная наука – Северо-Кавказскому федеральному округу» (г. Ставрополь, 15 мая 2021 г.), Всероссийской (Национальной) научно-практической конференции «Морфология в XXI веке: теория, методология, практика» (г. Москва, 01–04 июня 2021 г.), II Всероссийской (Национальной) научно-практической конференции «АПК России: образование, наука, производство» (г. Саратов, 28–29 сентября 2021 г.), Международной научно-практической конференции «Инновационное развитие АПК: проблемы и перспективы кадрового обеспечения отрасли и внедрения достижений аграрной науки» (г. Махачкала, 30 сентября 2021 г.), Национальной научно-практической конференции «Актуальные вопросы аграрной науки» (г. Ульяновск, 20–21 октября 2021 г.), Международной научно-практической конференции «Современные вызовы для биотехнологии, ветеринарии и медицины в период пандемии COVID-19», посвященной 30-летию независимости Казахстана (п. Гвардейский, Казахстан, 14 декабря 2021 г.). Материалы диссертации вошли в монографию «Клинико-лабораторные показатели нутрий в постнатальном онтогенезе», рекомендованную к печати Научно-методическим советом при Федеральном учебно-методическом объединении по укрупненной группе специальностей и направлений подготовки высшего образования «Ветеринария и зоотехния», в методические рекомендации «Экспрессия нуклеолина в клетках паренхиматозных органов нутрий», рекомендованные к печати Научно-методическим советом при Федеральном учебно-методическом объединении по укрупненной группе специальностей и направлению подготовки высшего образования «Ветеринария и зоотехния» (протокол № 47 от 8 ноября 2021 г.) и комиссией научно-технического совета секции животноводства Министерства сельского хозяйства Ставропольского края (протокол № 3 от 24 декабря 2021 г.), а также в методические рекомендации «Оценка экспрессии нуклеолина в клетках структур почек нутрий», рекомендованные к изданию комиссией научно-технического совета секции животноводства Министерства сельского хозяйства Ставропольского края (протокол № 3 от 24 декабря 2021 г.).

Материалы исследований используются в учебном процессе и научных исследованиях в ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет», ФГБОУ ВО Российский государственный аграрный университет – МСХА им. К. А. Тимирязева», ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К. И. Скрябина», ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветери-

нарной медицины», ФГБОУ ВО «Саратовский государственный аграрный университет имени Н. И. Вавилова», ФГБОУ ВО «Брянский государственный аграрный университет», ФГБОУ ВО «Алтайский государственный аграрный университет», ФГБОУ ВО «Красноярский государственный аграрный университет», ФГБОУ ВО «Воронежский государственный аграрный университет имени императора Петра I», ФГБОУ ВО «Башкирский государственный аграрный университет», ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный аграрный университет», ФГБОУ ВО «Иркутский государственный аграрный университет имени А. А. Ежевского», ФГБОУ ВО «Мичуринский государственный аграрный университет», ФГБОУ ВО Белгородский государственный аграрный университет имени В. Я. Горина. Материалы исследований внедрены и используются как справочный материал ветеринарных специалистов в ФГБУ «Северо-Кавказская межрегиональная ветеринарная лаборатория», ГБУ СК «Ставропольская краевая ветеринарная лаборатория», ГБУ «Кропоткинская краевая ветеринарная лаборатория», ГКУ СК «Ставропольская краевая станция по борьбе с болезнями животных и учреждений подведомственных ГКУ «Управление ветеринарии Карачаево-Черкесской Республики».

**Личный вклад соискателя.** Постановка научной проблемы, формулирование цели и задач, обзор литературы, разработка дизайна, проведение и анализ результатов исследований выполнены лично автором. В ходе работы проведены гематологические, биохимические, гистологические, гистохимические, иммуногистохимические и морфологические исследования, а также статистическая обработка полученных числовых результатов. Доля участия соискателя при выполнении диссертации составляет 95 %.

**Публикации.** По материалам исследований опубликовано 33 научные работы, в которых отражены основные положения и выводы по теме диссертации, в том числе: 16 статей в изданиях, включенных в Перечень российских рецензируемых научных журналов и изданий для опубликования основных научных результатов диссертаций («Вестник Саратовского госагроуниверситета им. Н. И. Вавилова», «Кролиководство и звероводство», «Ветеринария и кормление», «Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии», «Научная жизнь», «Ветеринария, зоотехния и биотехнология», «Аграрная Россия», «Известия Оренбургского государственного аграрного университета», «Известия Международной академии аграрного образования», «Проблемы биологии продуктивных животных», «Вестник КрасГАУ», «Ветеринарная патология», «Международный вестник ветеринарии», «Вестник АПК Ставрополя»), из них 2 входят в базу данных RSCI WoS (Russian Science Citation Index на платформе Web of Science); 2 статьи опубликованы в научных изданиях, индексируемых в международных базах данных Scopus, Web of Science; 10 научных работ в трудах и материалах всероссийских (национальных) и международных научно-практических конференций; изданы 1 монография и 2 единицы методических рекомендаций; получен патент РФ на изобретение (№ 2550879 от 20.05.2015) и Евразийский патент на изобре-



тение (№ 026081 от 28.02.2017). Подана заявка на выдачу патента РФ на изобретение (Заявка: 2021120836 от 15.07.2021).

**Объем и структура работы.** Диссертация изложена на 445 страницах компьютерного текста и состоит из введения, обзора литературы, собственных исследований, заключения, выводов, практических предложений и списка литературы. Работа иллюстрирована 170 рисунками, а числовые данные представлены в 60 таблицах. Список литературы содержит 609 источников, в том числе 403 зарубежных.

## **ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ**

### **1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ**

В данной главе представлены сведения результатов анализа доступной литературы, посвященные биологической характеристике нутрий, возрастным изменениям состава и свойств крови млекопитающих, структурно-функциональным особенностям паренхиматозных органов млекопитающих в постнатальном онтогенезе, а также синтезу белка и биологической роли нуклеолина в эукариотической клетке.

### **2. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ**

В разделе изложены основные результаты научных исследований, в том числе с использованием запатентованных методик, ранее опубликованные в научных статьях, монографии и методических рекомендациях самостоятельно и в соавторстве, которые содержат дополненные, уточненные и новые сведения.

#### **2.1. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Исследования проведены с 2013 по 2021 год на кафедре физиологии, хирургии и акушерства, в Научно-диагностическом и лечебном ветеринарном центре, на кафедре паразитологии и ветсанэкспертизы, анатомии и патанатомии им. профессора С. Н. Никольского ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет», а также в фермерских хозяйствах Краснодарского и Ставропольского края.

Объектом исследования служили 370 клинически здоровых самок и самцов нутрий стандартного окраса клеточного содержания в возрасте 1 суток, 2 месяцев, 4,5 месяцев, 7,5 месяцев и 12 месяцев.

Кормление нутрий осуществлялось комбинированным типом согласно рекомендациям В. Ф. Кладовщикова (1998).

Образцы крови отбирали у самцов и самок нутрий каждой возрастной группы из хвостовой артерии утром до кормления в вакуумные пробирки фирмы AQUISEL (Испания) с антикоагулянтом КЗЕ/ЭДТА объемом 0,5 мл для гематологических исследований и в полипропиленовые пробирки для получения сыворотки с целью биохимических исследований. Сыворотку крови получали путём естественного свёртывания и отделяли от форменных элементов в течение получаса.

Исследование количества лейкоцитов, эритроцитов и тромбоцитов, уровня гемоглобина и гематокрита, а также среднего объема эритроцита, среднего содержания гемоглобина в эритроците и средней концентрации гемоглобина в эритроците проводили на автоматизированном гематологическом анализаторе МЕК-6400J/К фирмы Nihon Kohden (Япония). Определение скорости оседания эритроцитов (СОЭ) проводили с помощью микрометода Панченкова. Дифференциальный подсчет лейкоцитов (лейкограмма) проводили визуальной микроскопической оценкой сухих мазков крови, фиксированных в абсолютном метиленовом спирте и окрашенных азур-эозиновой смесью по методу Романовского-Гимза. При подсчете лейкоцитов использовали четырёхпольный метод Шиллинга. Лейкоцитарные индексы нутрий рассчитаны по следующим формулам:

$$\text{лейкоцитарный индекс интоксикации Б.А. Рейса (ЛИИ)} - \text{ЛИИ} = \frac{с+п+ммц+мц}{\text{мон}+\text{лимф}+\varepsilon},$$

$$\text{лейкоцитарный индекс (ЛИ)} - \text{ЛИ} = \frac{\text{лимф}}{н};$$

$$\text{индекс сдвига лейкоцитов (ИСЛ)} - \text{ИСЛ} = \frac{\varepsilon+б+н}{\text{мон}+\text{лимф}};$$

$$\text{лимфоцитарно-гранулоцитарный индекс (ИЛГ)} - \text{ИЛГ} = \frac{\text{лимф} \times 10}{\text{мц}+\text{ммц}+п+с+\varepsilon+б};$$

$$\text{ядерный индекс сдвига (ЯИС)} - \text{ЯИС} = \frac{\text{мц}+\text{ммц}+п}{с};$$

$$\text{индекс соотношения лейкоцитов и СОЭ (ИЛСОЭ)} - \text{ИЛСОЭ} = \frac{л \times \text{СОЭ}}{100};$$

$$\text{индекс соотношения лимфоцитов и эозинофилов (ИСЛЭ)} - \text{ИСЛЭ} = \frac{\text{лимф}}{\varepsilon};$$

$$\text{индекс соотношения лимфоцитов и моноцитов (ИСЛМ)} - \text{ИСЛМ} = \frac{\text{лимф}}{\text{мон}};$$

$$\text{индекс соотношения нейтрофилов и моноцитов (ИСНМ)} - \text{ИСНМ} = \frac{\text{мц}+\text{ммц}+п+с}{\text{мон}};$$

$$\text{индекс иммунореактивности (ИИР)} - \text{ИИР} = \frac{\text{лимф}+\varepsilon}{\text{мон}};$$

$$\text{индекс Гаркави (ИГ)} - \text{ИГ} = \frac{\text{лимф}}{с};$$

$$\text{нейтрофильно-лимфоцитарный коэффициент (НЛК)} - \text{НЛК} = \frac{с+п+ммц+мц}{\text{лимф}}.$$

где л – лейкоциты ( $\times 10^9$ ); э – эозинофилы (%); б – базофилы (%); мц – миелоциты (%); ммц – метамиелоциты (%); н – общее содержание нейтрофилов (%); п – палочкоядерные нейтрофилы (%); с – сегментоядерные нейтрофилы (%); мон – моноциты (%); лимф – лимфоциты (%); СОЭ – скорость оседания эритроцитов (мм/ч).

Для выявления аргирофильных белков областей ядрышковых организаторов (AgNOR) в лимфоцитах мазки крови нутрий окрашивали нитратом серебра по оригинальной методике, предложенной W. M. Howell, D. A. Black (1980), в нашей модификации (В. И. Трухачева с соавт., 2015, 2017). С каждого окрашенного мазка крови при увеличении в 400 раз выполняли по 10 цифровых снимков, в которых подсчитывали количество и измеряли площадь AgNOR и ядра лимфоцитов, с дальнейшим математическим расчетом суммарной площади AgNOR и доли суммарной площади AgNOR от общей площади ядра.

Определение активности ферментов (аланинаминотрансфераза (АлАТ, К.Ф.2.6.1.2.), аспаргатаминотрансфераза (АсАТ, К.Ф.2.6.1.1.), лактатдегидрогеназа (ЛДГ, К.Ф.1.1.1.27), щелочная фосфатаза (ЩФ, К.Ф.3.1.3.1.), гамма-глутамилтрансфераза (ГГТ, К.Ф.2.3.2.1.),  $\alpha$ -амилаза (К.Ф.3.2.1.1.)), а также содержание субстратов (общий белок, альбумины, мочевины, креатинин, мочевиная кислота, глюкоза, общий и прямой билирубин), липидов (холестерин, триглицериды) и электролитов (кальций, фосфор, магний, калий, натрий, хлориды) в сыворотке крови проводили на автоматическом биохимическом анализаторе Сапфир 400 фирмы ТОКЮ ВОЕКІ (Япония) с помощью набора реактивов производства DiaSys (Германия).

Содержание азота мочевины, непрямого билирубина, а также индекса отношения азота мочевины к креатинину и коэффициент соотношения билирубина и альбумина рассчитывали математически.

Для изучения морфологических параметров внутренних органов проводили убой нутрий в соответствии с Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (1986), а также с директивой 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза по охране животных, используемых в научных целях (2010), и у самцов и самок каждой возрастной группы изымали сердце, легкие, печень, почки и поджелудочную железу с дальнейшим их взвешиванием на аналитических весах AND GR-202 (Япония) и отбором образцов тканей для гистологических, гистохимических и иммуногистохимических исследований.

Материал фиксировали в 10 %-ном водном растворе нейтрального формалина и жидкости Карнуа, проводили через спирты возрастающей крепости (50°, 60°, 70°, 80° и 96°) и ксилол, а затем заливали в парафиновую среду «Гистомикс» с использованием гистологического процессора замкнутого типа Tissue-Tek VIP™ 5 Jr. производства Sakura (Япония) и станции парафиновой заливки Tissue-Tek TEC™ 5 производства Sakura (Япония).

После заливки кусочки органов фиксировали на стандартные гистологические кассеты, затем с помощью ротационного микротомы делали гистологические срезы толщиной 5 мкм.

Для обзорных целей, выявления соединительной ткани, морфометрического анализа клеток и структурных компонентов тканей паренхиматозных органов гистологические срезы окрашивали гематоксилином и эозином, а также азокармином по Гейденгайну и по методу Вейгерт-Ван Гизон с помощью набора реактивов производства БиоВитрум (Россия) на автоматическом мультитейнере Prisma™ (Sakura, Япония).

Все гистологические исследования проводили согласно рекомендациям В. В. Семченко с соавт. (2006).

Для выявления AgNOR гистологические срезы окрашивали нитратом серебра по оригинальной методике, предложенной W. M. Howell, D. A. Black (1980). Реакция на суммарные белки проводилась с использованием водного сулемового раствора бромфенолового синего согласно методике, описанной J. Hornatowska (2005). Для выявления ДНК гисто-

логические срезы окрашивали раствором акридинового оранжевого с последующей двумерной флуоресцентной микроскопией согласно рекомендациям, изложенным в руководстве А. Ф. Сайфитдиновой (2011).

С целью визуализации белка С23/нуклеолина использовали иммуногистохимическое окрашивание срезов с использованием поликлональных кроличьих антител Anti-Nucleolin antibody, клон ab22758 (Abcam plc, Великобритания). В качестве негативного контроля использовались реакции с заменой первых антител раствором для разведения SpringBioScience (США). Депарафинизацию, гидратацию и демаскировку антигенов на гистологических срезах проводили высокотемпературной обработкой в пароварке в течение 20 минут, путем опускания стекол в 5 % раствор Trilogy™ (CELL MARQUE, Нидерланды), после чего стекла со срезами оставляли в горячем растворе еще на 10 минут. Затем стекла со срезами ополаскивали в 5 % буфере TBS IHC Wash Buffer+Tween 20 (TBS (Tween 20x)) (CELL MARQUE, Нидерланды), после чего буфер смывали путем ополаскивания стекол в дистиллированной воде в течение 10 секунд. Для блокирования эндогенной пероксидазы стекла в течение 10 минут обрабатывали 3 % раствором H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. После чего стекла со срезами ополаскивали в дистиллированной воде в течение 10 секунд, затем помещали в 5 % буфер TBS (Tween 20x) на 5 минут. После буфера вокруг срезов делали гидрофобный слой при помощи гидрофобного барьерного карандаша-маркера PAP-pen (SpringBioScience, США). Наносили на срезы блокировочный раствор Background Block™ (CELL MARQUE, Нидерланды) на 10 минут, излишки раствора со срезов удаляли, путем их промакивания бумажным полотенцем и наносили первичные антитела к Anti-Nucleolin antibody. Инкубацию срезов с первичными антителами проводили во влажной камере при температуре 27 °С в течение 24 часов, после чего смывали первичные антитела путем помещения стекол со срезами в 5 % буфер TBS (Tween 20x) на 5 минут. Затем наносили раствор № 1 полимерной системы детекции HiDef Detection™ Amplifier (Mouse and Rabbit) (CELL MARQUE, Нидерланды) и инкубировали во влажной камере при температуре 27 °С в течение 60 минут. Смывали раствор № 1 путем помещения стекол со срезами в 5 % буфер TBS (Tween 20x) на 5 минут, наносили раствор № 2 полимерной системы детекции HiDef Detection™ HRP Polymer Detector (CELL MARQUE, Нидерланды) и инкубировали во влажной камере при температуре 27 °С в течение 60 минут. После инкубации раствор № 2 смывали в 5 % буфере TBS (Tween 20x) в течение 5 минут. Затем после буфера на срезы наносили хромоген DAB Substrate Kit (CELL MARQUE, Нидерланды) на 3–5 минут и промывали по 5 минут в 2 сменах дистиллированной воды, после чего 5 минут докрашивали гематоксилином Майера и вновь промывали в дистиллированной воде. Далее стекла со срезами погружали в дистиллированную воду с добавлением аммиака (1 мл аммиака на 100 мл дистиллированной воды) для получения щелочной среды. После приобретения срезами голубого оттенка стекла ополаскивали в дистиллированной воде 10 секунд и обезвоживали в спиртах восходящей крепости и ксилоле с последующим заключением в монтирующую среду БиоМаунт (БиоВитрум, Россия).

Световую микроскопию гистологических препаратов проводили с помощью микроскопа OLYMPUS BX53 (Япония) и цифровой камеры Olympus SC50 (Япония), а двумерную флуоресцентную микроскопию проводили с помощью микроскопа Olympus BX41 (Япония) и фотоаппарата OLYMPUS E 330 (Япония).

С каждого препарата сердца, легких, печени, коркового и мозгового слоя почек, поджелудочной железы, окрашенных гематоксилином и эозином, азокармином по Гейденгайну и по методу Вейгерт-Ван Гизона выполняли по 10 цифровых снимков случайно выбранных полей при увеличении в 40, 100, 200 и 400 раз.

В каждом цифровом снимке сердца с помощью 25-точечной стереометрической сетки Автандилова (при увеличении  $\times 200$ ) проводили определение доли ядер и цитоплазмы кардиомиоцитов. В каждом цифровом снимке печени определяли площадь клеток и ядер гепатоцитов (10 измерений в каждом снимке). В каждом цифровом снимке почек исследовали площадь почечного тельца и сосудистого клубочка (1 измерение в каждом снимке), диаметр проксимальных, дистальных канальцев и собирающих трубок (10 измерений в каждом снимке), площадь клеток и ядер (10 измерений в каждом снимке). В каждом цифровом снимке поджелудочной железы проводили измерения площади клеток и ядер экзокринных панкреатоцитов и инсулоцитов эндокринных островков (10 измерений в каждом снимке), площадь экзокринных островков и ацинусов поджелудочной железы (1 измерение в каждом снимке). Площадь мочевого простанства почечного тельца и ядерно-цитоплазматическое отношение клеток рассчитывали математически.

Для изучения активности AgNOR в клетках паренхиматозных органов в гистопрепаратах, окрашенных нитратом серебра, выполняли по 10 цифровых случайно выбранных полей зрения при увеличении в 1000 раз. В них изучали количество и площадь AgNOR в клетках (10 измерений в каждом снимке). Суммарную площадь и долю суммарной площади AgNOR от общей площади ядра рассчитывали математически.

Для определения суммарно белка в клетках паренхиматозных органов в гистопрепаратах, окрашенных водным сулемовым раствором бромфенолового синего, выполняли по 10 цифровых снимков, случайно выбранных полей зрения при увеличении в 400 раз и определяли оптическую плотность клеток (10 измерений в каждом снимке).

С целью определения содержания ядерной ДНК в клетках в гистопрепаратах, окрашенных акридиновым оранжевым, выполняли по 10 цифровых случайно выбранных полей зрения при увеличении в 1000 раз и измеряли оптическую плотность ядерной ДНК в клетках (10 измерений в каждом снимке).

Для количественного анализа уровня экспрессии нуклеолина в клетках при иммуногистохимическом окрашивании срезов выполняется по 10 цифровых снимков случайно выбранных полей зрения при увеличении в 1000 раз с последующим измерением оптической плотности и сум-

марной площади иммунопозитивных структур белка C23/нуклеолина, а также суммарной площади клеток. Для определения общего содержания нуклеолина в клетках нами предложен расчет коэффициента экспрессии белка C23/нуклеолина в поле зрения по формуле:

$$K \text{ ex. C23} = \left( \frac{\sum S \text{ C23}}{\sum S \text{ Cell}} \times 100 \right) \times D \text{ C23},$$

где K ex. C23 – коэффициент экспрессии белка C23/нуклеолина в поле зрения;  $\sum S \text{ C23}$  – суммарная площадь иммунопозитивных структур белка C23/нуклеолина в поле зрения;  $\sum S \text{ Cell}$  – суммарная площадь клеток в поле зрения; D C23 – оптическая плотность иммунопозитивных структур белка C23/нуклеолина в поле зрения.

Все морфометрические исследования и определение оптической плотности проводили с использованием программы Видео-Тест Морфология 5.1 для Windows согласно рекомендациям Г. Г. Автандилова (2005).

Всего было исследовано 1260 гистологических препаратов.

Полученные материалы анализировали, а статистическую обработку числовых данных проводили с помощью однофакторного дисперсионного анализа и множественного сравнения Ньюмена – Кейлса в программе Primer of Biostatistics 4.03 для Windows, где n – объем выборки, M – среднее арифметическое выборки, m – стандартная ошибка среднего. Достоверными считали различия при  $p < 0,05$ .

## **2.2. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ АНАЛИЗ**

### **2.2.1. МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ НУТРИЙ В ПОСТНАТАЛЬНОМ ОНТОГЕНЕЗЕ**

В данном подразделе представлены результаты исследования гематологического профиля, параметров AgNOR в лимфоцитах и изменения биохимических показателей крови самцов и самок нутрий в постнатальном онтогенезе.

#### **2.2.1.1. Гематологические показатели нутрий в постнатальном онтогенезе**

Гематологические показатели нутрий в постнатальном онтогенезе проявляют разную степень достоверных различий у самок и самцов и имеют следующий диапазон средних значений: эритроциты –  $3,52 \pm 0,06 - 4,57 \pm 0,17$  и  $3,80 \pm 0,06 - 4,78 \pm 0,18 \times 10^{12}/л$ ; гемоглобин –  $113,80 \pm 1,16 - 159,80 \pm 0,97$  и  $118,20 \pm 3,47 - 144,60 \pm 5,38$  г/л; лейкоциты –  $5,24 \pm 0,93 - 11,28 \pm 0,38$  и  $5,46 \pm 0,38 - 11,12 \pm 1,07 \times 10^9/л$ ; тромбоциты –  $287,80 \pm 14,59 - 393,00 \pm 27,37$  и  $294,20 \pm 14,18 - 541,00 \pm 22,47 \times 10^9/л$ ; гематокрит –  $31,00 \pm 0,90 - 42,84 \pm 0,44$  и  $31,18 \pm 3,47 - 39,08 \pm 1,64$  % соответственно. Минимальное количество эритроцитов и лейкоцитов регистрируется в 2-месячном, а максимальное – в 12-месячном возрасте. Уровень гемоглобина имеет минимальные значе-

ния в 2-месячном, а максимальные – в 1-суточном возрасте. Минимальное количество тромбоцитов выявлено у особей обоего пола в 2 месяца, а максимальное – у самок в 1-суточном, а у самцов в 4,5-месячном возрасте. В 4,5 месяца жизни определяется самый низкий уровень гематокрита, а самый высокий, как и гемоглобин, – в возрасте 1 суток. Средние значения СОЭ у нутрий находятся в пределах от 2,00 до 4,00 мм/ч и не имеют достоверных половозрастных различий.

Эритроциты нутрий дисковидной формы, как и у многих других млекопитающих, имеют небольшое просветление в центре и умеренную степень естественного анизозитоза, встречаются и единичные сфероциты.

В возрастной период от 1 суток и до 2 месяцев у нутрий происходит «физиологический перекрест» лейкоцитарного профиля крови с нейтрофильного на лимфоцитарный. В период относительного снижения нейтрофилов в крови (4,5 и 7,5 месяцев) наблюдается повышение содержания моноцитов. Базофилы в крови регистрируются только в возрасте 7,5 месяцев, при этом их процентное содержание у самок оказалось достоверно выше, чем у самцов в 3 раза (таблица 1).

Таблица 1 – Лейкоцитарная формула крови нутрий разного пола и возраста

| Возрастные группы | Пол          | Базофилы (BA), %<br>M±m | Эозинофилы (EO), %<br>M±m | Нейтрофилы (NEUT), % M±m |                 | Лимфоциты (LYM), %<br>M±m | Моноциты (MON), %<br>M±m |
|-------------------|--------------|-------------------------|---------------------------|--------------------------|-----------------|---------------------------|--------------------------|
|                   |              |                         |                           | Палочко-ядерные          | Сегментоядерные |                           |                          |
| 1 сутки           | Самка (n=10) | –                       | 1,80±0,37                 | 7,20±0,37                | 59,00±2,30      | 27,60±2,94                | 4,20±0,74                |
|                   | Самец (n=10) | –                       | 2,20±0,37                 | 7,20±0,80                | 61,00±3,18      | 23,60±3,54                | 5,60±0,75                |
| 2 месяца          | Самка (n=10) | –                       | 4,00±1,34                 | 2,20±0,37*               | 41,40±2,11*     | 48,80±3,31*#              | 3,60±0,25                |
|                   | Самец (n=10) | –                       | 2,20±0,58                 | 2,00±0,55*               | 35,80±1,36*     | 56,20±0,97*               | 3,80±0,58                |
| 4,5 месяца        | Самка (n=10) | –                       | 1,20±0,20                 | 3,00±0,55                | 20,80±0,37*     | 67,00±1,14*               | 8,00±0,84*               |
|                   | Самец (n=10) | –                       | 1,40±0,25                 | 2,80±0,37                | 24,60±1,25*     | 64,00±1,23                | 7,20±0,20*               |
| 7,5 месяцев       | Самка (n=10) | 0,60±0,25#              | 2,20±0,58                 | 2,40±0,25                | 26,40±1,29      | 59,80±1,80                | 8,60±0,51                |
|                   | Самец (n=10) | 0,20±0,20               | 1,80±0,37                 | 2,60±0,25                | 28,60±1,86      | 60,00±1,70                | 6,80±0,49                |
| 12 месяцев        | Самка (n=10) | –                       | 3,20±1,28                 | 1,60±0,25                | 30,40±2,25#     | 61,60±1,36#               | 3,20±0,49*               |
|                   | Самец (n=10) | –                       | 1,60±0,40                 | 2,80±0,58                | 41,80±0,58*     | 50,00±1,30*               | 3,80±0,37*               |

*Примечание.* Достоверные различия при  $p < 0,05$  обозначены: у каждой возрастной группы в сравнении с предшествующей – \*; у самок в сравнении с самцами из одной возрастной группы – #.

Расчет интегральных лейкоцитарных (ЛИИ, ЛИ, ИСЛ, ЯИС, ИЛГ, ИСЛМ, ИСНМ ИИР, ИГ, НЛК) индексов показал, что их средние значения с возрастом изменяются волнообразно, проявляя разную степень достоверных различий в зависимости от половой принадлежности, при этом в значениях ИЛСОЭ и ИСЛЭ достоверных половозрастных отличий не установлено (таблица 2).

Таблица 2 – Лейкоцитарные индексы нутрий разного пола и возраста, усл. ед.

| Пол               | Возрастные группы, М±m |             |              |             |              |
|-------------------|------------------------|-------------|--------------|-------------|--------------|
|                   | 1 сутки                | 2 месяца    | 4,5 месяца   | 7,5 месяцев | 12 месяцев   |
| ЛИИ (Б. А. Рейса) |                        |             |              |             |              |
| Самка (n=10)      | 2,08±0,31              | 0,79±0,07*  | 0,31±0,01    | 0,41±0,02   | 0,48±0,05    |
| Самец (n=10)      | 2,40±0,45              | 0,61±0,03*  | 0,38±0,02    | 0,46±0,04   | 0,81±0,04    |
| ЛИ                |                        |             |              |             |              |
| Самка (n=10)      | 0,43±0,06              | 1,15±0,15*  | 2,83±0,11**  | 2,10±0,14   | 1,97±0,18*   |
| Самец (n=10)      | 0,36±0,08              | 1,49±0,06*  | 2,36±0,15*   | 1,97±0,19*  | 1,13±0,06*   |
| ИСЛ               |                        |             |              |             |              |
| Самка (n=10)      | 2,27±0,36              | 0,94±0,13*  | 0,33±0,013   | 0,47±0,03   | 0,55±0,03    |
| Самец (n=10)      | 2,70±0,53              | 0,67±0,03*  | 0,41±0,023   | 0,50±0,04   | 0,86±0,05    |
| ИЛГ               |                        |             |              |             |              |
| Самка (n=10)      | 4,14±0,55              | 10,73±1,64* | 26,92±1,11** | 19,20±1,44* | 17,66±1,04*  |
| Самец (n=10)      | 3,52±0,76              | 14,12±0,66* | 22,44±1,38*  | 18,52±1,85  | 10,90±0,61*  |
| ЯИС               |                        |             |              |             |              |
| Самка (n=10)      | 0,12±0,01              | 0,05±0,01*  | 0,15±0,03*   | 0,09±0,01   | 0,06±0,01    |
| Самец (n=10)      | 0,12±0,01              | 0,06±0,02   | 0,12±0,02    | 0,09±0,01   | 0,07±0,01    |
| ИЛСОЭ             |                        |             |              |             |              |
| Самка (n=10)      | 0,14±0,01              | 0,12±0,03   | 0,28±0,05    | 0,44±0,10   | 0,27±0,03    |
| Самец (n=10)      | 0,17±0,02              | 0,14±0,03   | 0,30±0,04    | 0,34±0,06   | 0,30±0,05    |
| ИСЛЭ              |                        |             |              |             |              |
| Самка (n=10)      | 19,37±5,50             | 26,88±11,64 | 60,50±7,08   | 37,60±10,38 | 34,27±11,39  |
| Самец (n=10)      | 13,80±5,56             | 34,98±9,49  | 51,10±7,79   | 40,23±8,82  | 38,93±7,95   |
| ИСЛМ              |                        |             |              |             |              |
| Самка (n=10)      | 7,27±1,30              | 13,62±0,59  | 8,84±1,12    | 7,09±0,60   | 20,89±2,73** |
| Самец (n=10)      | 4,28±0,35              | 16,63±3,07* | 8,92±0,33*   | 9,00±0,66   | 13,66±1,38   |
| ИСНМ              |                        |             |              |             |              |
| Самка (n=10)      | 17,44±2,50             | 12,48±1,45  | 3,12±0,35*   | 3,38±0,17   | 11,09±2,22*  |
| Самец (n=10)      | 13,87±3,23             | 11,38±2,47  | 3,81±0,17*   | 4,76±0,61   | 12,21±1,24*  |
| ИИР               |                        |             |              |             |              |
| Самка (n=10)      | 7,70±1,29              | 14,85±0,84* | 8,99±1,13    | 7,35±0,59   | 21,91±2,76*  |
| Самец (n=10)      | 4,71±0,35              | 17,28±3,18* | 9,12±0,35*   | 9,28±0,70   | 14,12±1,45*  |
| НЛК               |                        |             |              |             |              |
| Самка (n=10)      | 2,59±0,47              | 0,92±0,11*  | 0,36±0,02    | 0,49±0,03   | 0,52±0,05    |
| Самец (n=10)      | 3,24±0,62              | 0,67±0,03*  | 0,43±0,03    | 0,53±0,05   | 0,90±0,04    |
| ИГ                |                        |             |              |             |              |
| Самка (n=10)      | 0,48±0,06              | 1,21±0,15*  | 3,23±0,11**  | 2,30±0,18*  | 2,09±0,20*   |
| Самец (n=10)      | 0,41±0,09              | 1,58±0,07*  | 2,64±0,18*   | 2,16±0,23   | 1,20±0,05*   |

*Примечание.* Достоверные различия при  $p < 0,05$  обозначены: у каждой возрастной группы в сравнении с предшествующей – \*; у самок в сравнении с самцами из одной возрастной группы – #.



Высокие значения ЛИИ и ИСЛ, а также низкие значения ЛИ и ИЛГ в 1 сутки жизни, по отношению к показателям остальных возрастных групп, обусловлены высоким процентным содержанием нейтрофилов. Динамика изменения ЛИИ, ЛИ, ИЛГ, ИСЛ, НЛК и ИГ самок и самцов нутрий в последующие возрастные периоды также является следствием изменения соотношения агранулоцитов и гранулоцитов. Возрастные колебания ЯИС, ИСЛМ и ИСНМ связаны, на наш взгляд, с защитно-приспособительной реакцией и активацией функции лейкоцитов, вызванной окончанием молочного вскармливания, а также половым и физиологическим созреванием. Половозрастные изменения ИИР у нутрий дают основания косвенно полагать о состоянии нейроиммунной системы и могут способствовать выявлению групп риска у этого вида животных со склонностью к иммуносупрессии и гиперчувствительности.

Расчет эритроцитарных индексов показал, что средний объем эритроцита у самок нутрий варьирует от  $78,38 \pm 0,80$  до  $100,20 \pm 0,93$  fl, а у самцов – от  $80,78 \pm 2,90$  до  $97,30 \pm 1,11$  fl, имея при этом свои минимальные значения в 12-месячном, а максимальные – в 1-суточном возрасте. Среднее содержание гемоглобина в эритроците демонстрирует свой минимум в 12 месяцев и максимум в 1 сутки жизни, находясь у самок в пределах от  $29,04 \pm 0,35$  до  $37,32 \pm 0,49$  pg, а у самцов – от  $29,50 \pm 0,48$  до  $36,06 \pm 1,56$  pg. Диапазон средней концентрации гемоглобина в эритроците у самок составил от  $35,50 \pm 0,19$  до  $38,20 \pm 0,44$  г/дл, а у самцов – от  $32,32 \pm 0,88$  до  $37,06 \pm 0,30$  г/дл. Однако минимальные значения этого показателя выявлены у 2-месячных самок и 7,5-месячных самцов, а максимальные – у 7,5-месячных самок и 1-суточных самцов.

#### **2.2.1.2. Биохимические показатели сыворотки крови нутрий в постнатальном онтогенезе**

При анализе содержания общего белка и альбуминов в сыворотке крови нутрий установлено, что с 1 суток до 2 месяцев жизни значения данных показателей снижаются, достигая своего минимума, составив для самок  $41,68 \pm 0,86$  и  $16,76 \pm 2,50$  г/л, а для самцов –  $46,02 \pm 2,83$  и  $18,38 \pm 0,69$  г/л соответственно. В последующие возрастные периоды содержание общего белка увеличивается, достигая своего максимума у самок в 7,5-месячном ( $74,34 \pm 2,21$  г/л), а у самцов – в 12-месячном возрасте ( $76,72 \pm 0,81$  г/л). Содержание альбуминов с 2 месяцев жизни возрастает и достигает своего максимума у особей обоего пола в 12-месячном возрасте, составив у самок  $37,88 \pm 0,24$  г/л, а у самцов –  $36,88 \pm 1,88$  г/л.

Анализ продуктов азотистого метаболизма в сыворотке крови нутрий показал, что содержание мочевины и азота мочевины у самок варьирует от  $2,40 \pm 0,03$  до  $6,02 \pm 0,19$  ммоль/л и от  $6,73 \pm 0,09$  до  $16,88 \pm 0,54$  мг/дл, а у самцов – от  $2,58 \pm 0,06$  до  $5,74 \pm 0,50$  ммоль/л и от  $7,24 \pm 0,16$  до  $16,10 \pm 1,41$  мг/дл соответственно. Наименьшие значения этих показателей регистрируются в 4,5-месячном, а наибольшие – в 12-месячном возрасте. Уровень креатинина демонстрирует минимальные значения

в 2-месячном возрасте, составив для самок  $40,00 \pm 2,95$  мкмоль/л, а для самцов –  $39,50 \pm 2,99$  мкмоль/л. У самок нутрий уровень креатинина имеет максимальные значения в 12-месячном ( $102,00 \pm 1,95$  мкмоль/л), а у самцов – в 7,5-месячном возрасте ( $88,50 \pm 2,80$  мкмоль/л). Индекс отношения азота мочевины к креатинину имеет максимальные значения в 2 месяца жизни (у самок –  $22,20 \pm 1,48$  у.е.; у самцов –  $23,39 \pm 1,95$  у.е.), а в 4,5 месяца падает до своего минимума (у самок –  $7,53 \pm 0,35$  у.е.; у самцов –  $8,48 \pm 0,26$  у.е.). Содержание мочевой кислоты у самок варьирует от  $1,20 \pm 0,07$  до  $3,02 \pm 0,28$  мг/дл, имея минимальные и максимальные значения в 2 и 7,5 месяцев жизни, а у самцов – от  $1,04 \pm 0,06$  до  $3,96 \pm 0,28$  мг/дл, с минимумом и максимумом в 7,5 и 4,5 месяца жизни соответственно.

При изучении особенностей липидного спектра сыворотки крови нутрий установлено, что уровень холестерина в 1 сутки жизни имеет минимальные значения как у самок ( $1,50 \pm 0,07$  ммоль/л), так и у самцов ( $1,34 \pm 0,10$  ммоль/л), а в 2-месячном возрасте у самок он увеличивается до  $3,74 \pm 0,33$  ммоль/л, а у самцов – до  $4,40 \pm 0,07$  ммоль/л, достигая максимальных значений. В последующем уровень холестерина снижается и к 12-месячному возрасту достоверно не изменяется. Содержание триглицеридов с возрастом изменяется волнообразно, с минимальными значениями у 4,5-месячных самок ( $0,60 \pm 0,16$  мкмоль/л) и 4,5-месячных самцов ( $0,78 \pm 0,11$  мкмоль/л), а максимальными – у 12-месячных самок ( $1,74 \pm 0,31$  мкмоль/л) и 2-месячных самцов ( $2,20 \pm 0,35$  мкмоль/л).

Уровень глюкозы в сыворотке крови нутрий с 1 суток и до 4,5 месяца жизни уменьшается до своего минимума, составив  $2,64 \pm 0,05$  ммоль/л у самок и  $2,32 \pm 0,23$  ммоль/л у самцов. К 12-месячному возрасту у самок он увеличивается до  $8,30 \pm 0,27$  ммоль/л, а у самцов – до  $7,36 \pm 0,22$  ммоль/л, достигая своих максимальных значений.

Анализ уровня билирубина в сыворотке крови нутрий показал, что значения общего и непрямого билирубина с 1-суточного до 12-месячного возраста уменьшаются у самок нутрий с  $2,64 \pm 0,23$  до  $1,06 \pm 0,23$  мг/дл и с  $2,02 \pm 0,15$  до  $0,7 \pm 0,15$  мг/дл, а у самцов – с  $3,18 \pm 0,21$  до  $1,24 \pm 0,20$  мг/дл и с  $2,50 \pm 0,15$  до  $0,8 \pm 0,14$  мг/дл соответственно. При этом значение прямого билирубина у особей обоего пола находится в пределах от  $0,36 \pm 0,07$  до  $0,68 \pm 0,06$  мг/дл и не имеет достоверных половозрастных различий.

Коэффициент соотношения билирубина (мг%) и альбумина (г%) в сыворотке крови у самок нутрий варьирует от  $0,28 \pm 0,06$  до  $1,14 \pm 0,17$  у.е., а у самцов – от  $0,35 \pm 0,07$  до  $1,34 \pm 0,08$  у.е., при этом в 1-суточном и 2-месячном возрасте значение этого показателя выше, в сравнении с последующими возрастными периодами.

Показатели электролитного состава сыворотки крови нутрий с возрастом изменяются волнообразно, а средний диапазон величин для кальция у самок и самцов составил от  $1,93 \pm 0,02$  до  $2,45 \pm 0,11$  ммоль/л и от  $2,08 \pm 0,02$  до  $2,36 \pm 0,06$  ммоль/л, для фосфора – от  $0,80 \pm 0,06$  до  $1,07 \pm 0,03$  ммоль/л и от  $0,74 \pm 0,12$  до  $1,18 \pm 0,06$  ммоль/л, для калия – от  $6,78 \pm 0,13$  до  $8,34 \pm 0,54$  ммоль/л и от  $6,93 \pm 0,33$  до  $8,54 \pm 0,33$  ммоль/л,

для натрия – от  $125,40 \pm 5,12$  до  $155,40 \pm 4,50$  ммоль/л и от  $121,10 \pm 5,20$  до  $144,30 \pm 6,88$  ммоль/л, для магния – от  $0,46 \pm 0,15$  до  $0,95 \pm 0,03$  ммоль/л и от  $0,70 \pm 0,13$  до  $0,95 \pm 0,05$  ммоль/л и для хлоридов – от  $96,79 \pm 1,98$  до  $125,10 \pm 3,49$  ммоль/л и от  $95,23 \pm 2,70$  до  $121,5 \pm 3,68$  ммоль/л соответственно. Минимальные значения содержания кальция регистрируются у 7,5-месячных самок и 2-месячных самцов, а максимальные – у особей обоего пола в возрасте 1 суток. Содержание фосфора находится на своем минимуме у самок и самцов в 1-суточном, а на максимуме – в 12-месячном возрасте. Фосфорно-кальциевое отношение в сыворотке крови нутрий с возрастом варьирует от 1:2 до 1:3. Уровень калия и натрия у самок нутрий имеет наименьшие значения в возрасте 1 суток и 2 месяцев, а у самцов – в возрасте 4,5 и 7,5 месяцев соответственно, при этом наибольший уровень калия и натрия у самок регистрируется в 7,5 месяцев, а у самцов – 7,5 месяцев и 1 сутки жизни. Содержание магния находится на максимальном уровне у 2-месячных самок и 12-месячных самцов, а на минимальном – у особей обоего пола в 4,5 месяца жизни. Наименьшее содержание хлоридов у нутрий обоего пола отмечается в 1-суточном возрасте, а наибольшее – у 4,5-месячных самок и 12-месячных самцов.

Изучение ферментативного спектра сыворотки крови нутрий показало, что активность АлАТ в 1 сутки жизни у самок и самцов имеет свои минимальные значения и составляет  $5,78 \pm 0,26$  и  $9,62 \pm 0,84$  Е/л, а к 2-месячному возрасту возрастает до  $19,38 \pm 0,87$  и  $18,88 \pm 1,48$  Е/л соответственно, достигая своего максимума с последующим снижением до 12-месячного возраста. Активность АсАТ у самок имеет наивысшее значение в 4,5-месячном ( $164,80 \pm 25,42$  Е/л), а у самцов – в 2-месячном возрасте ( $192,80 \pm 12,84$  Е/л) и к 12-месячному возрасту снижается до своего минимума как у самок ( $91,74 \pm 6,53$  Е/л), так и у самцов ( $144,60 \pm 13,71$  Е/л). Следует отметить, что активность АсАТ у нутрий в несколько раз превышает активность АлАТ, что не является характерной особенностью для большинства других видов млекопитающих. Минимальная активность ГГТ регистрируется в 4,5-месячном возрасте составив  $13,00 \pm 1,21$  Е/л у самок и  $13,90 \pm 0,30$  Е/л у самцов, с последующим возрастанием у самок до своего максимума в 7,5-месячном ( $33,74 \pm 5,55$  Е/л), а у самцов – в 12-месячном возрасте ( $35,24 \pm 5,41$  Е/л). Активность ЛДГ у нутрий возрастает до наивысших значений в 2 месяца жизни, составляя у самок и самцов  $2591,00 \pm 25,03$  и  $2541,00 \pm 27,55$  Е/л, а в 4,5-месячном возрасте понижается до своих наименьших значений, составив уже  $753,60 \pm 58,11$  и  $540,20 \pm 48,24$  Е/л соответственно. Активность ЩФ имеет минимальные значения у 7,5-месячных самок ( $488,80 \pm 15,53$  Е/л) и 2-месячных самцов ( $609,80 \pm 47,15$  Е/л), а максимальные – 1-суточных особей, составив  $1562,00 \pm 58,75$  Е/л у самок и  $1720,00 \pm 70,98$  Е/л у самцов. Минимальная активность  $\alpha$ -амилазы у нутрий выявлена в 1-суточном возрасте (у самок –  $1008,0 \pm 37,7$  Е/л; у самцов –  $1019,0 \pm 77,4$  Е/л), а максимальная – в 4,5-месячном возрасте (у самок –  $1852,0 \pm 68,6$  Е/л; у самцов –  $2030,0 \pm 110,6$  Е/л).

### 2.2.1.3. Параметры активности областей ядрышковых организаторов в лимфоцитах нутрий в половозрастном аспекте

Зоны AgNOR в лимфоцитах нутрий имеют округлую, реже овальную форму и располагаются в центре или ближе к периферии ядра. Их количество находится в пределах 1–2, при этом 2 зоны AgNOR чаще регистрируются в 1-суточном и 2-месячном возрасте, что, очевидно, связано с высокой потребностью в механизмах адаптации в неонатальном периоде. В последующие возрастные периоды количество AgNOR в лимфоцитах изменяется с различной периодичностью, зависит от половой принадлежности и состояния лейкопоза у особей этого вида животных.

Параметры активности AgNOR в лимфоцитах самок и самцов нутрий в постнатальном онтогенезе представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Параметры активности AgNOR в лимфоцитах нутрий разного пола и возраста

| Пол  | Возрастные группы, M±m   |              |              |             |             |
|--|--------------------------|--------------|--------------|-------------|-------------|
|  | 1 сутки                  | 2 месяца     | 4,5 месяца   | 7,5 месяца  | 12 месяцев  |
| Количество AgNOR, ед.                                    |                          |              |              |             |             |
| Самка (n=50)   | 1,300±0,066              | 1,160±0,052  | 1,020±0,02   | 1,000±0,000 | 1,020±0,020 |
| Самец (n=50)   | 1,380±0,069              | 1,240±0,061  | 1,020±0,02*  | 1,040±0,028 | 1,060±0,034 |
| Суммарная площадь AgNOR, мкм <sup>2</sup>                |                          |              |              |             |             |
| Самка (n=50)   | 5,969±0,331 <sup>#</sup> | 4,592±0,281* | 2,959±0,126* | 3,558±0,198 | 3,988±0,226 |
| Самец (n=50)   | 5,105±0,335              | 3,732±0,215* | 3,790±0,222  | 3,616±0,179 | 4,321±0,184 |
| Доля суммарной площади AgNOR от общей площади ядра, у.е. |                          |              |              |             |             |
| Самка (n=50)   | 0,086±0,003              | 0,079±0,004  | 0,061±0,003* | 0,066±0,003 | 0,069±0,003 |
| Самец (n=50)   | 0,088±0,007              | 0,075±0,004  | 0,068±0,003  | 0,056±0,003 | 0,066±0,002 |

*Примечание.* Достоверные различия при  $p < 0,05$  обозначены: у каждой возрастной группы в сравнении с предшествующей – \*; у самок в сравнении с самцами из одной возрастной группы – <sup>#</sup>.

При анализе суммарной площади AgNOR в лимфоцитах самок и самцов нутрий установлено, что в 1-суточном возрасте этот параметр имеет максимальные значения и в последующем снижается, достигая минимума у самок в 7,5-месячном, а у самцов – в 4,5-месячном возрасте, затем постепенно возрастает. Доля суммарной площади AgNOR от общей площади ядра лимфоцитов имеет максимальные значения у особей обоего пола в 1-суточном возрасте, а минимальные – у 4,5-месячных самок и 7,5-месячных самцов.

### 2.2.2. ПОСТНАТАЛЬНЫЙ МОРФОГЕНЕЗ ПАРЕНХИМАТОЗНЫХ ОРГАНОВ НУТРИЙ

В подразделе представлены параметры массы, гистологические особенности, а также морфометрический анализ клеток и структурных компонентов тканей паренхиматозных органов нутрий разных половозрастных групп.

### 2.2.2.1. Морфологические показатели сердца нутрий в различные возрастные периоды

Абсолютная масса сердца нутрий с 1 суток и до 12 месяцев жизни у самок увеличивается с  $1,70 \pm 0,13$  до  $17,17 \pm 1,34$  г, а у самцов – с  $1,42 \pm 0,06$  до  $19,98 \pm 1,18$  г. Относительная масса сердца у самок нутрий снижается в период от 1-суточного до 12-месячного возраста с  $0,71 \pm 0,04$  до  $0,28 \pm 0,02$  %, а у самцов снижение в значении этого показателя регистрируется в период от 1-суточного до 7,5-месячного возраста с  $0,62 \pm 0,02$  до  $0,27 \pm 0,02$  %.

Гистологическое исследование сердца показало, что в 1-суточном возрасте у нутрий миокард представлен многочисленными в виде кластеров миомами. Часто регистрируются двуядерные кардиомиоциты. Одной из особенностей сердца нутрий в 1-суточном возрасте является присутствие гипохромных околядерных зон, что является признаком формирования после рождения миофибрилл сократительного аппарата в рабочих кардиомиоцитах. Кардиомиоциты имеют рыхлое расположение, а к 2-месячному возрасту визуализируются в виде правильно выстроенных параллельно ориентированных слабоанастомозирующих клеток. В миокарде нутрий 2-месячного возраста появляются вставочные диски и начинает проявляться поперечная исчерченность, что свидетельствует о дифференцировке сократительных белков. Однако развитие миокарда продолжается и только в 7,5-месячном возрасте появляется выраженная поперечная исчерченность фибриллярного аппарата и формирование фибрилл достаточно значимых размеров. Полноценно развитым миокардом можно считать только к 12-месячному возрасту, когда определяется окончательная дифференцировка всех его структур и разрастание стромального компонента, включающего не только коллагеновые волокна, но и жировую ткань (рисунок 1).

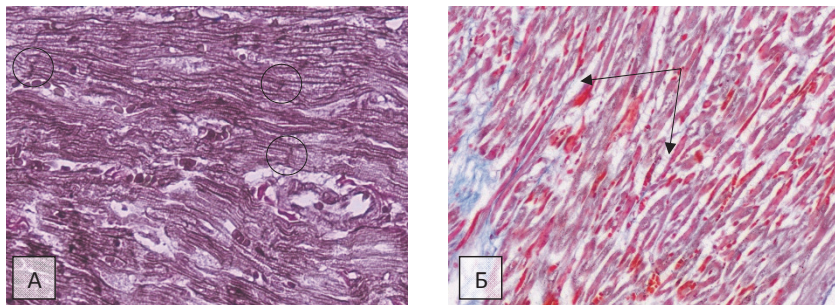


Рисунок 1 – Вставочные диски в саркоплазме (А), разрастание белой жировой ткани (Б). Самец, возраст 4,5 месяца (А), самец, возраст 7,5 месяцев (Б). Окраска по Вейгерт-Ван Гизон (А), окраска азокармином по Гейденгайну (Б). Ув.  $\times 200$  (А), ув.  $\times 100$  (Б)

При стереометрическом анализе кардиомиоцитов нутрий установлено, что их ЯЦО у самок в период от 1 суток до 12 месяцев жизни уменьшается с  $0,065 \pm 0,005$  до  $0,019 \pm 0,002$  у.е., а у самцов – с  $0,074 \pm 0,004$  до  $0,019 \pm 0,002$  у.е.

### 2.2.2.2. Морфологические особенности легких нутрий в постнатальном онтогенезе

При изучении параметров массы легких нутрий установлено, что их абсолютная масса с 1-суточного до 12-месячного возраста у самок возрастает с  $2,31 \pm 0,03$  до  $18,36 \pm 1,40$  г, а у самцов – с  $2,10 \pm 0,10$  до  $25,16 \pm 1,36$  г. Относительная масса у самок нутрий в аналогичный возрастной период уменьшается с  $0,97 \pm 0,02$  до  $0,29 \pm 0,01$  %, а у самцов – с  $0,92 \pm 0,03$  до  $0,34 \pm 0,01$  %.

При гистологическом исследовании легких нутрий установлено, что у 1-суточных особей раскрытие альвеол имеет зональный характер, возможно, это связано с относительно низкой функциональной нагрузкой органа после рождения. В 1 сутки жизни у нутрий определяется большее количество пневмоцитов 2 типа в сравнении с особями последующих возрастных групп. В бронхах среднего калибра 1-суточных нутрий отсутствует сформированный хрящ, развитие его завершается только к 7,5-месячному возрасту, при этом сформированные островки гиалинового хряща в данном возрасте начинают перестраиваться в эластический хрящ. В период постнатального онтогенеза нутрий не было обнаружено белково-слизистых желез в бронхах среднего, среднего и мелкого калибра, что, вероятно, является видовой особенностью этих животных. В возрасте 2 месяцев в легочной паренхиме появляются мегакарициты и начинает формироваться бронхоассоциированная лимфоидная ткань (БАЛТ-система), при этом с возрастом наблюдается тенденция ее формирования от бронхов крупного к бронхам мелкого калибра, формируя лимфоидные агрегаты (рисунок 2).

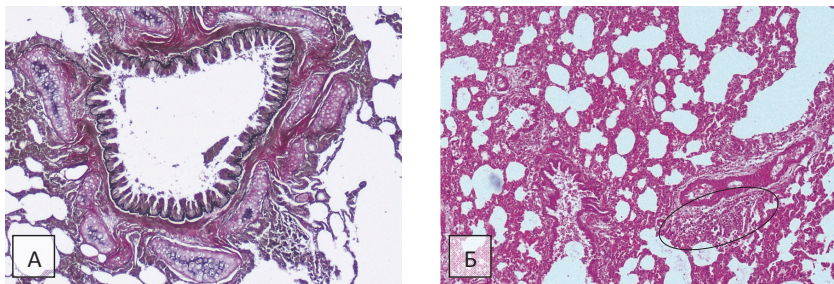


Рисунок 2 – Дифференцировка бронхиального хряща (А), формирование БАЛТ-системы (Б). Самец, возраст 12 месяцев (А), самец, возраст 2 месяца (Б). Окраска по Вейгер-Ван Гизон (А), окраска гематоксилином и эозином (Б). Ув.  $\times 40$  (А), ув.  $\times 100$  (Б)

### 2.2.2.3. Параметры постнатального морфогенеза печени нутрий

Абсолютная масса печени с 1 суток до 12 месяцев жизни у самок нутрий увеличивается с  $7,07 \pm 0,20$  до  $200,30 \pm 20,39$  г, а у самцов – с  $6,11 \pm 0,16$  до  $236,40 \pm 16,72$  г. Относительная масса печени в 1 сутки жизни имеет минимальные значения, составив у самок  $2,96 \pm 0,07$  %, а у самцов –  $2,69 \pm 0,08$  %. До 2-месячного возраста она увеличивается, достигая максимума у самок  $5,09 \pm 0,17$  %, а у самцов –  $5,69 \pm 0,26$  %. В последующие возрастные периоды у самок значение данного показателя изменяется волнообразно, а у самцов – уменьшается.

При микроскопическом исследовании печени выявлено, что у 1-суточных нутрий определяется жировая вакуолизация гепатоцитов, которая более выражена у самцов, нежели у самок. Дольчатое и балочное строение печени у самок и самцов не просматривается. В печени нутрий данного возраста определяется наличие звездчатых макрофагов. В возрастной период от 2 до 7,5 месяцев отмечается многоядерность и процессы митоза гепатоцитов, которые у самцов оказались более выраженными, в сравнении с самками. Дольчатость печени за счет наиболее структурированного расположения балок более выражена у самок нутрий. У самок 4,5-месячного возраста отмечается большее количество «резервных» гепатоцитов, в данном возрасте и в более поздние периоды регистрируются дольки печени с признаками формирования центральных вен. У самцов нутрий в 7,5 месяцев жизни в печени начинает активно развиваться стромальный компонент с последующим фиброзом коллагеновых волокон в 12-месячном возрасте (рисунок 3).

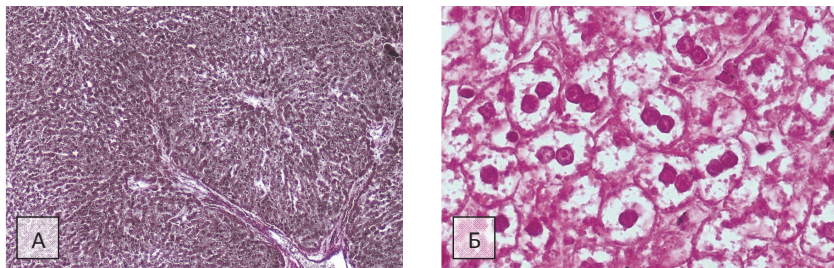


Рисунок 3 – Дольчатое строение печени (А), двуядерные гепатоциты (Б).

Самка, возраст 2 месяца (А), самец, возраст 7,5 месяцев (Б).

Окраска по Вейгерт-Ван Гизон (А), окраска гематоксилином и эозином (Б).

Ув.  $\times 40$  (А), ув.  $\times 400$  (Б)

ЯЦО гепатоцитов нутрий с возрастом изменяется волнообразно, имея свои минимальные значения в 7,5 месяцев, составив у самок и самцов  $0,1032 \pm 0,0004$  и  $0,1068 \pm 0,0004$  соответственно, а максимальные – у самок и самцов в 4,5 месяца ( $0,1264 \pm 0,0005$  у.е.) и 1 сутки жизни ( $0,1206 \pm 0,0003$  у.е.).

#### 2.2.2.4. Морфологические показатели почек нутрий в половозрастном аспекте

При изучении параметров массы почек нутрий установлено, что их абсолютная масса с 1 суток до 12 месяцев жизни увеличивается с  $1,98 \pm 0,03$  до  $22,90 \pm 0,81$  г и с  $1,73 \pm 0,04$  до  $32,67 \pm 1,66$  г у самок и самцов соответственно. Относительная масса у самок уменьшается в период от 1-суточного до 12-месячного возраста с  $0,83 \pm 0,01$  до  $0,37 \pm 0,01$  %, а у самцов – от 1-суточного до 7,5-месячного возраста с  $0,76 \pm 0,02$  до  $0,43 \pm 0,01$  %.

При гистологическом исследовании установлено, что почки у нутрий в 1 день после рождения сформированы. В корковом веществе визуализируются неупорядоченно расположенные почечные тельца, преимущественно корковых нефронов. Клеточные границы проксимальных канальцев слабо просматриваются, а по своему расположению в корковом веществе они формируют рисунок в виде сетки, в которую включены почечные тельца, вероятно, всех трех типов нефронов. Количество эпителиальных клеток, а также форма и размеры проксимальных извитых канальцев визуалью сильно варьируют. С 1 суток до 12 месяцев жизни в почечных клубочках отмечается увеличение количества мезангиальных клеток, что свидетельствует, по нашему мнению, об активации в них фагоцитарной, синтетической и других специфических для данных клеток функций. У 2-месячных нутрий определяется выраженное визуальное распространение (увеличение количества на площади среза) проксимальных извитых канальцев. Эпителиальные клетки, выстилающие канальцы, уменьшаются в рядности и имеют более широкую и округлую структуру. Не все канальцы имеют одинаковое заполнение эпителиальных клеток оксифильными включениями, данные картины имеют очаговый характер и являются признаком связи данных канальцев к разным нефронам. В 4,5-месячном возрасте отмечается дифференцировка эпителиальных клеток собирательных протоков, по нашему мнению, на светлые и темные клетки. Этот процесс сохраняется вплоть до 12 месяцев жизни (рисунок 4).

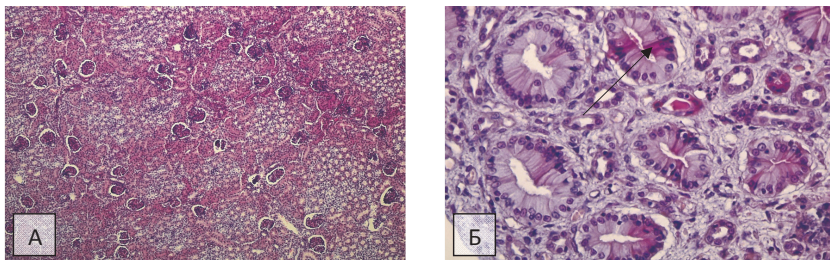


Рисунок 4 – Проксимальные извитые канальцы правой почки в виде сетки (А), дифференцировка эпителиальных клеток собирательных протоков правой почки (Б). Самец, возраст 1 сутки (А), самка, возраст 4,5 месяца (Б). Окраска гематоксилином и эозином (А, Б). Ув.  $\times 40$  (А), ув.  $\times 100$  (Б)



При окраске срезов почек 12-месячных нутрий азокармином по Гейденгайну в проксимальных канальцах четко визуализируется базальный полюс эпителиальных клеток, формирующий базальный лабиринт и имеющий оксифильное окрашивание базального полюса эпителиальных клеток в виде кристаллоподобных микроструктур. В связи с этим можно утверждать, что данный способ окраски гистологических срезов почек позволяет четко выявить вышеописанную часть канальцевой системы нефронов и установить функциональную нагрузку эпителия.

Анализируя площадь структур почечного тельца нутрий, выяснено, что его площадь у самок в левой и правой почках с возрастом увеличивается с  $3709,00 \pm 129,20$  до  $12680,00 \pm 293,00$  мкм<sup>2</sup> и с  $3380,00 \pm 92,12$  до  $12340,00 \pm 354,10$  мкм<sup>2</sup>, а у самцов – с  $3257,00 \pm 97,73$  до  $13200,00 \pm 385,00$  мкм<sup>2</sup> и с  $3221,00 \pm 81,19$  до  $12380,00 \pm 299,60$  мкм<sup>2</sup> соответственно. Площадь сосудистого клубочка на протяжении изученных возрастных периодов в левой и правой почках у самок увеличивается с  $2643,00 \pm 76,42$  до  $9848,00 \pm 247,60$  мкм<sup>2</sup> и с  $2493,00 \pm 64,27$  до  $9917,00 \pm 327,20$  мкм<sup>2</sup>, а у самцов – с  $2500,00 \pm 80,69$  до  $10620,00 \pm 320,20$  мкм<sup>2</sup> и  $2391,00 \pm 64,64$  до  $10130,00 \pm 216,30$  мкм<sup>2</sup> соответственно. Площадь мочевого пространства в левой и правой почках у самок нутрий с возрастом повышается с  $1066,00 \pm 76,32$  до  $2833,00 \pm 106,20$  мкм<sup>2</sup> и с  $886,90 \pm 51,68$  до  $2428,00 \pm 97,90$  мкм<sup>2</sup>, а у самцов – с  $757,00 \pm 42,01$  до  $2577,00 \pm 136,10$  мкм<sup>2</sup> и с  $829,50 \pm 42,51$  до  $2251,00 \pm 123,00$  мкм<sup>2</sup> соответственно.

При морфометрическом анализе почечных канальцев у нутрий установлено, что диаметр проксимальных канальцев с 1 суток до 12 месяцев жизни в левой и правой почках у самок увеличивается с  $24,61 \pm 0,16$  до  $35,92 \pm 0,18$  мкм и с  $23,20 \pm 0,15$  до  $35,06 \pm 0,20$  мкм, а у самцов – с  $23,42 \pm 0,14$  до  $36,11 \pm 0,17$  мкм и с  $21,92 \pm 0,15$  до  $38,98 \pm 0,27$  мкм соответственно. Диаметр дистальных канальцев в 1 сутки жизни имеет свои минимальные значения, составив в левой и правой почках у самок  $20,55 \pm 0,15$  и  $19,19 \pm 0,15$  мкм соответственно, однако его увеличение наблюдается только до 4,5-месячного возраста, после чего он изменяется волнообразно, достигая своего максимума у самок в левой ( $27,64 \pm 0,21$  мкм) и правой почке ( $26,42 \pm 0,14$  мкм) в 12 месяцев жизни, а у самцов – в левой почке в 4,5-месячном ( $26,21 \pm 0,18$  мкм) и правой почке в 12-месячном возрасте ( $26,58 \pm 0,18$  мкм).

Диаметр собирательных протоков в почках нутрий с возрастом изменяется с различной периодичностью и имеет свои наименьшие значения у самок в левой почке в 2-месячном и правой почке в 4,5-месячном возрасте, составив  $44,82 \pm 0,32$  и  $45,04 \pm 0,36$  мкм, а у самцов – как в левой ( $46,80 \pm 0,45$  мкм), так и в правой почке ( $44,81 \pm 0,37$  мкм) в 2-месячном возрасте. Наивысшие значения диаметра собирательных протоков в левой и правой почках самок наблюдаются в 4,5-месячном и 12-месячном возрасте ( $50,27 \pm 0,38$  и  $52,64 \pm 0,52$  мкм), а у самцов – в 12-месячном и 7,5-месячном возрасте ( $52,76 \pm 0,34$  и  $57,01 \pm 0,51$  мкм) соответственно.

Морфометрический анализ показал, что ЯЦО клеток проксимальных канальцев с возрастом изменяется неравномерно, однако имеет тенденцию

к снижению с максимальными значениями в 1-суточном возрасте, которые составили в левой и правой почке у самок  $0,272 \pm 0,003$  и  $0,292 \pm 0,003$  у.е., а у самцов –  $0,297 \pm 0,003$  и  $0,281 \pm 0,004$  у.е. соответственно. Минимальное ЯЦО клеток проксимальных канальцев левой и правой почках регистрируется в 12-месячном возрасте, составив у самок  $0,162 \pm 0,002$  и  $0,185 \pm 0,002$  у.е., а у самцов –  $0,177 \pm 0,002$  и  $0,188 \pm 0,002$  у.е. соответственно.

ЯЦО клеток дистальных канальцев у нутрий в 1 сутки жизни имеют максимальные значения, которые у самок и самцов в левой почке составили  $0,369 \pm 0,004$  и  $0,435 \pm 0,007$  у.е., а в правой –  $0,399 \pm 0,005$  и  $0,426 \pm 0,007$  у.е. соответственно. Снижение ЯЦО до своего минимума в правой почке происходит до 12-месячного возраста как у самок ( $0,305 \pm 0,004$  у.е.), так и у самцов ( $0,319 \pm 0,004$  у.е.), при этом в левой почке значение этого показателя снижается до 4,5-месячного возраста, после чего изменяется волнообразно с минимумом у самок в 4,5-месячном ( $0,300 \pm 0,004$  у.е.), а у самцов – в 12-месячном возрасте ( $0,304 \pm 0,004$  у.е.).

При расчете ЯЦО клеток собирательных протоков почек нутрий установлено, что данный показатель с возрастом изменяется вариabельно. В левой и правой почках у самок этот параметр имеет наименьшие значения в 1-суточном возрасте ( $0,188 \pm 0,003$  и  $0,206 \pm 0,003$  у.е.), а у самцов – в 4,5-месячном возрасте ( $0,199 \pm 0,003$  и  $0,207 \pm 0,003$  у.е.). Максимальные значения ЯЦО клеток собирательных протоков у нутрий в левой и правой почках регистрируются в 12-месячном возрасте, составив у самок  $0,239 \pm 0,003$  и  $0,251 \pm 0,004$  у.е., а у самцов –  $0,253 \pm 0,004$  и  $0,240 \pm 0,004$  у.е. соответственно.

### **2.2.2.5. Постнатальный морфогенез поджелудочной железы нутрий**

Панкреатические ацинусы нутрий в 1-суточном возрасте имеют округлую форму, в 2 месяца становятся полигональной формы, в 4,5 месяца имеют в основном овальную или округлую формы и редко неправильную изогнутую. В 7,5- и 12-месячном возрасте панкреатические ацинусы в основном овальной и округлой формы, однако повсеместно просматриваются полигональные формы. В 1-суточном возрасте панкреатические ацинусы состоят из 6–7 экзокринных панкреатоцитов и прилежат рыхло и обособленно по отношению друг к другу, а с 2 месяцев их количество уже составляет от 6–8 до 12–15 и они плотно прилегают друг к другу. С 1 суток до 2 месяцев жизни панкреатоциты повсеместно заполнены гранулами зимогена во всех долях, а в 4,5 месяца начинается его асинхронный синтез, который сохраняется до 12 месяцев жизни. В возрасте 2 месяцев у нутрий регистрируется тотальная вакуолизация зимогенной и гомогенной зоне цитоплазмы экзокринных панкреатоцитов, которая с возрастом заметно снижается и к 12-месячному возрасту регистрируется уже в виде единичных включений. Вакуоли круглые с четкими границами и разного размера (рисунок 5).

С 1 суток до 12 месяцев жизни площадь панкреатических ацинусов у самок нутрий увеличивается от  $1067 \pm 39,68$  до  $1888 \pm 88,14$   $\mu\text{м}^2$ , а у сам-

цов – от  $1046 \pm 38,55$  до  $1865 \pm 133,3$   $\mu\text{м}^2$ , при этом ЯЦО экзокринных панкреатоцитов уменьшается у самок от  $0,3110 \pm 0,0010$  до  $0,1680 \pm 0,0008$  у.е., а у самцов – от  $0,3093 \pm 0,0010$  до  $0,1679 \pm 0,0011$  у.е.

С 4,5-месячного возраста в поджелудочной железе нутрий разрастается зрелая соединительная ткань, которая подвергается склерозу в 12-месячном возрасте, а также отмечается появление крупных островков белой жировой ткани. Протоковая система поджелудочной железы нутрий во всех возрастных периодах имеет типичное для млекопитающих строение.

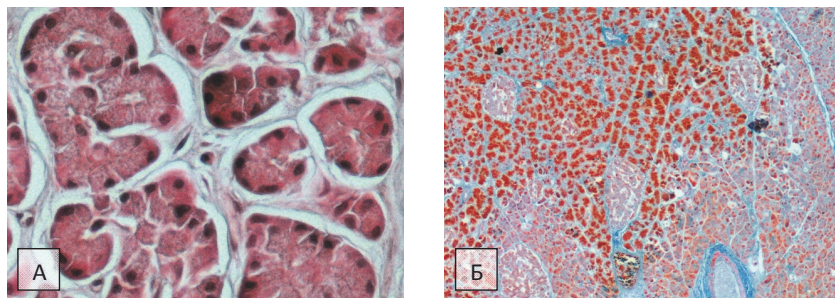


Рисунок 5 – Панкреатические ацинусы полигональной формы (А), асинхронный синтез зимогена в панкреатических дольках (Б). Самец, возраст 12 месяцев (А), самка, возраст 7,5 месяцев (Б). Окраска гематоксилином и эозином (А), окраска азокармином по Гейденгайну (Б). Ув.  $\times 400$  (А), ув.  $\times 40$

Количество островков в панкреатических дольках в 1-суточном возрасте у самцов составляет 3–6, а у самок – 2–3. В 2-месячном возрасте их количество у самцов уменьшается до 2–4, а у самок – увеличивается до 5–6. С 4,5-месячного возраста количество островков у самок и самцов нутрий составляет 2–3. В 1-суточном и 2-месячном возрасте у нутрий регистрируются деление островков за счет разрастания между ними стромального компонента и формированием новых клеточных групп. Площадь эндокринных островков у самок и самцов нутрий с возрастом изменяется волнообразно, имея минимальные значения в 1-суточном (у самок –  $5,941 \pm 0,410$   $\text{мм}^2$ ; у самцов –  $4,923 \pm 0,345$   $\text{мм}^2$ ) и 4,5-месячном возрасте (у самок –  $5,939 \pm 0,625$   $\text{мм}^2$ ; у самцов –  $4,850 \pm 0,452$   $\text{мм}^2$ ), а максимальные – в 12-месячном возрасте (у самок –  $12,620 \pm 1,415$   $\text{мм}^2$ ; у самцов –  $13,070 \pm 1,665$   $\text{мм}^2$ ).

ЯЦО инсулоцитов эндокринных островков у самок и самцов нутрий с 1 суток до 2 месяцев жизни увеличивается до своих максимальных значений (у самок –  $0,3221 \pm 0,0021$  у.е.; у самцов –  $0,3145 \pm 0,0006$  у.е.), а в последующие исследуемые возрастные периоды уменьшается и к 12-месячному возрасту достигает своего минимума (у самок –  $0,2757 \pm 0,0007$  у.е.; у самцов –  $0,2470 \pm 0,0006$  у.е.).

### 2.2.3. ПАРАМЕТРЫ ВНУТРИКЛЕТОЧНОГО МЕТАБОЛИЗМА ПАРЕНХИМАТОЗНЫХ ОРГАНОВ НУТРИЙ В ПОСТНАТАЛЬНОМ ОНТОГЕНЕЗЕ

В данном подразделе представлен количественный анализ содержания суммарного белка, ядерной ДНК, параметров активности AgNOR и экспрессии белка C23/нуклеолина в клетках сердца, легких, печени, почек и поджелудочной железы нутрий с учетом пола и возраста.

#### 2.2.3.1. Содержание суммарного белка в клетках сердца, легких, печени, почек и поджелудочной железы нутрий в различные возрастные периоды

При микроскопии гистологических препаратов паренхиматозных органов нутрий с реакцией на суммарные белки, с использованием водного сулемового раствора бромфенолового синего, белки в цитоплазме клеток имеют более светлые оттенки синего, а в ядрах – более темные (рисунок 6).

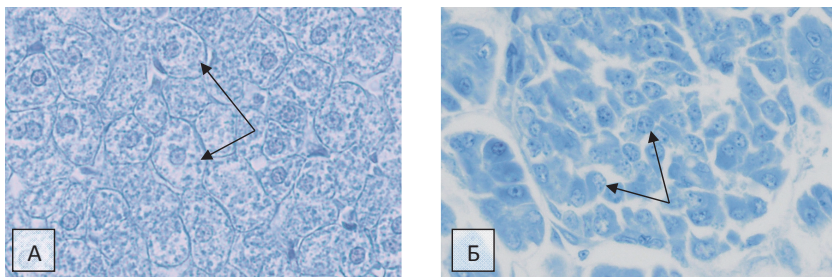


Рисунок 6 – Гепатоциты (А), инсулоциты (Б). Самка, возраст 4,5 месяца (А), самец, возраст 2 месяца (Б). Реакция с водным сулемовым раствором бромфенолового синего. Ув.  $\times 400$

Содержание суммарного белка в кардиомиоцитах нутрий, оцененное по оптической плотности интенсивности окраски гистохимической реакции с водным сулемовым раствором бромфенолового синего, в 1 сутки жизни имеет свои минимальные значения и до 4,5-месячного возраста у самок увеличивается с  $0,101 \pm 0,001$  до  $0,125 \pm 0,001$  у.е., а у самцов – с  $0,112 \pm 0,001$  до  $0,141 \pm 0,001$  у.е. В 7,5-месячном возрасте значение данного показателя несколько снижается и к 12 месяцам возрастает до своего максимума, составив у самок  $0,136 \pm 0,001$  у.е., а у самцов –  $0,147 \pm 0,001$  у.е. Во всех исследуемых возрастных группах содержание суммарного белка в кардиомиоцитах у самок было достоверно меньше в сравнении с самцами.

Оптическая плотность суммарного белка в клетках легочных альвеол у самок варьирует от  $0,0861 \pm 0,0004$  до  $0,0918 \pm 0,0004$  у.е., а у самцов – от  $0,0884 \pm 0,0006$  до  $0,1006 \pm 0,0008$  у.е., демонстрируя в 1-суточном и 12-месячном возрасте более высокие значения, а в 2, 4,5 и 7,5-месячном возрасте – более низкие.

В гепатоцитах максимальное увеличение суммарного белка у самцов наблюдается в возрасте 7,5 месяцев ( $0,189 \pm 0,001$  у.е.), а у самок – в 12 месяцев ( $0,191 \pm 0,002$  у.е.), при этом наиболее низкие значения этого показателя установлены в 2-месячном возрасте, составив  $0,150 \pm 0,001$  у.е. у самцов и  $0,154 \pm 0,001$  у.е. у самок.

При изучении возрастной динамики оптической плотности суммарного белка в клетках структур почек нутрий установлено, что средние значения данного показателя в клетках почечных клубочков варьируют от  $0,0852 \pm 0,0004$  до  $0,1557 \pm 0,0017$  у.е. и зависят от расположения органа и половой принадлежности особей. Минимальные значения исследуемого показателя были в правой почке самцов 1-суточного возраста, а максимальные – в аналогичной почке самцов 4,5-месячного возраста. В клетках проксимальных канальцев оптическая плотность суммарного белка находится в пределах от  $0,079 \pm 0,000$  до  $0,147 \pm 0,001$  у.е. Минимальные ее значения обнаружены в левой почке самок нутрий 1-суточного возраста, а максимальные – в правой почке самцов 4,5-месячного возраста. В дистальных канальцах диапазон средних значений данного параметра составил  $0,0709 \pm 0,0003$  –  $0,1170 \pm 0,0011$  у.е., с минимумом в правой почке самцов 1-суточного, а максимумом – 4,5-месячного возраста. Оптическая плотность суммарного белка в клетках собирательных протоков имеет минимальные средние значения в правой почке самцов 1-суточного возраста ( $0,0635 \pm 0,0002$  у.е.), а максимальные в правой почке самок 12-месячного возраста ( $0,0890 \pm 0,0008$  у.е.).

При анализе оптической плотности суммарного белка в клетках экзокринной и эндокринной части поджелудочной железы нутрий установлено, что значение данного показателя в экзокринных панкреатоцитах у самок и самцов в 1-суточном возрасте имеет свои минимальные значения, затем увеличивается до 4,5-месячного возраста и, с некоторым снижением в 7,5-месячном возрасте, достигает своего максимума в 12 месяцев жизни. В инсулоцитах оптическая плотность суммарного белка в 1-суточном возрасте имеет наименьшие значения и, увеличиваясь с возрастом, достигает максимума в 12 месяцев. Средние данные по оптической плотности суммарного белка в экзокринных панкреатоцитах у самок и самцов нутрий варьируют от  $0,108 \pm 0,001$  до  $0,156 \pm 0,001$  у.е. и от  $0,107 \pm 0,001$  до  $0,158 \pm 0,002$  у.е., а в инсулоцитах – от  $0,100 \pm 0,001$  до  $0,154 \pm 0,001$  у.е. и от  $0,108 \pm 0,001$  до  $0,146 \pm 0,001$  у.е. соответственно.

#### **2.2.3.2. Динамика содержания ядерной ДНК в клетках сердца, легких, печени, почек и поджелудочной железы нутрий в постнатальном онтогенезе**

В кардиомиоцитах оптическая плотность ядерной ДНК у самок и самцов нутрий в зависимости от возраста варьирует от  $0,451 \pm 0,003$  до  $0,511 \pm 0,003$  у.е. и от  $0,445 \pm 0,002$  до  $0,532 \pm 0,003$  у.е. соответственно. Минимальные значения данного показателя регистрируются в 2 месяца у самок и в 7,5 месяцев у самцов, а максимальные – в 4,5 месяца у самок и 1 сутки у самцов.

Оптическая плотность ядерной ДНК в клетках легочных альвеол у самок находится в пределах от  $0,398 \pm 0,003$  до  $0,481 \pm 0,004$  у.е., а у самцов – от  $0,378 \pm 0,003$  до  $0,456 \pm 0,003$  у.е. Наименьшие средние значения данного показателя у особей обоего пола выявлены в 7,5 месяцев жизни, а наибольшие – у 1-суточных самок и 12-месячных самцов.

При изучении возрастной динамики оптической плотности ядерной ДНК в гепатоцитах нутрий выяснено, что минимальные средние значения данного показателя у самок и самцов регистрируются в 7,5-месячном возрасте, составив  $0,378 \pm 0,002$  и  $0,353 \pm 0,002$  у.е. соответственно, а максимальные – в 4,5 месяца у самок ( $0,410 \pm 0,002$  у.е.) и в 1 сутки жизни у самцов ( $0,395 \pm 0,002$  у.е.).

При анализе оптической плотности ядерной ДНК в клетках структур почек нутрий установлено, что значение данного показателя в постнатальном онтогенезе изменяется с различной периодичностью и зависит от пола и расположения почек, варьируя в клетках почечных клубочков от  $0,348 \pm 0,002$  до  $0,444 \pm 0,003$  у.е., проксимальных канальцев – от  $0,363 \pm 0,002$  до  $0,440 \pm 0,003$  у.е., дистальных канальцев – от  $0,434 \pm 0,002$  до  $0,523 \pm 0,003$  у.е. и собирательных протоков – от  $0,393 \pm 0,002$  до  $0,537 \pm 0,002$  у.е. Следует отметить, что в клетках почечных клубочков наименьшая оптическая плотность ядерной ДНК выявлена в правой почке самцов 1-суточного возраста, проксимальных канальцев – в правой почке самок 1-суточного возраста, дистальных канальцев – в правой почке самок 4,5-месячного возраста и собирательных протоков – в правой почке самцов 2-месячного возраста. Наибольшие значения данного показателя в клетках почечных клубочков регистрируются в левой почке самцов 7,5-месячного возраста, проксимальных канальцев – в левой почке самок 4,5-месячного возраста, дистальных канальцев – в левой почке самцов 7,5-месячного возраста и собирательных протоков – в левой почке самцов 1-суточного возраста.

Анализ оптической плотности ядерной ДНК в клетках экзокринной и эндокринной частей поджелудочной железы нутрий показал, что в экзокринных панкреатоцитах среднее значение данного показателя у самок и самцов составляет от  $0,376 \pm 0,002$  до  $0,423 \pm 0,003$  у.е. и  $0,390 \pm 0,003$  до  $0,431 \pm 0,002$  у.е., а в инсулоцитах – от  $0,376 \pm 0,0028$  до  $0,408 \pm 0,002$  у.е. и от  $0,388 \pm 0,003$  до  $0,431 \pm 0,002$  у.е. соответственно. Минимальная оптическая плотность ядерной ДНК в экзокринных панкреатоцитах у самок нутрий наблюдается в возрасте 1 суток, а у самцов – в возрасте 2 месяцев, при этом максимальные средние значения данного показателя у особей обоего пола выявлены в возрасте 4,5 месяцев. В инсулоцитах минимальная оптическая плотность ядерной ДНК у нутрий обоего пола регистрируется в 2-месячном, а максимальная – в 4,5-месячном возрасте.

Таким образом, содержание ядерной ДНК в клетках паренхиматозных органов нутрий не является статичной величиной и подвержено половым и возрастным изменениям, демонстрируя цикличность синтеза генетического материала (рисунок 7).

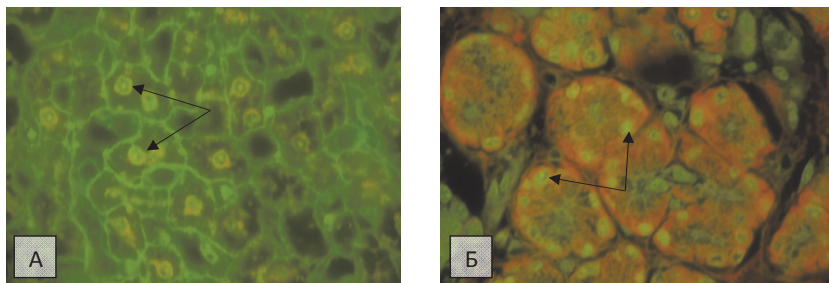


Рисунок 7 – Ядра гепатоцитов (А), экзокринных панкреатоцитов (Б).  
 Самец, возраст 7,5 месяцев (А), самец, возраст 2 месяца (Б).  
 Окраска раствором акридинового оранжевого  
 (двумерная флуоресцентная микроскопия). Ув.  $\times 1000$

### 2.2.3.3. Параметры активности областей ядрышковых организаторов в клетках сердца, легких, печени, почек и поджелудочной железы нутрий в зависимости от пола и возраста

AgNOR в кардиомиоцитах, гепатоцитах, клетках легочных альвеол, экзокринных панкреатоцитах, а также клетках почечных клубочков, проксимальных канальцев, дистальных канальцев и собирательных протоков правой и левой почек нутрий расположены в центре или на периферии ядра и имеют преимущественно округлую или близкую к ней форму, а их количество находится в пределах от 1 до 2, при этом 2 зоны AgNOR встречаются намного реже (рисунок 8). В инсулоцитах нутрий AgNOR имеет аналогичную форму, но находится в пределах от 1 до 5. Половозрастные различия по их количеству, выявленные в кардиомиоцитах, гепатоцитах, клетках проксимальных канальцев и собирательных протоков, а также в экзокринных панкреатоцитах и инсулоцитах, можно объяснить, согласно сведениям М. Н. Soonpraа et al. (1996), F. Li et al. (1997) и Ю. С. Ченцова (2004), способностью ядрышковых организаторов разных хромосом сливаться при новообразовании ядрышек в процессе митоза в одну общую структуру.

Числовые значения суммарной площади и доли суммарной площади AgNOR от общей площади ядра клеток паренхиматозных органов нутрий имеют выраженную зависимость от пола и возраста.

Суммарная площадь AgNOR в кардиомиоцитах у самок нутрий с 1 суток и до 12 месяцев жизни увеличивается с  $1,890 \pm 0,021$  до  $2,353 \pm 0,024$   $\mu\text{m}^2$ , а у самцов – с  $1,729 \pm 0,022$  до  $2,606 \pm 0,026$   $\mu\text{m}^2$ . Однако доля суммарной площади AgNOR от общей площади ядра кардиомиоцитов с возрастом изменяется волнообразно, имея в 7,5-месячном возрасте минимальные значения как у самок ( $0,0441 \pm 0,0014$  у.е.), так и у самцов ( $0,0407 \pm 0,0005$  у.е.). Максимальные средние значения исследуемого показателя у самок выявлены в 1-суточном ( $0,0541 \pm 0,0033$  у.е.), а у самцов – в 4,5-месячном возрасте ( $0,0628 \pm 0,0019$  у.е.).

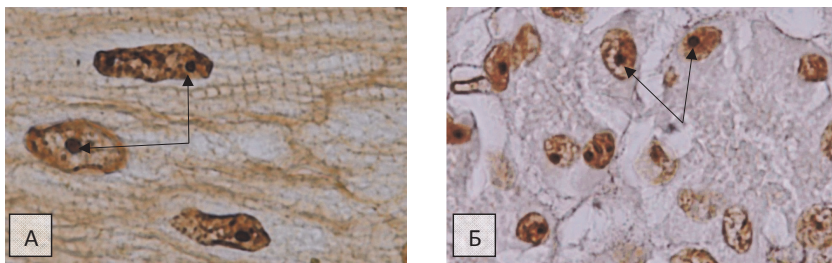


Рисунок 8 – AgNOR в кардиомиоцитах (А), в экзокринных панкреатоцитах (Б). Самка, возраст 7,5 месяцев (А), самец, возраст 4,5 месяца (Б). Импрегнация серебром. Ув.  $\times 1000$

В клетках легочных альвеол суммарная площадь AgNOR у самок и самцов имеет минимальные значения в 1-суточном ( $0,745 \pm 0,010 \text{ мкм}^2$ ) и в 12-месячном возрасте ( $0,800 \pm 0,017 \text{ мкм}^2$ ), а максимальные – в 4,5-месячном ( $0,929 \pm 0,016 \text{ мкм}^2$ ) и 2-месячном возрасте ( $0,968 \pm 0,017 \text{ мкм}^2$ ) соответственно. Доля суммарной площади AgNOR от общей площади ядра клеток легочных альвеол демонстрирует минимум у самок и самцов в 1-суточном возрасте, составив  $0,0402 \pm 0,0001$  и  $0,0434 \pm 0,0001$  у.е., а максимум – у самок в 7,5-месячном ( $0,0475 \pm 0,0002$  у.е.) и у самцов в 4,5-месячном возрасте ( $0,0509 \pm 0,0004$  у.е.) соответственно.

В гепатоцитах суммарная площадь AgNOR у самок варьирует от  $2,529 \pm 0,026$  до  $3,177 \pm 0,033 \text{ мкм}^2$ , а у самцов – от  $2,441 \pm 0,024$  до  $3,108 \pm 0,027 \text{ мкм}^2$ . Минимальные средние значения данного показателя регистрируются у особей обоего пола в 4,5-месячном возрасте, а максимальные – у 2-месячных самок и 12-месячных самцов. Доля суммарной площади AgNOR от общей площади ядра гепатоцитов находится у самок в диапазоне от  $0,086 \pm 0,001$  до  $0,101 \pm 0,001$  у.е., а у самцов – от  $0,087 \pm 0,001$  до  $0,106 \pm 0,001$  у.е. Наименьшие ее значения выявлены у самок в 7,5-месячном и у самцов в 4,5-месячном возрасте, а наибольшие – у особей обоего пола в 2-месячном возрасте.

Суммарная площадь AgNOR в клетках почечных клубочков нутрий находится в пределах от  $0,416 \pm 0,009$  до  $0,607 \pm 0,015 \text{ мкм}^2$ . Минимальные значения данного показателя выявлены в правой почке у самок и в левой почке самцов 1-суточного возраста, а максимальные – в левой почке у особей обоего пола в 4,5 месяца жизни. Доля суммарной площади AgNOR от общей площади ядра клеток почечных клубочков с возрастом изменяется волнообразно и находится в пределах от  $0,024 \pm 0,001$  до  $0,031 \pm 0,002$  у.е.

При анализе суммарной площади AgNOR в клетках проксимальных канальцев почек нутрий установлено, что средние ее значения варьируют от  $0,807 \pm 0,018$  до  $1,302 \pm 0,024 \text{ мкм}^2$ . Минимальные значения этого параметра выявлены в правой почке у самок и левой почке у самцов 1-суточного возраста, а максимальные – в левой почке 12-месячных самок и правой почке 4,5-месячных самцов. Доля суммарной площади AgNOR от общей



площади ядра клеток проксимальных канальцев находится в пределах от  $0,049 \pm 0,001$  до  $0,090 \pm 0,002$  у.е. Минимальные ее значения регистрируются в правой почке у самок и левой почке у самцов 1-суточного возраста, а максимальные – в левой почке у 2-месячных самок и правой почке 7,5-месячных самцов.

В клетках дистальных канальцев почек нутрий средние значения суммарной площади AgNOR находятся в диапазоне от  $0,619 \pm 0,015$  до  $0,991 \pm 0,023$  мкм<sup>2</sup>, с минимумом в правой почке у самок и левой почке у самцов в 1-суточном возрасте. Свой максимум они демонстрируют у самок в правой почке, а у самцов как в левой, так и в правой почке в возрасте 2 месяцев. Доля суммарной площади AgNOR от общей площади ядра клеток дистальных канальцев варьирует от  $0,038 \pm 0,001$  до  $0,067 \pm 0,002$  у.е. Наименьшие ее значения регистрируются в левой почке у самок и левой почке у самцов в 1 сутки, а наибольшие – в правой почке 4,5-месячных самок и 2-месячных самцов.

Суммарная площадь AgNOR в клетках собирательных протоков варьирует от  $0,649 \pm 0,011$  до  $1,086 \pm 0,018$  мкм<sup>2</sup>, проявляя минимальные значения в правой почке у самок и левой почке у самцов 1-суточного возраста, а максимальные – в левой почке 7,5-месячных самок и 4,5-месячных самцов. Доля суммарной площади AgNOR от общей площади ядра клеток собирательных протоков составила  $0,035 \pm 0,001$  –  $0,066 \pm 0,001$  у.е. Наименьшие ее значения выявлены в почках у особей обоего пола в 1-суточном, а наибольшие – в 4,5-месячном возрасте.

При изучении параметров активности AgNOR в клетках поджелудочной железы нутрий установлено, что в экзокринных панкреатоцитах с 1 суток до 12 месяцев жизни у самок она уменьшается с  $2,254 \pm 0,021$  до  $1,394 \pm 0,021$  мкм<sup>2</sup>, а у самцов – с  $2,185 \pm 0,027$  до  $1,317 \pm 0,016$  мкм<sup>2</sup>. Доля суммарной площади AgNOR от общей площади ядра экзокринных панкреатоцитов с возрастом у самок имеет тенденцию к снижению с  $0,090 \pm 0,001$  до  $0,075 \pm 0,001$  у.е., а у самцов – с  $0,087 \pm 0,001$  до  $0,067 \pm 0,001$  у.е.

В инсулоцитах суммарная площадь AgNOR с возрастом изменяется волнообразно, находясь у самок в пределах от  $1,057 \pm 0,023$  до  $1,385 \pm 0,021$  мкм<sup>2</sup>, с минимумом в 1-суточном и максимумом в 4,5-месячном возрасте. У самцов этот параметр варьирует от  $1,112 \pm 0,025$  до  $1,472 \pm 0,021$  мкм<sup>2</sup>, с минимумом в 2-месячном и максимумом в 7,5-месячном возрасте. Доля суммарной площади AgNOR от общей площади ядра инсулоцитов имеет схожую возрастную динамику, варьируя у самок от  $0,050 \pm 0,001$  до  $0,072 \pm 0,002$  у.е., а у самцов – от  $0,055 \pm 0,001$  до  $0,073 \pm 0,002$  у.е.

#### **2.2.3.4. Экспрессия нуклеолина в клетках сердца, легких, печени, почек и поджелудочной железы нутрий в различные периоды постнатального развития**

При иммуногистохимическом выявлении белка С23/нуклеолина в клетках паренхиматозных органов нутрий в различные периоды постнатального онтогенеза продукт реакции интенсивно и равномерно окрашен в различные оттенки коричневого цвета (рисунки 9).

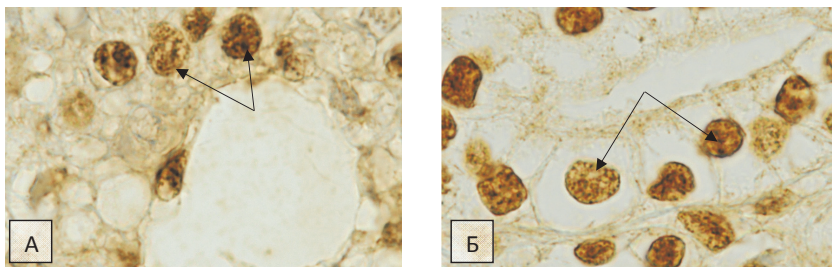


Рисунок 9 – Иммунопозитивные структуры белка C23/нуклеолина. В клетках легочных альвеол (А), в клетках собирательных протоков левой почки (Б). Самка, возраст 4,5 месяца (А), самец, возраст 1 сутки (Б). ИГХ-реакция. Ув.  $\times 1000$

Анализ экспрессии белка C23/нуклеолина в кардиомиоцитах нутрий показал (таблица 4), что оптическая плотность иммунопозитивных структур белка C23/нуклеолина в кардиомиоцитах имеет свои наименьшие значения у особей обоего пола в 1-суточном возрасте и достигает максимума у самок в 7,5 месяцев, а у самцов – в 2 месяца жизни. Отношение суммарной площади иммунопозитивных структур белка C23/нуклеолина к суммарной площади кардиомиоцитов в 1-суточном и 2-месячном возрасте больше, чем в последующих возрастных группах. Коэффициент экспрессии белка C23/нуклеолина в кардиомиоцитах с 1 суток до 2 месяцев жизни увеличивается до своих максимальных значений, с последующим снижением до минимума у самок в 4,5-месячном, а у самцов – в 7,5-месячном возрасте.

Таблица 4 – Параметры экспрессии белка C23/нуклеолина в кардиомиоцитах нутрий разного пола и возраста, у.е.

| Пол   | Возрастные группы, М $\pm$ m   |                                 |                                 |                                 |                                 |
|---|--------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
|   | 1 сутки                        | 2 месяца                        | 4,5 месяца                      | 7,5 месяцев                     | 12 месяцев                      |
| Оптическая плотность иммунопозитивных структур белка C23/нуклеолина в клетках                         |                                |                                 |                                 |                                 |                                 |
| Самка (n=30)  | 0,201 $\pm$ 0,002 <sup>#</sup> | 0,248 $\pm$ 0,002 <sup>#*</sup> | 0,230 $\pm$ 0,003 <sup>#*</sup> | 0,293 $\pm$ 0,004 <sup>#*</sup> | 0,282 $\pm$ 0,004 <sup>#*</sup> |
| Самец (n=30)  | 0,211 $\pm$ 0,002              | 0,313 $\pm$ 0,003 <sup>*</sup>  | 0,297 $\pm$ 0,004 <sup>*</sup>  | 0,252 $\pm$ 0,004 <sup>*</sup>  | 0,266 $\pm$ 0,003 <sup>*</sup>  |
| Отношение суммарной площади иммунопозитивных структур белка C23/нуклеолина к суммарной площади клеток |                                |                                 |                                 |                                 |                                 |
| Самка (n=30)  | 0,064 $\pm$ 0,002              | 0,064 $\pm$ 0,003               | 0,032 $\pm$ 0,002 <sup>*</sup>  | 0,032 $\pm$ 0,005               | 0,026 $\pm$ 0,002               |
| Самец (n=30)  | 0,053 $\pm$ 0,002              | 0,062 $\pm$ 0,003               | 0,029 $\pm$ 0,002 <sup>*</sup>  | 0,029 $\pm$ 0,002               | 0,036 $\pm$ 0,013               |
| Коэффициент экспрессии белка C23/нуклеолина в клетках   |                                |                                 |                                 |                                 |                                 |
| Самка (n=30)  | 1,275 $\pm$ 0,045              | 1,600 $\pm$ 0,101               | 0,734 $\pm$ 0,046 <sup>*</sup>  | 0,938 $\pm$ 0,147               | 0,750 $\pm$ 0,052               |
| Самец (n=30)  | 1,112 $\pm$ 0,046              | 1,923 $\pm$ 0,087 <sup>*</sup>  | 0,874 $\pm$ 0,061 <sup>*</sup>  | 0,742 $\pm$ 0,0545              | 0,966 $\pm$ 0,340               |

*Примечание.* Достоверные различия при  $p < 0,05$  обозначены: у каждой возрастной группы в сравнении с предшествующей – \*; у самок в сравнении с самцами из одной возрастной группы – #.

В клетках легочных альвеол оптическая плотность иммунопозитивных структур белка С23/нуклеолина у самок находится в пределах от  $0,448 \pm 0,012$  до  $0,565 \pm 0,008$  у.е., а у самцов – от  $0,503 \pm 0,005$  до  $0,573 \pm 0,008$  у.е. Наименьшие ее значения выявлены у 2-месячных самок и 1-суточных самцов, а наибольшие – у 12-месячных самок и 4,5-месячных самцов. Отношение суммарной площади иммунопозитивных структур белка С23/нуклеолина к суммарной площади клеток легочных альвеол у самок варьирует от  $0,129 \pm 0,005$  до  $0,189 \pm 0,006$  у.е., а у самцов – от  $0,139 \pm 0,009$  до  $0,189 \pm 0,006$  у.е. Минимальные значения этого показателя регистрируются у 7,5-месячных самок и 12-месячных самцов, а максимальные – у особей обоего пола в возрасте 1 суток. Коэффициент экспрессии белка С23/нуклеолина в клетках легочных альвеол у самок находится в пределах от  $6,558 \pm 0,3063$  до  $9,807 \pm 0,466$  у.е., а у самцов – от  $7,516 \pm 0,242$  до  $9,528 \pm 0,315$  у.е. Минимальные его значения регистрируются у 4,5-месячных самок и у 2-месячных самцов, а максимальные – у 2-месячных самок и у 1-суточных самцов.

В гепатоцитах нутрий оптическая плотность иммунопозитивных структур белка С23/нуклеолина в 1 сутки жизни у самок и самцов имеет наименьшие значения ( $0,209 \pm 0,002$  и  $0,237 \pm 0,003$  у.е.), а наибольшие – в 4,5 месяца ( $0,421 \pm 0,004$  и  $0,320 \pm 0,003$  у.е.). Отношение суммарной площади иммунопозитивных структур белка С23/нуклеолина к суммарной площади гепатоцитов имеет наименьшие значения у 4,5-месячных самок ( $0,038 \pm 0,002$  у.е.) и 2-месячных самцов ( $0,033 \pm 0,002$  у.е.), а наибольшие – у 7,5-месячных самок ( $0,048 \pm 0,002$  у.е.) и 1-суточных самцов ( $0,059 \pm 0,002$  у.е.). Коэффициент экспрессии белка С23/нуклеолина в гепатоцитах у самок имел минимальные значения в 1-суточном возрасте ( $0,958 \pm 0,039$  у.е.), а у самцов – в 2 месяца ( $1,063 \pm 0,089$  у.е.), при этом его максимальные значения выявлены в 4,5-месячном возрасте как у самок ( $1,592 \pm 0,069$  у.е.), так и у самцов ( $1,706 \pm 0,069$  у.е.).

В клетках почечных клубочков оптическая плотность иммунопозитивных структур белка С23/нуклеолина у самок варьирует от  $0,386 \pm 0,009$  до  $0,514 \pm 0,016$  у.е., а у самцов – от  $0,371 \pm 0,008$  до  $0,534 \pm 0,009$  у.е. Минимальные ее значения регистрируются в правой почке 1-суточных самок и в левой почке 7,5-месячных самцов, а максимальные – в правой почке 12-месячных самок и 7,5-месячных самцов. Отношение суммарной площади иммунопозитивных структур белка С23/нуклеолина к суммарной площади клеток почечных клубочков находится у самок в пределах от  $0,079 \pm 0,004$  до  $0,199 \pm 0,003$  у.е., а у самцов – от  $0,074 \pm 0,004$  до  $0,212 \pm 0,011$  у.е. Наибольшие ее значения регистрируются в левой почке у особей обоего пола в 1-суточном возрасте, а наименьшие – в левой почке у самок и в правой почке самцов 7,5-месячного возраста. Коэффициент экспрессии белка С23/нуклеолина в клетках почечных клубочков имеет максимальные значения у самок и самцов 1-суточного возраста в левой почке, составив  $10,170 \pm 0,173$  и  $8,928 \pm 0,492$  у.е. соответственно, а минимальные – в левой почке 7,5-месячных самок ( $3,098 \pm 0,190$  у.е.) и в правой почке 4,5-месячных самцов ( $3,266 \pm 0,194$  у.е.).

В клетках проксимальных канальцев почек нутрий оптическая плотность иммунопозитивных структур белка C23/нуклеолина у самок находится в диапазоне от  $0,238 \pm 0,005$  до  $0,442 \pm 0,009$  у.е., а у самцов – от  $0,223 \pm 0,003$  до  $0,440 \pm 0,006$  у.е. Минимальные ее значения регистрируются в правой почке 1-суточных самок и 2-месячных самцов, а максимальные – в левой почке 1-суточных самок и правой почке 7,5-месячных самцов. Отношение суммарной площади иммунопозитивных структур белка C23/нуклеолина к суммарной площади клеток проксимальных канальцев имеет минимальные значения в левой почке самок ( $0,055 \pm 0,003$  у.е.) и правой почке самцов ( $0,059 \pm 0,005$  у.е.) 12-месячного возраста, а максимальные в левой почке самок ( $0,137 \pm 0,005$  у.е.) и самцов ( $0,158 \pm 0,008$  у.е.) 1-суточного возраста. Коэффициент экспрессии белка C23/нуклеолина в клетках проксимальных канальцев имеет самые высокие значения в левой почке у самок ( $6,088 \pm 0,285$  у.е.) и самцов ( $4,789 \pm 0,230$  у.е.) 1-суточного возраста, а самые низкие – в левой почке 12-месячных самок ( $1,557 \pm 0,083$  у.е.) и в правой почке 2-месячных самцов ( $1,613 \pm 0,034$  у.е.).

В клетках дистальных канальцев почек нутрий оптическая плотность иммунопозитивных структур белка C23/нуклеолина у самок варьирует от  $0,222 \pm 0,005$  до  $0,450 \pm 0,006$ , а у самцов – от  $0,215 \pm 0,006$  до  $0,435 \pm 0,009$  у.е. Минимальные значения этого показателя выявлены в левой почке 7,5-месячных самок и в правой почке 2-месячных самцов, а максимальные – в левой почке у особей обоего пола в возрасте 2 месяцев. Отношение суммарной площади иммунопозитивных структур белка C23/нуклеолина к суммарной площади клеток дистальных канальцев у самок находится в пределах от  $0,143 \pm 0,006$  до  $0,312 \pm 0,007$  у.е., а у самцов – от  $0,123 \pm 0,007$  до  $0,273 \pm 0,009$  у.е. Минимальные значения этого показателя выявлены в правой почке у особей обоего пола 4,5-месячного, а максимальные – в левой почке нутрий 1-суточного возраста. Коэффициент экспрессии белка C23/нуклеолина в клетках дистальных канальцев имеет свои наименьшие значения в левой почке 7,5-месячных самок ( $3,251 \pm 0,125$  у.е.) и в правой почке 2-месячных самцов ( $2,728 \pm 0,093$  у.е.), а наивысшие – в левой почке 1-суточных особей, составив  $14,050 \pm 0,401$  у.е. для самок и  $10,630 \pm 0,361$  у.е. для самцов.

В клетках собирательных протоков почек нутрий оптическая плотность иммунопозитивных структур белка C23/нуклеолина у самок варьирует от  $0,351 \pm 0,007$  до  $0,601 \pm 0,011$  у.е., а у самцов – от  $0,355 \pm 0,006$  до  $0,620 \pm 0,017$  у.е. Минимальные значения данного показателя выявлены в правой почке у 1-суточных самок и левой почке 1-суточных самцов, а максимальные – в правой почке 2-месячных самок и 7,5-месячных самцов. Отношение суммарной площади иммунопозитивных структур белка C23/нуклеолина к суммарной площади клеток собирательных протоков имеет наиболее низкие значения в правой почке 7,5-месячных самок ( $0,141 \pm 0,004$  у.е.) и 12-месячных самцов ( $0,145 \pm 0,007$  у.е.), а самые высокие – в правой почке 1-суточных самок ( $0,229 \pm 0,009$  у.е.) и обеих почках 2-месячных самцов ( $0,209 \pm 0,034$  и  $0,209 \pm 0,010$  у.е.). Коэффици-

ент экспрессии белка С23/нуклеолина в клетках собирательных протоков у самок варьирует от  $6,094 \pm 0,293$  до  $10,810 \pm 0,420$  у.е., а у самцов – от  $6,120 \pm 0,182$  до  $10,990 \pm 0,428$  у.е. Свой максимум значение данного показателя демонстрирует в правой почке 2-месячных самок и 7,5-месячных самцов, а минимум – в левой почке самок и правой почке самцов 7,5-месячного возраста.

В экзокринных панкреатоцитах нутрий оптическая плотность иммунопозитивных структур белка С23/нуклеолина имеет минимальное значение у 12-месячных самок ( $0,500 \pm 0,005$  у.е.) и 1-суточных самцов ( $0,441 \pm 0,004$  у.е.), а максимальное – у 1-суточных самок ( $0,692 \pm 0,008$  у.е.) и 2-месячных самцов ( $0,732 \pm 0,009$  у.е.). Отношение суммарной площади иммунопозитивных структур белка С23/нуклеолина к суммарной площади экзокринных панкреатоцитов находится на минимуме у 12-месячных самок ( $0,062 \pm 0,003$  у.е.) и 7,5-месячных самцов ( $0,065 \pm 0,005$  у.е.), а на максимуме – у 1-суточных самок ( $0,167 \pm 0,008$  у.е.) и самцов ( $0,163 \pm 0,004$  у.е.). Коэффициент экспрессии белка С23/нуклеолина в экзокринных панкреатоцитах был наименьшим у 12-месячных ( $3,113 \pm 0,177$  у.е.) самок и 7,5-месячных самцов ( $4,280 \pm 0,326$  у.е.), а наибольшим – у 1-суточных самок ( $11,540 \pm 0,546$  у.е.) и 2-месячных самцов ( $10,830 \pm 0,460$  у.е.).

В инсулоцитах нутрий самые низкие значения оптической плотности иммунопозитивных структур белка С23/нуклеолина обнаружены у 4,5-месячных самок ( $0,404 \pm 0,006$  у.е.) и 2-месячных самцов ( $0,415 \pm 0,0063$  у.е.), а наиболее высокие – у 1-суточных особей, составив  $0,573 \pm 0,008$  у.е. для самок и  $0,602 \pm 0,011$  у.е. для самцов. Отношение суммарной площади иммунопозитивных структур белка С23/нуклеолина к суммарной площади инсулоцитов имеет минимальные значения у 2-месячных самок ( $0,108 \pm 0,005$  у.е.) и 4,5-месячных самцов ( $0,102 \pm 0,005$  у.е.), а максимальные – у 1-суточных самок ( $0,171 \pm 0,005$  у.е.) и 12-месячных самцов ( $0,165 \pm 0,007$  у.е.). Коэффициент экспрессии белка С23/нуклеолина в инсулоцитах у самок нутрий варьирует от  $4,841 \pm 0,212$  до  $9,776 \pm 0,310$  у.е., а у самцов – от  $5,213 \pm 0,107$  до  $9,820 \pm 0,449$  у.е. Наименьшие его значения у самок и самцов регистрируются в возрасте 4,5 и 2 месяцев, а наибольшие – в 1 сутки и 12 месяцев жизни соответственно.

Таким образом, различия между возрастной динамикой оптической плотности иммунопозитивных структур белка С23/нуклеолина в клетках и отношением суммарной площади иммунопозитивных структур белка С23/нуклеолина к их суммарной площади дают основание полагать, что белок С23/нуклеолин в клетках паренхиматозных органов нутрий в постнатальном онтогенезе имеет различную плотность распределения. Коэффициент экспрессии белка С23/нуклеолина с возрастом изменяется и зависит от половой принадлежности животных, а в почках – еще и от расположения органа.

### 3. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные исследования показывают высокую степень вариабельности по половозрастному признаку изученных у нутрий морфофункциональных показателей крови и паренхиматозных органов, таких как сердце, легкие, печень, почки и поджелудочная железа.

Представленные новые данные гематологических параметров и биохимических показателей сыворотки крови позволили отразить этапы формирования эритро- и миелопоэтической системы, потребность тканей в кислороде, периодичность активации звеньев гуморального и клеточного иммунитета, а также динамичность процессов становления гомеостаза в постнатальном онтогенезе этого вида животных.

Впервые полученные сведения о параметрах активности AgNOR в лимфоцитах позволили отследить у самок и самцов нутрий возрастную периодичность фаз активности этих клеток, характеризующих неспецифическую иммунную защиту их организма.

Исследованиями доказано, что морфогенез сердца, легких, печени, почек и поджелудочной железы нутрий после рождения не завершен и в постнатальном онтогенезе проявляет разную степень сформированности тех или иных структурных компонентов тканей органа, демонстрируя ряд видовых особенностей, проявляя, в том числе, и комплекс половых различий. Выявлено, что сердце нутрий на ранних этапах постнатального онтогенеза сформировано, миокард имеет типичное строение, но имеет неразвитый сосудисто-стромальный компонент и саркоплазму. В постнатальном развитии легких у нутрий впервые показаны видоспецифические особенности формирования альвеол, бронхиального дерева и БАЛТ-системы. При изучении морфогенеза печени установлен как комплекс возрастных особенностей, так и половые различия в формировании печеночных балок и центральных вен, распределении «резервных» и многоядерных гепатоцитов. Углубленный морфологический анализ структур почек и их клеток у нутрий объективно отражает их функциональную роль в различные периоды постнатального онтогенеза. Впервые в экзокринной части поджелудочной железы выявлено возрастное увеличение площади и изменение формы панкреатических ацинусов, а также количественного состава экзокринных панкреатоцитов, содержания в них гранул зимогена и распределения активности синтеза профермента. В эндокринной части поджелудочной железы прослеживаются этапы дифференцировки и изменение средних значений площади эндокринных островков и количества в них инсулоцитов.

Содержание ядерной ДНК в клетках паренхиматозных органов нутрий разных половозрастных групп впервые дает представление о динамике активности в них синтеза генетического материала.

Впервые изученная активность AgNOR в кардиомиоцитах, клетках легочных альвеол, гепатоцитах, клетках структур почек, а также экзокринных панкреатоцитах и инсулоцитах, как одного из базовых маркеров белково-синтетической функции клетки, позволила выявить возрастные

пики активации синтеза рРНК, что в параллели с новыми данными о содержании суммарного белка и параметрами экспрессии белка С23/нуклеолина дает объективное представление о характере и направленности белкового метаболизма в тканях паренхиматозных органов нутрий в половозрастном аспекте. При этом разработанный способ количественной оценки экспрессии белка С23/нуклеолина в гистологических препаратах предполагает возможность объективно оценивать его содержание в различных клетках.

Проведенные морфологические исследования паренхиматозных органов, а также оценка в их клетках содержания суммарного белка, ядерной ДНК, активности AgNOR и экспрессии нуклеолина объективно демонстрируют половые и возрастные изменения в организме нутрий на молекулярном, клеточном, тканевом и органном уровне.

Данная диссертационная работа способствует решению научной проблемы о различиях в онтогенезе зрело- и незрелорождающихся грызунов и влиянии на него полуводного образа жизни, а также способствует пониманию связанности изменений различных систем организма нутрий в период постнатального развития.

### **Выводы**

1. Количество лейкоцитов и эритроцитов в крови нутрий находится на минимуме в 2-месячном, а на максимуме – в 12-месячном возрасте. Уровень гемоглобина имеет минимальные значения в 2-месячном, а максимальные – в 1-суточном возрасте. В 4,5-месячном возрасте определяется самый низкий уровень гематокрита, а самый высокий – в 1-суточном возрасте. В возрастной период от 1 суток и до 2 месяцев у нутрий происходит «физиологический перекрест» лейкоцитарного профиля крови с нейтрофильного на лимфоцитарный. В период относительного снижения нейтрофилов в крови (4,5 и 7,5 месяцев) наблюдается повышение содержания моноцитов. Базофилы в крови нутрий регистрируются только в возрасте 7,5 месяцев. Расчет эритроцитарных и лейкоцитарных индексов показал, что их средние значения с возрастом изменяются волнообразно, проявляя разную степень достоверных различий в зависимости от половой принадлежности.

2. Биохимические показатели, в частности содержание продуктов азотистого метаболизма, уровень общего белка и билирубина с учетом их фракций и коэффициентов, а также концентрация глюкозы, липидов, электролитов и активность ферментов в сыворотке крови у нутрий изменяются с различной периодичностью и обуславливаются полом и возрастом.

3. Зоны AgNOR в лимфоцитах нутрий имеют округлую, реже овальную форму и располагаются в центре или ближе к периферии ядра, а их количество варьирует от 1 до 2, при этом 2 зоны AgNOR чаще регистрируются в 1-суточном и 2-месячном возрасте. Суммарная площадь AgNOR в лимфоцитах находится в пределах от  $2,959 \pm 0,126$  до  $5,969 \pm 0,331$   $\mu\text{м}^2$ ,

изменяясь в зависимости от пола и возраста. Доля суммарной площади AgNOR от общей площади ядра лимфоцитов с возрастом варьирует от  $0,056 \pm 0,003$  до  $0,088 \pm 0,007$  у.е.

4. Абсолютная масса сердца у самок и самцов нутрий с 1 суток до 12 месяцев жизни увеличивается в 10,10 и 14,07 раза соответственно, а относительная масса в аналогичный возрастной период имеет выраженную тенденцию к снижению. В 1-суточном возрасте кардиомиоциты имеют рыхлое расположение, а 2-месячном возрасте имеют параллельную ориентацию. В 2-месячном возрасте появляются вставочные диски, и начинает проявляться поперечная исчерченность, которая становится хорошо выраженной только в 7,5-месячном возрасте. В 12-месячном возрасте все структурные компоненты миокарда дифференцированы. ЯЦО кардиомиоцитов у самок в период от 1 суток до 12 месяцев жизни уменьшается с  $0,065 \pm 0,005$  до  $0,019 \pm 0,002$  у.е., а у самцов – с  $0,074 \pm 0,004$  до  $0,019 \pm 0,002$  у.е.

5. Легкие у самок и самцов нутрий с 1 суток до 12 месяцев жизни в абсолютной массе увеличиваются в 7,95 и 11,98 раза, а в относительной – уменьшаются в 3,35 и 2,71 раза соответственно. В возрасте 1 суток раскрытие альвеол у нутрий имеет зональный характер, определяется большее количество пневмоцитов II типа. В бронхах среднего калибра 1-суточных нутрий отсутствует сформированный гиалиновый хрящ, развитие которого завершается только к 7,5-месячному возрасту, и он начинает перестраиваться в эластический хрящ. Во всех исследуемых возрастных периодах у нутрий не выявлены белково-слизистые железы в бронхах всех калибров. В возрасте 2 месяцев в легочной паренхиме у нутрий появляются мегакариоциты и начинает формироваться БАЛТ-система.

6. Абсолютная масса печени у самок и самцов нутрий с 1 суток до 12 месяцев жизни увеличивается в 28,33 и 38,69 раза, в то время как относительная масса с 1 суток до 2-месячного возраста возрастает в 1,72 и 2,22 раза, имея в последующие возрастные периоды тенденцию к снижению или носит волнообразный характер. В 1-суточном возрасте регистрируется жировая вакуолизация гепатоцитов и наличие звездчатых макрофагов, а с 2 до 7,5 месяцев отмечается выраженная многоядерность и процессы митоза гепатоцитов. У самок определяется более структурированное расположение печеночных балок, а в 4,5-месячном возрасте у них отмечается большее количество «резервных» гепатоцитов. У самцов в 7,5 месяцев жизни активно развивается стромальный компонент, с последующим фиброзом коллагеновых волокон. ЯЦО гепатоцитов с возрастом изменяется волнообразно, варьируя у самок и самцов от  $0,1032 \pm 0,0004$  до  $0,1264 \pm 0,0005$  у.е. и от  $0,1068 \pm 0,0004$  до  $0,1206 \pm 0,0003$  у.е.

7. По абсолютной массе почки у самок и самцов нутрий с 1-суточного до 12-месячного возраста увеличиваются в 11,57 и 18,88 раза соответственно, тогда как относительная масса с возрастом имеет выраженную тенденцию к снижению. Площадь почечного тельца, сосудистого



клубочка и мочевого пространства с возрастом увеличивается. Диаметр проксимальных канальцев с 1 суток до 12 месяцев жизни увеличивается, находясь в пределах от  $23,20 \pm 0,15$  до  $38,98 \pm 0,27$  мкм. Диаметр дистальных канальцев у самок и самцов находится в пределах от  $19,19 \pm 0,15$  до  $27,64 \pm 0,21$  мкм и увеличивается только до 4,5-месячного возраста, после чего изменяется волнообразно. Динамика изменения диаметра собирательных протоков зависит от пола и возраста и варьирует от  $44,81 \pm 0,37$  до  $57,01 \pm 0,51$  мкм. С возрастом увеличивается количество мезангиальных клеток в почечных клубочках, а с 4,5 месяцев регистрируются темные клетки в собирательных протоках. ЯЦО клеток проксимальных, дистальных канальцев, а также собирательных протоков с возрастом изменяется с разной периодичностью, варьируя от  $0,162 \pm 0,002$  до  $0,297 \pm 0,003$  у.е., от  $0,300 \pm 0,004$  до  $0,435 \pm 0,007$  у.е. и от  $0,188 \pm 0,003$  до  $0,253 \pm 0,004$  у.е. соответственно.

8. В поджелудочной железе с возрастом изменяется форма панкреатических ацинусов, а также количество и расположение в них экзокринных панкреатоцитов. Площадь панкреатических ацинусов у самок и самцов с 1 суток до 12 месяцев жизни увеличивается в 1,77 и 1,78 раза, а ЯЦО экзокринных панкреатоцитов – уменьшается в 1,85 и 1,84 раза. В 2 месяца отмечается вакуолизация цитоплазмы экзокринных панкреатоцитов. С 4,5-месячного возраста в поджелудочной железе нутрий разрастается зрелая соединительная ткань, а в ее экзокринной части начинается асинхронный синтез зимогена.

9. Количество эндокринных островков в панкреатических дольках у нутрий с 1 суток до 2 месяцев жизни составляет от 2 до 6, а с 4,5-месячного возраста – 2–3. В 1-суточном и 2-месячном возрасте регистрируется деление эндокринных островков. Площадь эндокринных островков у самок и самцов с возрастом изменяется волнообразно, варьируя от  $5,939 \pm 0,625$  до  $12,620 \pm 1,415$  мм<sup>2</sup> и от  $4,850 \pm 0,452$  до  $13,070 \pm 1,665$  мм<sup>2</sup>. ЯЦО инсулоцитов с 1 суток до 2 месяцев жизни увеличивается до своих максимальных значений, а к 12-месячному возрасту достигает минимума.

10. Содержание суммарного белка в кардиомиоцитах варьирует от  $0,101 \pm 0,001$  до  $0,147 \pm 0,001$  у.е., в клетках легочных альвеол – от  $0,0861 \pm 0,0004$  до  $0,1006 \pm 0,0008$  у.е., в гепатоцитах – от  $0,150 \pm 0,001$  до  $0,191 \pm 0,002$  у.е., в клетках почечных клубочков – от  $0,0852 \pm 0,0004$  до  $0,1557 \pm 0,0017$  у.е., в клетках проксимальных канальцев – от  $0,079 \pm 0,000$  до  $0,147 \pm 0,001$  у.е., в клетках дистальных канальцев – от  $0,0709 \pm 0,0003$  до  $0,1170 \pm 0,0011$  у.е., в клетках собирательных протоков – от  $0,0635 \pm 0,0002$  до  $0,0890 \pm 0,0008$  у.е., в экзокринных панкреатоцитах – от  $0,107 \pm 0,001$  до  $0,158 \pm 0,002$  у.е. и в инсулоцитах – от  $0,100 \pm 0,001$  до  $0,154 \pm 0,001$  у.е.

11. Динамика содержания ядерной ДНК в кардиомиоцитах, клетках легочных альвеол, гепатоцитах, клетках структур почек, а также экзокринных панкреатоцитах и инсулоцитах у нутрий демонстрирует цикличность синтеза генетического материала в их ядрах в различные периоды постнатального онтогенеза. Средние числовые значения опти-

ческой плотности ядерной ДНК находятся в пределах от  $0,348 \pm 0,002$  до  $0,537 \pm 0,002$  у.е.

12. Зоны AgNOR в клетках паренхиматозных органов нутрий, расположенные в центре или на периферии ядра преимущественно округлой или близкой к ней формы. Их количество в кардиомиоцитах, гепатоцитах, клетках легочных альвеол, экзокринных панкреатоцитах, а также клетках структур почек находится в пределах от 1 до 2, а в инсулоцитах – от 1 до 5. Минимальные средние значения суммарной площади AgNOR и ее доля от общей площади ядра регистрируются в клетках почечных клубочков, находясь в пределах от  $0,416 \pm 0,009$  до  $0,607 \pm 0,015$  мкм<sup>2</sup> и от  $0,024 \pm 0,001$  до  $0,031 \pm 0,002$  у.е., а максимальные – в гепатоцитах, варьируя от  $2,441 \pm 0,024$  до  $3,177 \pm 0,033$  мкм<sup>2</sup> и от  $0,086 \pm 0,001$  до  $0,106 \pm 0,001$  у.е.

13. Параметры экспрессии белка C23/нуклеолина в клетках паренхиматозных органов варьируют в зависимости от возраста нутрий. Оптическая плотность белка C23/нуклеолина и отношение суммарной площади иммунопозитивных структур белка C23/нуклеолина к суммарной площади клеток паренхиматозных органов находятся в пределах от  $0,201 \pm 0,002$  до  $0,732 \pm 0,009$  у.е. и от  $0,026 \pm 0,002$  до  $0,229 \pm 0,009$  у.е. Средние значения коэффициента экспрессии белка C23/нуклеолина в кардиомиоцитах с возрастом находятся в пределах от  $0,734 \pm 0,046$  до  $1,923 \pm 0,087$  у.е., в клетках легочных альвеол – от  $6,558 \pm 0,3063$  до  $9,807 \pm 0,466$  у.е., в гепатоцитах – от  $0,958 \pm 0,039$  до  $1,706 \pm 0,069$  у.е., в клетках почечных клубочков – от  $3,098 \pm 0,190$  до  $10,170 \pm 0,173$  у.е., в клетках проксимальных канальцев – от  $1,557 \pm 0,083$  до  $6,088 \pm 0,285$  у.е., в клетках дистальных канальцев – от  $2,728 \pm 0,093$  до  $14,050 \pm 0,401$  у.е., в клетках собирательных протоков – от  $6,094 \pm 0,293$  до  $10,990 \pm 0,428$  у.е., в экзокринных панкреатоцитах – от  $3,113 \pm 0,177$  до  $11,540 \pm 0,546$  у.е., в инсулоцитах – от  $4,841 \pm 0,212$  до  $9,820 \pm 0,449$  у.е. и зависят от половой принадлежности животных.

### **Практические предложения**

1. Гематологические параметры и биохимические показатели сыворотки крови самок и самцов нутрий в постнатальном онтогенезе могут быть использованы практикующими ветеринарными врачами в качестве эталонных величин при клинико-лабораторной диагностике.

2. Полученные данные могут использоваться при составлении справочных и учебных пособий, чтении лекций и проведении практических занятий при подготовке специалистов биологического, ветеринарного и сельскохозяйственного профилей.

3. Разработанные способы окраски мазков крови для микроскопического определения структурной организации и фаз активности клеток (Патент РФ № 2550879 от 20.05.2015 и Евразийский патент № 026081 от 28.02.2017) и количественной оценки уровня экспрессии белка C23/нуклеолина в гистологических препаратах рекомендуем использовать при проведении научных исследований, а также при лабораторной диагностике заболеваний животных.

### **Рекомендации и перспективы дальнейшей разработки темы**

Характер половозрастных особенностей морфофункциональных показателей крови и паренхиматозных органов нутрий дает основания применять комплекс использованных для выполнения исследования методик с учетом критических периодов постнатального развития и у других малоизученных видов животных.

Выявленные закономерности постнатального морфогенеза и параметров внутриклеточного метаболизма сердца, легких, печени, почек и поджелудочной железы нутрий разного пола и возраста, дающие представление о механизмах и закономерностях их роста и развития, актуализируют идею изучить и сравнить, по аналогии с дизайном проведенных исследований, другие органы и их системы у этого вида животных.

### **СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

#### **Статьи, опубликованные в журналах, рекомендованных ВАК Министерства науки и высшего образования РФ**

1. Данников, С. П. Динамика гематологических показателей самцов и самок нутрий в постнатальном онтогенезе / С. П. Данников // Вестник Саратовского госагроуниверситета им. Н. И. Вавилова. – 2013. – № 4. – С. 9–11.

2. Квочко, А. Н. Активность зон ядрышковых организаторов почечных канальцев у нутрий в постнатальном онтогенезе / А. Н. Квочко, С. П. Данников // Вестник Саратовского госагроуниверситета им. Н. И. Вавилова. – 2013. – № 7. – С. 29–32.

3. Данников, С. П. Динамика содержания холестерина и триглицеридов в сыворотке крови нутрий в постнатальном онтогенезе / С. П. Данников, В. Я. Никитин // Кролиководство и звероводство. – 2015. – № 4. – С. 28–29.

4. Данников, С. П. Параметры фосфорно-кальциевого обмена у нутрий в различные возрастные периоды / С. П. Данников // Ветеринария и кормление. – 2015. – № 5. – С. 28–29.

5. Данников, С. П. Интегральные лейкоцитарные индексы нутрий в разном возрасте / С. П. Данников, А. Н. Квочко, П. А. Хоришко // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2016. – № 3. – С. 179–183.

6. Данников, С. П. Динамика показателей лейкограммы крови нутрий в разном возрасте / С. П. Данников // Научная жизнь. – 2017. – № 7. – С. 101–110.

7. Данников, С. П. Особенности ферментного спектра крови нутрий в критических периодах постнатального развития / С. П. Данников, А. Н. Квочко, П. А. Хоришко // Ветеринария, зоотехния и биотехнология. – 2017. – № 9. – С. 81–86.

8. Данников, С. П. Электролитный состав сыворотки крови нутрий в критические периоды постнатального онтогенеза / С. П. Данников // Аграрная Россия. – 2018. – № 8. – С. 29–33.

9. Данников, С. П. Возрастная периодизация онтогенеза нутрий / С. П. Данников // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2018. – Т. 73, № 5. – С. 261–264.

10. Данников, С. П. Динамика показателей обмена билирубина у нутрий (*Muocastor coyrus*) в различные периоды постнатального онтогенеза / С. П. Данников, А. Н. Квочко, В. С. Скрипкин // Известия Международной академии аграрного образования. – 2018. – Т. 42, № 2. – С. 152–156.

11. Данников, С. П. Активность областей ядрышковых организаторов в ядрах подоцитов почечных клубочков у нутрий в постнатальном онтогенезе / С. П. Данников, А. Н. Квочко // Проблемы биологии продуктивных животных. – 2019. – № 3. – С. 27–36.

12. Данников, С. П. Морфофункциональные особенности гепатоцитов нутрий в различные критические периоды постнатального развития / С. П. Данников, А. Н. Квочко // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2020. – № 4. – С. 160–164.

13. Трухачев, В. И. Оценка белкового метаболизма в гепатоцитах нутрий в постнатальном онтогенезе / В. И. Трухачев, С. П. Данников, А. Н. Квочко // Вестник КрасГАУ. – 2020. – № 12. – С. 135–141.

14. Данников, С. П. Гистохимическая оценка белкового метаболизма в кардиомиоцитах нутрий в различные возрастные периоды / С. П. Данников, А. Н. Квочко // Ветеринарная патология. – 2020. – № 4. – С. 23–30.

15. Данников, С. П. Морфометрические показатели сердца нутрий в постнатальном онтогенезе / С. П. Данников, А. Н. Квочко // Международный вестник ветеринарии. – 2021. – № 3. – С. 168–173.

16. Данников, С. П. Метаболическая активность экзокринных панкреатоцитов нутрий в постнатальном онтогенезе / С. П. Данников // Вестник АПК Ставрополя. – 2021. – Т. 43. – № 3. – С. 14–20.

### **Монографии**

17. Данников, С. П. Клинико-лабораторные показатели нутрий в постнатальном онтогенезе : монография / С. П. Данников, А. Н. Квочко. – Ставрополь : АГРУС, 2019. – 104 с.

### **Патенты**

18. Патент № 2550879 Российская Федерация МПК G01N 1/30 (2006.01), G01N 33/48 (2006.01). Способ окраски мазков крови для микроскопического определения структурной организации и фаз активности клеток : № 2014112496/05 : заявл. 31.03.2014 : опубл. 20.05.2015 / Трухачев В. И., Квочко А. Н., Воронин М. А., Криворучко А. Ю., Копытко А. С., Некрасова И. И., Данников С. П., Хоришко П. А., Цыганский Р. А., Матюга М. А., Скрипкин В. С., Сидельников А. И., Шаламова Е. В. ; заявитель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Ставропольский государственный аграрный университет». – Бюл. № 14. – 11 с.

19. Патент № 026081 Евразийское патентное ведомство МПК G01N 1/30 (2006.01) G01N 33/49 (2006.01). Способ окраски мазков крови для микроскопического определения структурной организации и фаз активности клеток : № 201401321: заявл. 2014.12.24 : опубл. 2017.02.28 / Трухачев В. И., Квочко А. Н., Воронин М. А., Криворучко А. Ю., Копытко А. С., Некрасова И. И., Данников С. П., Хоришко П. А., Цыганский Р. А., Матюта М. А., Скрипкин В. С., Сидельников А. И., Шаламова Е. В. ; заявитель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Ставропольский государственный аграрный университет». – Бюл. № 02. – 6 с.

### **Публикации в изданиях, индексируемых в Web of Science и Scopus**

20. Dannikov, S. P. Morphometric parameters of nutria kidney structures in postnatal ontogeny / S. P. Dannikov, A. N. Kvochko, A. Y. Krivoruchko // Russian Journal of Developmental Biology. – 2014. – Vol. 45, № 6. – С. 351–360.

21. Dannikov, S. Postnatal morphogenesis of the endocrine part of pancreas of nutria (*Myocastor coypus*) / S. Dannikov, A. Kvochko, O. Dilekova // IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. – 2021. – Vol. 937, № 3. – А. 032005.

### **Публикации в материалах конференций и других научно-практических изданиях**

22. Данников, С. П. Содержание глюкозы в сыворотке крови нутрий в постнатальном онтогенезе / С. П. Данников // Актуальные вопросы формирования и развития научного пространства : сб. материалов Междунар. науч.-практ. конф. (Калининград, 03 августа 2017 г.) / ООО ЦПМ «Академия Бизнеса». – Калининград, 2017. – С. 17–20.

23. Данников, С. П. Динамика активности  $\alpha$ -амилазы сыворотки крови нутрий в критические периоды постнатального развития / С. П. Данников // Агропромышленный комплекс: состояние, проблемы, перспективы : сб. материалов XIII Междунар. науч.-практ. конф (Пенза, 27–28 ноября 2017 г.) / Пензенский государственный аграрный университет. – Пенза, 2017. – С. 80–82.

24. Данников, С. П. Возрастная динамика массы паренхиматозных органов нутрий / С. П. Данников // Актуальные вопросы патологии, морфологии и терапии животных : сб. материалов 19-й Междунар. науч.-метод. конф. по патологической анатомии животных (Ставрополь, 20–22 сентября 2017 г.) / Ставропольский государственный аграрный университет. – Ставрополь, 2018. – С. 223–230.

25. Данников, С. П. Возрастная динамика параметров метаболизма азота мочевины у нутрий / С. П. Данников // Новости науки в АПК. – 2018. – Т. 11, № 2. – С. 305–309.

26. Данников, С. П. Динамика содержания ДНК в ядрах кардиомиоцитов нутрий в постнатальном онтогенезе / С. П. Данников // Инновацион-

ные технологии в сельском хозяйстве, ветеринарии и пищевой промышленности : сб. материалов 86-й Междунар. науч.-практ. конф. «Аграрная наука – Северо-Кавказскому федеральному округу» (Ставрополь, 15 мая 2021 г.) / Ставропольский государственный аграрный университет. – Ставрополь, 2021. – С. 291–294.

27. Данников, С. П. Активность областей ядрышковых организаторов в ядрах лимфоцитов нутрий в постнатальном онтогенезе / С. П. Данников // Морфология в XXI веке: теория, методология, практика : сб. материалов Всероссийской (национальной) науч.-практ. конф. (Москва, 01–04 июня 2021 г.) / Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К. И. Скрябина. – Москва, 2021. – С. 85–89.

28. Данников, С. П. Содержание ядерной ДНК в клетках почечных клубочков нутрий в постнатальном онтогенезе / С. П. Данников // АПК России: образование, наука, производство : сб. материалов II Всероссийской (национальной) науч.-практ. конф. (Саратов, 28–29 сентября 2021 г.) / Пензенский государственный аграрный университет. – Пенза, 2021. – С. 69–73.

29. Данников, С. П. Гистологические особенности постнатального развития миокарда нутрий / С. П. Данников // Инновационное развитие АПК: проблемы и перспективы кадрового обеспечения отрасли и внедрения достижений аграрной науки : сб. материалов Междунар. науч.-практ. конф. (Махачкала, 30 сентября 2021 г.) / Дагестанский институт повышения квалификации кадров АПК. – Махачкала, 2021. – С. 134–141.

30. Данников, С. П. Содержание суммарного белка в инсулоцитах эндокринных островков поджелудочной железы нутрий в постнатальном онтогенезе / С. П. Данников // Актуальные вопросы аграрной науки : сб. материалов Национальной науч.-практ. конф. (Ульяновск, 20–21 октября 2021 г.) / Ульяновский государственный аграрный университет имени П. А. Столыпина. – Ульяновск, 2021. – С. 158–163.

31. Данников, С. П. Оценка белкового метаболизма клеток легочных альвеол нутрий в постнатальном онтогенезе / С. П. Данников // Современные вызовы для биотехнологии, ветеринарии и медицины в период пандемии COVID-19 : сб. материалов Междунар. науч.-практ. конф., посвященной 30-летию Независимости Казахстана (Гвардейский, 14 декабря 2021 г.) / Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ғылыми-зерттеу институты. – Гвардейский (Казахстан), 2021. – С. 47–52.

### **Научно-методические рекомендации**

32. Экспрессия нуклеолина в клетках паренхиматозных органов нутрий : методические рекомендации / В. И. Трухачев, С. П. Данников, А. Н. Квочко, О. В. Дилекова. – Ставрополь : АГРУС, 2021. – 40 с.

33. Оценка экспрессии нуклеолина в клетках структур почек нутрий : методические рекомендации / В. И. Трухачев, С. П. Данников, А. Н. Квочко, О. В. Дилекова. – Ставрополь : АГРУС, 2022. – 44 с.

Подписано в печать 01.04.2022.  
Формат 60x84  $\frac{1}{16}$ . Усл. п. л. 2,0. Тираж 100 экз. Заказ № 100.

Отпечатано в типографии издательско-полиграфического комплекса СтГАУ  
«АГРУС», г. Ставрополь, ул. Пушкина, 15

