ЛЬВІВСЬКА АКАДЕМІЯ ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ

На правах рукопису

ЦИМБАЛ
Наталія Миколаївна

ГІСТОФІЗІОЛОГІЯ МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ ПРИ ІРИТАЦІЇ ТА ЗАСТОСУВАННІ ЖЕНЬШЕНЯ

03.00.13 — фізіологія людини і тварин

Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата біологічних наук

ЛЬВІВ — 1994

Робота виконана в Тернопільському державному педінституті.

Науковий керівник

— доктор біологічних наук, професор **ШУСТ І. В.**

Офіційні опоненти:

— заслужений діяч науки України, доктор біологічних наук, професор **СТОЯНОВСЬКИЙ С. Е.**
— кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник **ЧАРКИН В. А.**

Провідна організація

— Інститут землеробства і тваринництва західного регіону України.

Захист дисертації відбудеться «30» 06 1994 р. о 10 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 04. 08. 02 при Львівській академії ветеринарної медицини (290601, м. Львів, вул. Пекарська, 50).

З дисертацією можна ознайомитися у бібліотеці академії.

Автореферат розісланий «27» 05 1994 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради,
доцент *П. І. ГОЛОВАЧ*

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Вивчення морфології молочної залози на клітинному та субклітинному рівні в залежності від функціонального стану молочної залози лабораторних і продуктивних тварин дослідники присвятили багато робіт /Дроник Г.В., Лагодюк П.З., 1978; Хрустальова Г.І., 1982; Западнюк І.П. і співавтори, 1983/. В той же час залишається слабо вивченим питання про вплив субекстремальних факторів на молочну залозу і лактацію взагалі, хоч є дані про значне зниження молочної продуктивності тварин, під впливом стресових факторів /Томов Т., і співавтори, 1982/. Зовсім відсутні дані про вплив адаптогенів на процес лактації в нормальних і в субекстремальних умовах, зокрема при іритації.

Отже вивчення впливу адаптогена рослинної природи - женьшеня на молочну залозу лактуючих тварин, які знаходяться в стані іритації, набуває важливого теоретичного і практичного значення.

Мета і завдання досліджень. Метою роботи було вивчити вплив на організм самки і молочну залозу адаптогена рослинної природи - женьшеня при дії екстремальних факторів. Для реалізації даної мети були поставлені такі завдання:

1. Вивчити гістофізіологію молочної залози, особливості будови, гістохімічної картини, ультрамікроскопічної структури лактоцитів та клітинного складу її секрету в експериментальних тварин-білих щурів.

2. Дослідити морфологічні зміни в молочній залозі і в складі її секрету, зокрема кількості та цитохімії соматичних клітин /СК/ при експериментальному іритаційному впливові.

3. З"ясувати зміни в досліджуваному органі та його секреті при введенні екстракту женьшеня.

4. Вивчити морфофізіологію молочної залози і морфогістохімію секрету в тварин, підданих іритаційній дії, а також у тварин які одержували адаптоген - екстракт женьшеня.

5. На підставі одержаних результатів виявити механізм дії іритаційних факторів на молочну залозу і її функцію.

6. Розробити теоретичні основи доцільності застосування препарату рослинного походження - женьшеня, як адаптогена для попередження порушень функції молочної залози, її граничних змін, викликаних іритаційним фактором.

Наукова новизна.

1. В експерименті вивчені фізіологічні і морфологічні /мікроскопічні та електронномікроскопічні /зміни в молочній залозі при іритаційних впливах. Встановлені відмінності в реакції частин молочної залози у залежності від локалізації вогнища іритації.

2. Виявлено і вперше детально описано явище апоптозу - програмованої смерті клітин у молочній залозі та посилення цього явища при дії на залозу екстремального фактора - іритації.

3. Вперше показано, що іритація викликає не тільки стрес, але й зміни функціональних особливостей клітинних структур молочної залози, які приводять до зрушень вмісту СК у секреті залози при іритаційних впливах.

4. Показано взаємозв"язок між фізіологічним станом молочної залози та її секретом в стані спокою і в умовах іритації, під впливом рослинного адаптогену загальностимулюючої дії - женьшеня, а також при протекторному його застосуванні на фоні іритаційних впливів.

Практична цінність. На підставі одержаних експериментальних даних і їх аналізу розроблена методика виявлення змін, що наступають у молочній залозі при іритації, яка полягає у дослідженні складу СК у секреті залози.

Одержані дані можуть послужити теоретичною передумовою для розробки заходів по усуненню несприятливого впливу іритаційних факторів на організм лактуючих самок і використання в цих цілях адаптогена рослинної природи - женьшеня.

Для обговорення при захисті дисертації виносяться питання:

1. Морфо-гістохімічні особливості різних типів лактоцитів, які зустрічаються у молочній залозі і є певними стадіями в процесі їх функціонування.

2. Теоретичне обгрунтування змін, що наступають як у молочній залозі, так і в її секреті під дією іритації і при протекторному застосуванні женьшеня.

3. Застосування методики відбитків секрету молочної залози для виявлення стану органу і змін, що наступають при різних його функціональних станах та субекстремальних впливах.

Апробація роботи. Основні положення роботи були заслухані:

1. На науковому симпозіумі "Экспериментальные и клинические аспекты медицинской и спортивной антропологии" Москва, 1991 г.

2. На звітній науковій конференції викладачів і студентів природничого факультету Тернопільського державного педагогічного інституту за 1991 р., Тернопіль, 1993.

3. На об"єднанному засіданні кафедр Тернопільського державного педагогічного інституту: анатомії і фізіології людини і тварин; валеології і охорони здоров"я дітей; природничих і математичних дисциплін початкового навчання; теоретичних основ фізичного виховання.

Публікація результатів. За матеріалами дисертації опубліковано 9 наукових робіт, в тому числі і депоновани рукопис.

Об"єм і структура роботи. Робота викладена на 157 аркушах машинописного тексту /в тому числі: 1 графік, 8 таблиць, 2 малюнки, ілюстрована 34 мікрофотографіями/ і включає: вступ, огляд літератури, об"єкт і методи власних досліджень, результати власних досліджень, обговорення одержаних результатів, загальні висновки. Література включає 274 джерела, з яких 204 роботи українською та російською мовами і 70 іноземними мовами.

ЗМІСТ РОБОТИ

Об"єкт і методи власних досліджень. Робота виконана в науковій лабораторії кафедри анатомії і фізіології людини і тварин Тернопільського державного педагогічного інституту протягом 1991 - 1994 рр.

Досліди ставилися на самках дітородних білих щурів, оскільки за даними попередніх дослідників ці тварини є найкращою моделлю для відтворення стресового і іритаційного стану тварин /Шуст З.І., Шуст І.І., Курченко Г.А., 1984/. Для досліду брали самок вагою 200±20 г в день родів /зважували зразу ж після родів/. Кожний експеримент продовжувався три дні. Проведено 4 серії дослідів:

Перша серія, контрольна, - інтактні лактуючі тварини служили контролем для одержання вихідних даних;

Друга серія - іритаційні впливи викликалися шляхом перев"язування щурам однієї з кінцівок джгутом протягом 60 хв. по 2 рази на день. Щури другої серії були розділені на дві групи, кожній з них перев"язували різні кінцівки, відповідно ліву передню /1 група/, праву задню /2 група/;

Третя серія - щурам інтрагастрально /через зонд/ вводили екстракт женьшеня в дозі 0,1 мл/кг маси тіла 2 рази в день;

Четверта серія - комбінований експеримент з іритаційним впливом і одночасним введенням женьшеня. При цьому викликали іритацію на лівій передній кінцівці /I-ша група щурів/ і правій задній кінцівці /II-га група щурів/, препарат вводили в таких дозах як тваринам третьої серії дослідів /0.I мл/кг маси тіла/. В кожній групі було по I0 тварин, всього 60 самок білих щурів.

Об"єктом для проведення експерименту обрано білих щурів, так як множинна молочна залоза цих тварин дозволяє вивчати окремо загальний стресовий і місцевий вплив вогнища іритації, поскільки частини /пакети/ залози і поряд розміщені кінцівки мають спільну зону іннервації. Досліджували як саму залозу, так і її секрет в передніх /грудних/, середніх і задніх /тазових/ пакетах органу.

На третій день після родів шляхом введення окситоцину у тварин одержували по краплині секрету молочних залоз для цитологічних і цитохімічних досліджень. Потім по I0 самок з кожної групи забивали гільйотинуванням під ефірним наркозом, а матеріал з молочної залози і регіональних лімфатичних вузлів брали для морфологічних, гістохімічних і електронномікроскопічних досліджень.

Одержаний шматочок тканини молочної залози від забитої тварини розміром близько I $см^3$ ділили на 5 частин: кожну частину товщиною 2-3 мм брали для наступної обробки за різними методиками в залежності від завдань дослідження.

Гістоструктуру молочної залози і лімфовузлів, взятих від забитих тварин, вивчали на парафінованих зрізах товщиною 6 мкм, зафарбованих гематоксилин-еозином і по Ван-Гізону. Гістохімічні методики застосовували для виявлення відносної кількості нуклеїнових кислот ДНК і РНК /по Браше і Де-Беру-Сарнакеру/, білків /по Бонхегу/, ШИК-позитивних речовин /реактивом Шифа/, ліпідів /по Кайну і сумішшю суданів III і IУ/, сульфатових глікозаміногліканів /по Хейлу/. Спеціальна методика Малорі використовувалась для виявлення фібрину і колагену.

Визначення активності ферментів проводили з використанням таких методик: лужну фосфатазу ЛФ /3.I, 3.1/ виявляли азосполученням і по Гоморі, кислу фосфатазу КФ /3.I, 3.2/- по Гоморі, ліпази з твін-80 /3.I, 3.3/ - по методиці Гоморі. Активність сукцинатдегідрогенази /СДГ/ і лактатдегідрогенази /ЛДГ/ /I.I, 2.3/ визначали по Нахласу.

Використовувались відповідні контролі, які були рекомендова-

ні авторами відповідних методик /Пірс Е., 1962; Непомнящих Л.М., 1967/. Активність ферментів визначали по 4-бальній системі: 1 бал-слабка активність, 2 бали-середня активність, 3 бали-висока активність і 4 бали-дуже висока активність ферменту.

Для електронномікроскопічних досліджень пробу подрібнювали до об"єму кожного шматочка близько 1 мм^3, фіксували в охолодженому 1% забуференому розчині чотириокису осмію по Мілонінгу, контрастували 2% розчином уранілацетату і цитратом свинцю по Рейнольдсу. Зрізи товщиною 40-50 нм одержували на ультромікротомі УМТП-3 і вивчали з допомогою електронного мікроскопа ЕМВ 100-ЛМ при прискоренні напруги 75 кВ.

Кровоносні судини вивчали шляхом ін"єкції тушшю і желатиною, а також наведеними вище методиками за таким планом: спостерігали судинний малюнок, стінки мікрогемосудин, їх вміст і навколосудинні тканини, зокрема стан клітин, що інфільтрують в сполучну тканину, звертали особливу увагу на дрібні кровоносні судини трофічного рівня. Такий підхід до вивчення кровопостачання молочної залози дає можливість скласти уяву про живлення паренхіми органа.

Відносну кількість СК визначали на відбитках залози запропонованою нами методикою. Цитохімічні дослідження на ЛФ і КФ, ліпіди і ШИК-позитивні речовини проводили за згаданими вище методиками. Нами випробувана методика аналізу складу цих клітин шляхом виготовлення відбитків органа, диференційованого їх фарбування і складання цитограми. Для цього робили горизонтальний зріз пакета залози по її середині, прикладали до знежиреного скла, відбиток фіксували в парах формаліну і фарбували по Романовському. На мазках проводили цитохімічні реакції на ліпіди /по Кайну/, білки /по Бонхегу/ і на ферменти: неспецифічну ліпазу і фосфатази -ЛФ і КФ /азосполученням/, а також СДГ і ЛДГ /по Нахласу/ для визначення активованих лейкоцитів-лімфоцитів і нейтрофілів.

Підрахунок СК проводили в кожній чверті залози в 10 полях зору мікроскопа при збільшенні в 280 разів /окуляр 7, об"єктив 40/. По співвідношенню лейкоцитів, переважно лімфоцитів, нейтрофілів і молозивних макрофагів, можна судити про перевагу в цитограмі тих або інших клітин. Еритроцити, які попадали з кровоносного русла, в облік не брали.

Для виявлення достовірності результатів, одержаних при засто-

суванні методики відбитків молочної залози, з результатами аналізу мазків секрету ми провели паралельне дослідження "цистернального" молозива та молока по 3-4 проби у різних тварин. Одержані дані показали, що співвідношення окремих СК було близьким до таких, які були знайдені при застосуванні методики відбитків, а напрямок змін при функціональних зрушеннях і субекстремальних впливах мав таку саму спрямованість.

Виходячи з наведеного, можна вважати запропоновану методику придатною для порівняльного вивчення клітин "паренхіматозного" секрету молочної залози дрібних лабораторних тварин.

Таким чином, застосовані нами методики дали можливість визначити наявність і характер морфологічних /мікро- і субмікроскопічних/ і гістохімічних змін у молочній залозі. Застосовані вище підходи до вивчення кровопостачання молочної залози дають можливість скласти уяву про міру живлення паранхіми органу. Проведений комплексний аналіз секрету молочної залози дозволив виявити цитологічні і цитохімічні зрушення. Морфологічні, гістохімічні і електронномікроскопічні методики використані для визначення характеру функціональних змін, глибини можливої альтерації і напрямку патологічного процесу на різних ієрархічних рівнях від субклітинного /органоїдного/ через клітинний до тканинного рівня дозволили одержати достатньо повну уяву про стан органа в цілому.

РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ І ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

I. Морфо-функціональна характеристика молочної залози і секрету інтактних лактуючих самок білих щурів.

В результаті проведених досліджень встановлено, що структура молочної залози в інтактних білих щурів на третій день після родів показало дуже добрий розвиток залозистої тканини. При електронномікроскопічному дослідженні в молочній залозі найчастіше зустрічаються клітини високопризматичної форми. На апікальних полюсах плазмолеми формуються мікроворсинки, ближче до базальної поверхні лактоцитів розміщені ядра. Клітини мають ядра кулястої або наближеної до кулястої форму з рівномірно розширеним перинуклеарним простором і добре вираженими поровими комплексами. В ядрі переважає дифузний хроматин, ядерця добре розвинені і розташовані дещо ексцентрично.

В цитоплазмі виявляється багата цистернами ендоплазматична

сітка /ЕС/, як гладенька, так і гранулярна, усіяна рибосомами і полісомами, мітохондрії /МХ/, невеликі, переважно овальної форми, розподілені рівномірно по цитоплазмі поміж включеннями. Комплекс Гольджі /КГ/ з сильно розвинутими мішечками, які знаходяться поблизу ядра.

Секреторні включення невеликі за розміром: білкові гранули електроннопрозорі, більшість з них містить маленькі осміофільні включення різної конфігурації. Ліпідні глобули в дещо більших кількостях електроннощільні. Такі клітини з добре розвинутим синтезуючим апаратом віднесені нами до першого типу лактоцитів.

При дослідженні ще зустрічаються клітини великі за розмірами, але приплющеної форми з нерівними контурами апікальних полюсів. Майже вся цитоплазма в таких лактоцитах зайнята ліпідними глобулами високої електронної щільності, які на зрізах набувають артефакту смугастості. Білкові гранули мають порівняно великі осміофільні включення. Ці клітини віднесені нами до другого типу лактоцитів.

Крім перелічених змін, виявляються плоскі лактоцити, в яких мікроворсинки відсутні, люмінальні полюси місцями позбавлені плазмолеми. Ядро сильно деформоване з конденсованим хроматином, який розташований під каріолемою, ядерця не виявляються. В цитоплазмі таких лактоцитів майже відсутні органели, гранулярна ЕС у вигляді окремих цистерн. Всі ці лактоцити з ознаками згасання секреторної діяльності та з різними проявами деструкції віднесені нами до клітин третього типу.

При дослідженні секрету молочної залози лактуючих самок білих щурів на відбитках виявлено жирові глобули кулястої форми, які дещо різняться між собою за розмірами, та білкові гранули, нечітко обмежені і більш аморфні. Клітинний склад молозива і молока на відбитках представлений переважно лейкоцитами і злущеними епітеліальними клітинами сплющеної форми без чітких контурів, зі слабо зафарбованими і нечітко контурованими ядрами.

Наші дослідження показали, що в молозиві і ранньому молоці тварин є певна кількість лейкоцитів, серед яких значну частину складають лімфоцити, дещо менше нейтрофілів, а молозивні макрофаги зустрічаються не в кожному полі зору мікроскопа. Крім цього, у цитограмі відбитків завжди присутні злущені епітеліоцити /табл.I./.

Таблиця I

Кількісний склад СК в ділянках молочної залози самок першої серії дослідів /контрольні інтактні тварини/ на третій день лактації : $n = 40$.

Ділянки залози	Лімфоцити		Нейтрофіли		Молозивні макрофаги		Епітеліоцити		Всіх СК
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	
Права передня	58,8±I,2	49,2	39,2±I,8	32,8	II,2±0,3	9,4	I0,4±0,3	8,7	II9,6
Ліва передня	59,8±0,6	49,9	40,2±2,8	33,6	9,8±0,4	8,2	I0,0±0,3	8,3	II9,8
Права задня	60,4±0,8	50,I	38,8±2,5	32,2	II,4±0,2	9,5	9,9±0,3	8,2	I20,5
Ліва задня	58,9±0,3	49,8	39,4±0,3	33,3	I0,2±0,4	8,6	9,8±0,3	8,2	II8,3
Середні дані	59,5±0,4	49,8	39,4±0,3	33,0	I0,7±0,4	8,9	I0,0±0,2	8,4	II9,6

2. Гістофізіологічні зміни в молочній залозі білих щурів при іритаційних впливах.

При моделюванні іритації спостерігається зменшення маси частини молочної залози, зв"язаної спільною іннервацією з зоною іритації. При іритації на лівій передній кінцівці зменшується маса лівої грудної частини залози, а при іритації правої задньої кінцівки відповідно стає меншою маса правої тазової частини органа.

В результаті дослідження виявилось, що безпосередньо після 3-денного іритаційного впливу виявлено розширення альвеол, переповнення їх секретом.

Електронномікроскопічні дослідження молочної залози лактуючих самок білих щурів, в яких викликали іритацію, показали деякі відмінності субмікроскопічної будови клітин молочної залози в порівнянні з клітинами інтактних тварин такого ж строку лактації. При цьому тканинні компоненти ділянок, зв"язаних іннервацією з зоною іритації, підлягають більшим змінам, ніж інші частини залози.

Частіше виявляються клітини другого і третього типів. Поміж ними зустрічаються сплющені лактоцити без мікроворсинок на люмінальному полюсі з деформованим ядром, частіше чотирикутної форми з маргінізацією хроматину. Ядерця в таких клітинах не виявляються. В цитоплазмі цих лактоцитів видні залишки органел. ЕС представлена декількома /3-4/ цистернами, окремі з яких надзвичайно широкі, так що можуть займати половину або третю частину всієї цитоплазми. Включення дуже маленькі і розміщені в різних ділянках гіалоплазми. В таких лактоцитах є всі ознаки апоптозу - програмованої смерті клітин. Такі клітини значно відрізняються від описаних у інтактних тварин і віднесені нами до лактоцитів четвертого типу.

При дослідженні цитограми відбитків молочної залози виявилось абсолютне збільшення числа СК у порівнянні з кількістю їх у інтактних тварин /табл.2/. Як видно з приведеної таблиці, в ділянках залози, віддалених від вогнища іритації, збільшується кількість нейтрофілів /$P<0.01$/, тоді як в ділянках органа, що мають спільну зону іннервації з вогнищем іритації, число нейтрофілів збільшується майже у двічі /$P<0.001$/. Значно зростає і кількість злущених епітеліальних клітин /$P<0.001$/, деформованих, з нечіткими контурами. При цьому спостерігається зменшення кількості мелезивних макрофагів у два рази в тих частинах молочної залози, яка межує з вогнищем іннервації /$P<0.001$/.

Таблиця 2

Кількісний склад СК у відбитках ділянок молочної залози самок другої серії дослідів /з іритаційним впливом/ на третій день експерименту: n = 40

Ділянки залози	Лімфоцити	Нейтрофіли	Молозивні макрофаги	Епітеліоцити
Права передня I серія, К	58,8±1,2	39,2 ± 1,8	11,2 ± 0,3	10,4 ± 0,3
Права передня II серія, ВД	60,2 ± 0,4	48,4 ± 0,4*	10,8 ± 0,3	11,2 ± 0,3
Ліва передня I серія, К	59,8 ± 0,6	40,2 ± 2,8	9,8 ± 0,4	10,0 ± 0,3
Ліва передня II серія, СЗ	58,4 ± 0,4	62,2 ± 0,5*	5,8 ± 0,2*	21,6 ± 0,3*
Права задня I серія, К	60,4 ± 0,8	38,8 ± 2,5	11,4 ± 0,2	9,9 ± 0,3
Права задня II серія, СЗ	57,8 ± 0,3	59,9 ± 0,4*	4,9 ± 0,2*	22,2 ± 0,4*
Ліва задня I серія, К	58,9 ± 0,3	39,4 ± 0,3	10,2 ± 0,4	9,8 ± 0,3
Ліва задня II серія, ВД	62,2 ± 0,2	42,5 ± 0,3*	9,6 ± 0,2	11,0 ± 0,3

Примітка: * різниця достовірна /$P<0,01$/; К - контрольні /інтактні/ самки; ВД - віддалена ділянка залози від вогнища іритації; СЗ - ділянка залози, що має спільну зону іннервації з вогнищем іритації.

3. Морфо-функціональні зміни в молочній залозі білих щурів при введенні екстракту женьшеня.

Вивчення гістохімічних препаратів з різних ділянок молочної залози тварин, що одержували екстракт женьшеня, показало наявність великих добре окреслених часточок з кулястими і овальними альвеолами. Епітелій частіше кубічної форми, ядра клітин овальні і кулясті. Переважають два основних види клітин, що активно секретують /перший і другий типи лактоцитів/.

Ферментивна активність, як правило, порівняно висока, зокрема СДГ проявляє однакову активність по всій цитоплазмі, велика активність ліпази проявляється у зоні капілярів, розташованих в стромі між альвеолами. При гістохімічному виявленні ЛФ продукт реакції виявляється переважно в базальній частині клітин і характеризується дифузною локалізацією.

Таким чином, в третій серії дослідів, при застосуванні екстракту женьшеня, картина була практично однакова, як в першій серії дослідів, тобто інтактних тварин.

4. Гістофізіологія молочної залози в білих щурів при іритаційних впливах і протекторному застосуванні екстракту женьшеня.

У піддослідних тварин, в яких викликали іритацію і яким вводили екстракт женьшеня протягом трьох днів, не виявлено помітних макроскопічних змін у молочній залозі. Структура залози характеризується наявністю чітко окреслених часток. Лактоцити дрібних альвеол мають переважно високопризматичну, кубічну або куполоподібну форму. Гістохімічні дослідження показали типову для лактоцитів здорових тварин локалізацію і відносну кількість нуклеїнових кислот.

У відбитках лівої частини залози, яка одержує іннервацію з тієї ж ділянки спинного мозку, що й шкіра з вогнищем іритації /табл.3/, при застосуванні женьшеня відзначається підвищення числа молозивних макрофагів втричі /$P < 0.001$/ в порівнянні з кількістю цих клітин у тварин з іритацією і не відрізняється суттєво від числа макрофагів у тварин, яким вводили препарат женьшеня і проводили іритацію. На підвищеному рівні залишається і показник кількості лімфоцитів. Одночасно наступає нормалізація кількості епітеліальних клітин у відбитках.

В наших дослідах на інтактних лактуючих самках білих щурів виявлено, що в перші дні лактації, коли молочна залоза продукує велику кількість глобулінів, лактоцити мають добре розвинутий клітинний органон. Зокрема, відзначено наявність вираженої ЕС з деце-

Таблиця 3

Порівняльні дані кількісного складу СК в лівій передній ділянці молочної залози самок четвертої серії дослідів з даними I–III серій: $n = 40$

Серії дослідів	Лімфоцити	Нейтрофіли	Молозивні макрофаги	Епітеліоцити
I серія, К	59,8 ± 0,6	40,2 ± 2,8	9,8 ± 0,4	10,0 ± 0,3
II серія, ІЛП	58,4 ± 0,4	62,2 ± 0,5	5,8 ± 0,2	21,6 ± 0,3
III серія, Ж	115,5 ± 0,3	41,4 ± 0,3	19,8 ± 0,3	11,2 ± 0,2
IУ серія, ІЛП+Ж	116,0 ± 0,2	42,2 ± 0,3	18,8 ± 0,4	10,6 ± 0,3
P_I	$< 0,01$	$> 0,05$	$< 0,01$	$> 0,05$
P_2	$< 0,01$	$< 0,01$	$< 0,01$	$< 0,01$
P_3	$> 0,05$	$> 0,05$	$> 0,05$	$> 0,05$

Примітка: P_I у порівнянні з даними I серії дослідів дослідів /контрольні, інтактні тварини/;
P_2 у порівнянні з даними II серії дослідів /іритація на лівій передній кінцівці - зона, що має спільну зону іннервації з вогнищем іритації/;
P_3 - у порівнянні з III серією дослідів /введення екстракту женьшеня/;
К - контрольні /інтактні/ самки; ІЛП - іритація на лівій передній кінцівці;
Ж - введення екстракту женьшеня;
ІЛП+Ж - іритація на лівій передній кінцівці і введення екстракту женьшеня.

розширеними цистернами, великою кількістю полісом, КГ з усіма компонентами. МХ овальної форми з рясними кристами, переважно гребінчастого типу.

Проведені нами дослідження показали, що іритація як один із субекстремальних факторів справляє негативну дію на організм лактуючих тварин. Цей вплив на молочних тварин особливо великий, оскільки організм останніх надзвичайно вразливий до дії шкідливих факторів середовища. А такі фактори виникають в умовах промислового тваринництва, коли порушуються природні взаємовідносини між організмом і середовищем в силу змін умов утримання і годівлі.

Наші дослідження показали, що при іритаційних впливах у молочних залозах білих щурів зустрічаються лактоцити зі змінами, які не свідчать про їх функціональну активність і які за всіма ознаками слід віднести до клітин у стані апоптозу.

В доступній літературі ми не виявили даних про контрольовану організмом загибель клітин секреторного епітелію в молочній залозі - органі, що інтенсивно функціонує під час лактації і схильний до певної функціональної стадійності. В результаті досліджень виявилось, що ці клітини мають досить характерну будову, і тому ми віднесли їх до окремого четвертого типу. При експериментальному втручанні в функцію залози, яке викликає стресові зрушення в організмі лактуючої самки, процеси апоптозу дещо посилюються. Можливо, це відбувається внаслідок посилення виділення глюкокортикоїдів - "індукторів апоптозу" /Бережков Н.В., 1990/.

Проведені нами дослідження на білих щурах показали, що іритаційна дія призводить до змін у молочній залозі лактуючих тварин, які виявляються у гальмуванні молоковіддачі, що морфологічно реєструється переповненням альвеол секретом.

Функціональні та патологічні зміни, які проходять у залозі, залежать від локалізації іритації. Наші дослідження показали, що третій і четвертий тип лактоцитів збільшується у зоні іннервації перев"язаної кінцівки. Патологічну дію вогнища іритації можна пояснити таким чином, що больова реакція, яка виникає при дії цього фактора, приводить до гальмування виділення гормонів гіпофізу, а це, як відомо, призводить до зниження секреторних процесів у молочній залозі - гіпо- і агалактії. Гемоциркуляторні порушення та набряк залози можуть створити небезпеку проникнення в залозу мікробів і виникнення на цьому фоні маститів.

Наші дослідження показали, що такий адаптоген, як женьшень в експериментальних умовах проявляє на організм багатогранну дію, в тому числі на функцію молочної залози. Як показали наші гістохімічні дослідження цей вплив відбивається на морфологічній будові і секреції молочної залози, зокрема, в лактоцитах підвищується активність ЛФ, що свідчить про посилений транспорт через мембрани попередників складових частин молока. Активність СДГ в ацинарних клітинах свідчить про посилений обмін речовин, особливо в лактоцитах першого типу. Звідси стає зрозумілим вплив екстракту женьшеня на лактацію. Це сприяє нормалізації секреторних процесів при екстремальних впливах на молочну залозу. Зокрема, при введенні екстракту женьшеня самкам з іритацією виявлено значне зменшення числа лактоцитів зі зруйнованими апікальними ділянками плазмолеми, а також відсутність деструкції мембранних органел. При цьому наступала нормалізація лімфоїдних утворів і вони не відрізнялися за своєю структурою від цих утворів у інтактних тварин.

ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ

I. У молочній залозі лактуючих тварин виявлено чотири головні типи лактоцитів: перший тип з розвинутим синтезуючим і енергопродукуючим апаратом, другий тип - з добре вираженою системою формування секреторних включень - комплексом Гольджі - і секреторними гранулами, які зв"язані з його функціональним полюсом, третій тип лактоцитів характеризується вираженими процесами згасання секреторної діяльності, і четвертий тип - клітини в стані апоптозу - програмованої смерті клітин.

2. Іритаційні впливи на організм лактуючих самок приводить до змін у молочній залозі, що свідчить про порушення процесу секреції - появі збільшеного числа клітин і їх органел, які піддаються деструкції, з підвищенням активності КФ в лактоцитах, зі збільшенням числа ацинарних клітин з явищами апоптозу, зростанням СК, особливо нейтрофілів у секреті залози.

3. В лактуючій молочній залозі наступають цитоморфологічні і цитохімічні зрушення залежності від змін стану організму: при іритаційному впливі відзначається зростання числа еозинофілів, при введенні препарату женьшеня збільшується кількість тканинних базофілів з їх дегрануляцією по ходу дрібних кровоносних судин.

4. Виявлене збільшення кількості СК в молоці, що наступає при іритаційній дії, є показником преморбідного стану молочної за-

лози, при зниженні реактивності організму лактуючої самки може привести до розвитку патологічного процесу в залозі.

5. При введенні женьшеня інтактним лактуючим самкам білих щурів в молочній залозі підвищується активність СДГ - в секреторному епітелії, а також неспецифічних фосфатаз: ЛФ - в лактоцитах і стінках мікрогемосудин, КФ - в лізосомах секреторних клітин. Такі показники свідчать про покращення кровопостачання і активізацію секреторного процесу.

6. Женьшень - адаптоген рослинного походження - у лактуючих тварин /самок білих щурів/, які піддаються іритаційному впливові, сприяє стабілізації ліпопротеїнових біомембран і тим самим перешкоджає деструкції клітинного органона в лактоцитах, що забезпечує збереження молочної продуктивності тварин.

7. Соматичні клітини - лейкоцити і злущені клітини паренхіми молочної залози, будучи обов"язковими компонентами молока, піддаються кількісним зрушенням, зв"язаним з функціональними і альтеративними станами залози: під впливом іритації збільшується їх кількість за рахунок нейтрофілів і епітеліоцитів, при деякому зниженні числа молозивних макрофагів. Введення екстракту женьшеня приводить до зростання числа лімфоцитів і молозивних макрофагів в секреті молочної залози та до деякого підвищення активності неспецифічних фосфатаз і сукцинатдегідрогеназ в нейтрофілах.

8. В лактуючій молочній залозі білих щурів відзначаються периваскулярні зрушення в залежності від функціонального стану організму. При стимуляції лактації введенням екстракту женьшеня як і при його протекторному застосуванні в експерименті з іритацією навколо дрібних кровоносних судин трофічного рівня збільшується кількість гепариноцитів з їх дегрануляцією.

9. Біологічно активні речовини женьшеню забезпечують нормалізацію обмінних процесів і сприяють стабілізації біологічних мембран в секреторній системі молочної залози, структура яких порушується при іритації, а також активізують лімфоїдні елементи у залозі, а тому можуть бути використані для профілактики негативної дії екстремальних факторів.

1. Цимбал Н.М. Порівняльна морфогістохімічна характеристика молочної залози лабораторних тварин // Тези доповідей першої звітної наукової конференції викладачів і студентів географічного факультету Тернопільського педінституту за 1990 р., Тернопіль, 1991.-С.60.

2. Цымбал Н.Н. Морфологические преобразования в молочной железе при ирритационных воздействиях// Научный симпозиум "Экспериментальные и клинические аспекты медицинской и спортивной антропологии". М., 1991.-С.117-118.

3. Цымбал Н.Н., Шуст И.В. Сравнительная гистофизиологическая характеристика секреторных клеток молочной железы /рукопись/ // Терноп.гос.пед.ин-т.-Тернополь, 1992.-С.9.-Библиогр.: 21 назв.- Укр.-Деп.в УКРИНТЭИ 06.07.92, № 1018 - Ук.92.

4. Шуст І.В., Цимбал Н.М., Шуст І.І. Методика одержання відбитків молочної залози лабораторних тварин для вивчення кількості і складу соматичних клітин секрету // Тези доповідей звітної наукової конференції викладачів та студентів географічного факультету Тернопільського держ.педінституту за 1991 рік, Тернопіль, 1992.-С.100.

5. Цимбал Н.М., Шуст І.В. Усвідомлюча робота з гігієни та профілактики захворювань молочної залози в курсі "материнство" на кафедрі здорового способу життя // Здоровье - через образование: Тезисы докладов расширенного Украинского Совета кафедр медицинской подготовки, Бердянск-Киев, 1992.-С.113-114.

6. Цимбал Н.М. Морфо-гістохімічні зміни у молочній залозі при іритаційних впливах // Матеріали звітної наукової конференції викладачів і студентів природничого факультету Тернопільського держ. педінституту за 1991 рік, Тернопіль, 1993.-С.60.

7. Цимбал Н.М., Шуст І.В. Гістофізіологія лактоцитів у молозивний і "запускний" період лактації // Матеріали звітної наукової конференції викладачів і студентів природничого факультету Тернопільського держ.педінституту за 1991 рік, Тернопіль, 1993.-С.62.

8. Шуст І.В., Шуст І.І., Цимбал Н.М. Методика вивчення впливу іритації на молочну залозу в умовах експерименту // Науково-методичні аспекти фізіології. Львів, 1993.-С.99.

9. Шуст І.І., Шуст І.В., Цимбал Н.М., Волинець С.О. Субмікроскопічні зміни в молочній залозі при холодовому стресі // Матеріали звітної наукової конференції викладачів і студентів природничого факультету Тернопільського держ.педінституту за 1992 рік, Тернопіль, 1993.-С.46.

Підписано до друку 21. 04. 94 р. Формат 60×84/16. Друк. офсет. Папір офс. Умов. друк. арк. 0.93. Умов. фарбо-відб. 1.15. Обл.-вид. арк. 1,0. Тираж 100 прим. Зам. 2474.

Обласна книжкова друкарня, 290000, Львів, вул. Стефаника, 11.