

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
**«БЕЛГОРОДСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»**
(Н И У « Б е л Г У »)

ИНСТИТУТ ФАРМАЦИИ, ХИМИИ И БИОЛОГИИ

КАФЕДРА БИОЛОГИИ

**МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА
БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ТОЧЕК КРОЛИКОВ**

Магистерская диссертация
обучающегося по направлению подготовки 06.04.01 Биология
очной формы обучения, группы 07001742
Соловьевой Алёны Николаевны

Научный руководитель
к.б.н., доцент кафедры биологии
Горбачева А. А.

Рецензент
заведующий кафедрой
естественно-математического и
технологического образования
ОГАОУ ДПО «Белгородский институт
развития образования»,
кандидат биологических наук
Трапезникова Ирина Валентиновна

БЕЛГОРОД 2019

Оглавление

Введение.....	3
Глава 1. Обзор литературы по теме исследования.....	6
1.1. История изучения точек активности в ветеринарной практике.....	6
1.2. Морфологическое строение точек активности животных.....	13
1.3. Физиологические основы и клиническое применение рефлексотерапии в ветеринарии.....	18
Глава 2. Материалы и методы.....	27
2.1. Методы поиска биологически активных точек.....	27
2.2. Методы подготовки гистологического препарата.....	29
2.3. Методы окраски и исследования гистологических препаратов.....	36
Глава 3. Результаты собственных исследований и их обсуждение.....	45
3.1. Морфологическое строение корпоральных биологически активных точек кролика.....	45
3.2. Сравнительный анализ мест локализации точек активности и рядом рас- положенных участков кожного покрова кролика.....	48
Выводы.....	56
Список использованных источников.....	57

Введение

Актуальность. Одной из современных задач биологической науки является разработка и внедрение эффективных и безопасных методов улучшения общего состояния организма в быстроменяющихся условиях среды обитания. Эффективные и безопасные методы лечения необходимы как в медицинской практике, так и ветеринарии. В связи с техническим прогрессом ежегодно увеличиваются эксплуатационные нагрузки на животных, особенно сельскохозяйственных. А современному обществу нужна экологически чистая животноводческая продукция, поэтому очень важным становится применение без медикаментозных методов лечения животных. Одним из таких методов является рефлексотерапия. В основе этого метода лежит воздействие на определенные биологически активные точки (БАТ) для стабилизации систем организма [Казеев, 2014].

Существуют прогнозы, что нетрадиционная медицина снова будет играть важную роль в жизни человека и других животных. Эти предположения подтверждаются тем, что изучение топографии и морфологии точек активности животных в настоящее время является одной из передовых тем для более детального рассмотрения, как в России, так и в странах Европы, Азии, Северной Америки. Методики воздействия на точки активности находятся в постоянном развитии и усовершенствовании. Так, в странах с развитой экономикой, Западной Европе и Америке, пользуются широкой популярностью высокотехнологичные методы воздействия на точки акупунктуры, среди них: лазерное и инфракрасное излучение, ультразвук, магнитное поле. В азиатских странах и России обрели популярность методики, которые требуют менее технологичный подход: низкочастотный электрический ток или воздействие различных лекарственных препаратов [Загоровский, 2001].

В каждом живом организме насчитывается от 50 до 700 точек активности, которые связаны меридианами. Каждый меридиан привязан к определённому органу или системе организма, и отвечает за его стабильное функ-

ционирование. Размер БАТ очень маленький. Из-за большого количества точек активности, их небольших размеров, морфофункциональная характеристика БАТ плохо изучена [Вандан, 2015]. В этой связи тема нашего исследования является актуальной.

Исследованию БАТ животных посвящено большое количество научных трудов, как за рубежом, так и в нашей стране. В европейских странах долгое время не воспринимали всерьез теорию об энергии точек активности. Но, начиная с середины XX века, ученые стали изучать особые точки эпидермиса для применения их при лечении, без медикаментозного вмешательства.

В нашей стране изучению БАТ животных посвящено большое количество научных трудов доктора сельскохозяйственных наук Г. В. Казеева [2001г., 2009 г., 2012 г., 2013 г.]. Им разработан топографический атлас точек активности животных [2000]. В этом же году он выпустил монографию «Ветеринарная акупунктура» [Казеев, 2014]. Что касается изучения БАТ кролика, то на эту тему есть научные изыскания, посвящённые температурным показателям аурикулярных точек активности кролика породы белый великан. Анализ зарубежной и отечественной литературы, показал, что морфологическое и топографическое строение БАТ кролика изучено недостаточно.

Проблема исследования. Малое количество литературных данных по теме исследования послужило основанием для изучения топографии и морфологического строения БАТ кролика.

Цель исследования: Дать морфологическую характеристику биологически активных точек кроликов.

Задачи исследования:

1. Определить топографическое строение БАТ спины кролика;
2. Выявить особенности микроструктуры точек акупунктуры кролика;
3. Провести сравнительный анализ мест локализации точек активности и рядом расположенных участков кожного покрова кролика.

Методы исследования. Для проведения лабораторного исследования использовались традиционные гистологические методики. Материалом для исследования послужили кусочки кожи вместе с подкожной жировой клетчаткой из мест залегания корональных БАТ кролика и рядом расположенных участков кожи. Обнаружение точек активности производилось с помощью прибора «Поиск».

Научная новизна работы. Уточнена топография биологически активных точек спины кролика. Впервые было осуществлено комплексное морфометрическое исследование дорсальных точек активности данного вида животных.

Теоретическая значимость и практическая ценность работы. Полученные фактические материалы позволили установить анатомические закономерности топографического расположения биологически активных точек кролика. Уточненные и дополненные данные по топографии и гистологическому строению корональных БАТ кролика могут быть использованы в учебном процессе при изучении соответствующих разделов нормальной и топографической анатомии животных, а также в клинической ветеринарной практике.

Данная выпускная квалификационная работа состоит из трёх глав, введения, выводов, списка используемых источников.

Глава 1. Обзор литературы по теме исследования

1.1 История изучения точек активности в ветеринарной практике

Биологически активные точки или как их еще называют точки акупунктуры – это небольшие участки кожи, которые имеют определенные физиологические особенности, они служат связующим звеном в системе «кожный покров – ЦНС – кровеносная система – внутренние органы». Термин «биологически активная точка» был предложен А. К. Подшибякиным [Василенко, 2015].

В области ветеринарной науки точки активности использовали еще в третьем тысячелетии. В древнем Китае в то время была популярна нетрадиционная медицинская практика «Чжень-цзю терапия». Данные исторических трактатов свидетельствуют об её использовании при лечении слонов в 589-907 гг, когда и появилась первая книга по методике иглоукалывания и прижигания в ветеринарии. Её автором был Сун-Ян. Согласно «Чжень-цзю терапии» на теле животного есть места, через которые можно осуществить воздействие на внутренние органы при их заболеваниях и патологиях для получения лечебного эффекта [Катин, 2015].

В зарубежной Европе так же изучали особенности БАТ и пытались объяснить их действие на организм. Существует большое количество теорий функционального значения точек активности в зависимости от видов воздействия на них [Катин, 2015].

Рефлекторная теория основывается на повреждающем воздействии на БАТ. Повреждение осуществляет ряд последовательных реакций, которые условно разделяют на местные, сегментарные и общие. Местные изменения включают в себя механизм ответных реакций периферических нервных волокон. Сегментарные реакции проявляются изменениями функционального состояния органов и тканей. Общие реакции характеризуются многочисленными изменениями функционального состояния, прежде всего в самой ЦНС [Рябуха, 2014].

Диффузная теория основывается на взаимосвязи внутренних органов и поверхности тела, пронизанного большим количеством нервных волокон. В этом случае сигналы из пораженного органа следуют непосредственно к поверхностным тканям (к соответствующим данному органу активным точкам) и вливаются в близлежащие соматические нервные окончания [Шевченко, 2017].

Гистаминная теория основывается на механическом повреждении тканей, при котором происходит выброс тучными клетками гистамина. Последний переходит в активную форму и активизирует местный обмен веществ [Шевченко, 2017].

Флокуляционная теория основана на феномене конформационных изменений белков (особенно – белковых элементов крови) в ответ на раздражение кожных рецепторов [Зверев, 2013].

Электротермическая теория предполагает, что активные точки имеют свойство преобразовывать любые внешние физико-химические раздражения в биологически значимые сигналы [Клименко, 2014].

В 1893 году Маккензи был изучен феномен образования зон гипералгезии. Гипералгезия – это аномально высокая чувствительность организма к болевым сигналам, поступающим в головной мозг при слабом воздействии на кожный покров. В основе этого явления лежат рефлексы. После активного изучения явления гипералгезии, в европейских государствах стали активно развиваться методы рефлексотерапии [Рябуха, 2014].

Рефлексотерапия – это совокупность методов и методик, основывающихся на раздражающем воздействии на БАТ с целью появления рефлекторных реакций различных систем организма [Вержбицкая, 2014].

В настоящее время точки активности применяют при лечении болезней опорно-двигательного аппарата у различных домашних животных. Кроме этого, достигнуты положительные результаты использования БАТ при обезболивании и лечении колик в органах желудочно-кишечного тракта у животных [Урсова, 2010].

Рефлексотерапия воздействует на клеточный иммунитет и положительно влияет на естественную резистентность организма кроликов. Так же, воздействие на точки активности кролика стимулирует иммунную систему, и влияет на работу органов кроветворения и пищеварения. Известно, так же положительное влияние БАТ на сердечно-сосудистую систему и заживление тканей [Латышев, 2017].

Достигнуты большие результаты при использовании БАТ для лечения нарушения функции зрения у собак. Впервые данный метод был описан в 1996 году [Латышев, 2017].

В настоящее время пользуется популярностью методика комплексного лечения животных, когда вместе с ветеринарными препаратами применяются методы рефлексотерапии. Данную методику используют для лечения заболеваний опорно-двигательного аппарата, репродуктивных органов, а также в качестве седативного средства при травмах позвоночника и дисплазии суставов, интоксикациях организма животных [Зверев, 2013].

Результаты, полученные на собаках, свидетельствуют в пользу положительного сочетания акупунктуры с фармакологическими средствами при патологиях различной этимологии [Копчекчи, 2016].

Положительный эффект сочетания акупунктуры с медикаментозным лечением, достигнут при лечении желудочно-кишечного тракта у лошадей. Имеются данные об обезболивающем действии электропунктуры на овец. Отмечена ускоренная регенерация костной и мышечной ткани у крыс при воздействии на БАТ. Эффективность метода описана при лечении поросят и телят с диареей [Пойденко, 2016].

Есть данные о том, что сеансы рефлексотерапии при гепатитах способны нормализовать функцию печени. Исследование проводилось на собаках [Niboyet, 2003].

В настоящее время в области биологии одной из ключевых задач является воспроизводство, так как пока остается не решенной проблема минимизации высокой эмбриональной смертности, связанной с большим количе-

ством разнообразных факторов. В ветеринарной практике на сегодняшний день достигнуты результаты успешного использования БАТ при экстракорпоральном оплодотворении, поскольку при стимуляции точек происходит усиление маточного кровотока, который отвечает за обмен веществ и питание эмбрионов [Копчекчи, 2016].

Имеются данные об эффективности иглоукалывания при бесплодии, вызванном поликистозом, стрессом и иммунологическими расстройствами. Доказано, что иглоукалывание активирует рецепторы кожи. Также мы знаем, что в животноводстве для улучшения воспроизводства, в частности для синхронизации полового цикла, широко используются различные гормональные препараты и их аналоги. Однако результаты этого не всегда соответствуют ожиданиям. В таких условиях иглоукалывание создает ощутимый полезный эффект [Плахотин, 2015].

Получены положительные результаты при, стимуляции родовой деятельности и профилактике аборт у коров, обезболивания и различного рода сосудистых оболочек из разных слоев общества; Кроме того, наблюдалось увеличение привесов у молодняка [Larsen, 2007].

Рефлексотерапия точек активности может оказывать, так же комбинированное воздействие. Так, к примеру, при проведении электроэнцефалограммы, было выявлено, что раздражающие воздействия на точках акупунктуры при использовании седативных препаратов, показало противоположный седативный эффект [Казеев, 2014].

Биологически активные точки в большинстве случаев уникальны, однако с одним органом могут быть связаны несколько точек и, наоборот, одна точка может быть связана с несколькими органами, но в пределах того же сегмента [Рябуха, 2016].

Учитывая анатомические или топографические особенности расположения активных точек, предложено разделить их на три вида:

1. Кожно-нервные (корпоральные);
2. Мышечно-сухожильно-нервные;

3. Сосудисто-нервные.

С учетом функционального назначения и места расположения выделяют шесть групп точек активности (Табл. 1.1.).

Таблица 1.1.

Функциональное значение групп точек активности животных [Рябуха, 2016]

Номер группы точек акупунктуры	Сегмент	Функциональное значение
1. Точки общего значения	Вдоль отделов позвоночника.	Оказывают рефлекторное влияние на функциональное состояние центральной нервной системы.
2. Сегментарные точки	Расположены в области кожных метамеров, соответствующих зонам иннервации определённых сегментов спинного мозга	Эти точки дают выраженную рефлекторно-сегментарную реакцию со стороны больного внутреннего органа.
3. Спинальные точки	Расположены по вертебральной и паравертебральной линиям соответственно месту выхода нервных корешков и вегетативных волокон	Иннервируют определённые органы и системы.
4. Регионарные точки	Расположены в зоне проекции на кожу определённых внутренних органов.	Оказывают рефлекторное влияние на внутренние органы
5. Локальные точки	Расположены наиболее близко к органу, головному или спинному мозгу.	Они обладают наиболее выраженным специфическим действием на данный орган или часть тела.
6. Отдалённые точки	Расположены наиболее далеко от больного внутреннего органа, спинного или головного мозга.	Они обладают в большинстве случаев общеукрепляющим действием на организм.

В местах биологически активных точек сгруппировано большое количество капилляров. Капиллярная сеть – это одна из ключевых структурных единиц организма, с помощью которой происходит питание всех клеток и клеточных образований. Они способствуют высвобождению избыточных продуктов жизнедеятельности организма, таких как нерастворимые соли кальция, фосфаты, аллергены и избыточный холестерин.

У каждого живого организма имеется сеть меридианов. по ним движутся различные вещества, проходят энергетические потоки, осуществляется полный обмен информацией между внешней и внутренней средой.

разделяют четыре основные функции меридианов:

1. Уравнивание потоков крови и жизненной энергии,
2. Гармонизация внутренних органов,
3. Оживление мышц и костей,
4. Облегчение работы суставов [Казеев, 2014].

Исходя из данных древней китайской медицины, меридианы организма могут указать факторы и пути возникновения различных болезней систем и органов организма.

Восточная медицина издавна известна накопленными знаниями, в которых говорится о способах лечения заболеваний по меридианам. При этом, Европейская медицина на протяжении долгого времени не хотела признавать наличие меридианной сети в живом организме.

Только в 1986 году во Франции при составлении атласа БАТ были проведены аналоги на теле человека, совпадающие с меридианами, описанными прежде в древневосточных учениях V–III вв. Полученные знания европейских ученых стали очевидным экспериментальным доказательством существования меридианов (энергетических каналов) [Концевова, 2017].

Энергетические каналы организма объединяются в единую сеть, так же как и внутренние органы, они составляют единую систему.

В соответствии с древнекитайскими учениями выделяют 12 основных меридианов. Данные меридианы направлены к основным органам, к примеру, меридиан сердца, меридиан легких, кишечника, печени и т.п.

В результате работы меридианов, как единой системы, происходит стабилизация допустимого уровня положительной энергии в организме.

Имеется большой круг циркуляции энергии. По нему меридианы располагаются друг за другом и составляют замкнутую систему. Последняя возбуждает каждый орган организма, что ведет к равномерному распределению энергии. В случае, если будет заблокирован, например, канал в районе конечности, то органы не получают в необходимом объеме количества энергии и не смогут нормально выполнять свои функции.

Есть теория о том, что БАТ и энергетические меридианы взаимосвязаны. Автором данной теории является В. Д. Молостов. Он пытался объяснить природу точек активности [Казеев, 2014].

Функциональное значение кожного покрова так же имеет связующую цепочку между внутренней и внешней средой организма [Василенко, 2014].

Экспериментально доказано, что биологически активные точки – это те участки эпидермиса, которые наиболее точно отражают изменения, происходящие в организме.

Изучение электропроводности точки активности дало возможность выявить её изменение в зависимости от функционального состояния вегетативной нервной системы при заболеваниях внутренних органов [Василенко, 2014].

Исходя из вышеизложенного, можно сделать вывод, что биологически активные точки на теле животного играют важную роль в процессе сохранения здоровья организма.

Воздействие на точки акупунктуры имеют огромное функциональное значение – от общеукрепляющего действия до выраженного специфического действия на конкретный орган или целую систему организма.

Таким образом, можно сказать, как происходит процесс взаимодействия биологически активных точек с внутренними органами и системами, и какое его функциональное значение для живого организма в целом.

Изучение механизмов действия точек активности на физиологическом, биохимическом и других уровнях позволяет разработать научно обоснованные подходы к оптимизации терапевтических приемов. Использование данных подходов позволит повысить эффективность профилактических мероприятий в ветеринарной практике.

1.2. Морфологическое строение точек активности животных

Большое количество ученых, исследовавших БАТ, склонялись к тому, что точки акупунктуры – это специфические образования, которые имеют ярко выраженные отличительные особенности кожного покрова. Так, В. Г. Вогралик, М. В. Вогралик [2001] считали, что точка активности – это нейро-рецепторный клеточно-гуморальный комплекс, который заложен на разной глубине кожного покрова. Как участок эпидермиса, площадью до 10 мм² с большим количеством рецепторов определила БАТ Д. М. Табеева. Более четкое определение дал точкам акупунктуры Г. Лусван. Он считал, что биологически активная точка – это ограниченный участок кожного покрова с комплексом микроструктур (сосуды, нервы, клетки соединительной ткани) [Рябуха, 2014].

Во всех вышеупомянутых определениях биологически активных точек имеются описания количественных отличий в морфологическом строении. Это является свидетельством того, что эти точки уникальны и зависят от внешних и внутренних условий функционирования организма.

В 1980 году группа ученых под руководством Н. И. Вержбицкой провели исследования участков кожи в области точек акупунктуры и окружающей области [Вержбицкая, 2014].

В ходе исследования было выявлено, что точки акупунктуры являются, очень сложным морфоструктурным комплексом. Составные части последнего представлены каналом и локусом. В канале сосредоточено небольшое количество клеточных элементов. В нем доминируют волокна тканей. Канал тесно связан с более рыхлой соединительной тканью, которая расположена между подкожных мышц. Локус имеет форму колбы. В локусе БАТ содержатся: фибробласты, гистиоциты, лейкоциты, жировые клетки, тучные клетки. Еще здесь расположены нервные пучки различных размеров. По гистохимическим характеристикам их можно отнести к гистаминергическим [Вержбицкая, 2014].

По периферии в области БАТ преобладают сосуды микроциркуляторного русла и нервные терминали. Они обернуты тонковолокнистой соединительной тканью с тучными клетками (Рис. 1.1.).

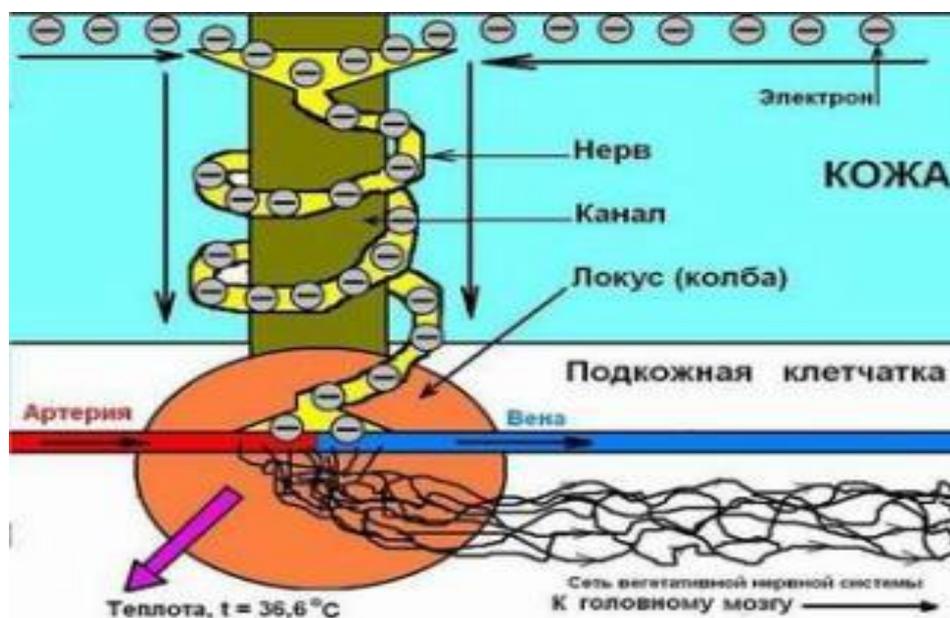


Рис. 1.1. Строение акупунктурной точки [Рябуха, 2014]

В биологически активных точках, осуществляется процесс поглощения электронов и преобразование электрической энергии в тепловую. В результате этого процесса организм может регулировать внутреннюю температуру 36,6 °C. Энергия впитывается кожным покровом и трансформируется, а затем распространяется по всему телу.

При изучении биологически активных точек, Г. Д. Новинский доказал, что соединительная ткань в центре их расположения более рыхлая. Волокна тканей имеют форму сетки с шестигранными ячейками. Форма точек активности была определена Г. Кельнером [Вандан, 2015].

В области биологически активных точек Ф. Г. Портновым были выявлены скопления тучных клеток, которые производят, накапливают и выделяют вещества, влияющие на нервные волокна.

Эти морфоструктурные элементы БАТ способствуют образованию связей между точкой и внутренним органом.

В 2013 году на базе «НИУБелГУ» проводилось исследование, где были рассмотрены микроструктурные особенности мест нахождения точек акупунктуры собак с участков кожи, покрытых шерстью и с безволосых. В ходе этих исследований было установлено, что толщина слоев эпидермиса в обычной коже и в местах локализации биологически активных точек сильно отличается. Например, толщина обычного участка базального слоя кожи животного равна 15.91 ± 2.98 мкм, а толщина участка в месте локализации БАТ равняется 5.64 ± 3.35 мкм. А в сосочковом слое, например, толщина кожи в области БАТ будут немного больше [Горбачева, 2011].

Васкуляризация точек акупунктуры в безволосых участках покрова больше, чем в БАТ с волосатым покровом у артериол на 30,94%, а у венозных сосудов – 69,71%. Количество артериальных сосудов в местах локализации точек акупунктуры на 50 % больше, чем в пределах кожного покрова. Отличается и их диаметр, он так же больше на 80 и 50 %. При этом количество и диаметр больше в области точек акупунктуры. В точке активности толщина стенки артериальных сосудов варьирует от 158,4 до 170,82 мкм, в среднем $163,28 \pm 3,588$ мкм. Стенка вен тоньше – толщина стенки колеблется в пределах $62,04 \pm 2,075$ [Горбачева, 2016].

Волосы в точке активности исследованной области расположены пучками, у большинства из них имеется хорошо развитое мозговое вещество. При этом в окружающей их коже наблюдается большое количество покровных волос со слабо развитым мозговым веществом. В волосяные влагалища БАТ впадают мелкие сальные железы, вокруг фолликулов которых, лучше развита нервная сеть с инкапсулированными нервными окончаниями и микроциркуляторным руслом, в отличие от рядом лежащих участков кожи [Горбачева, 2016].

Кроме того, известно, что точки акупунктуры обладают своеобразными физическими характеристиками. В тех местах, где расположены точки ак-

тивности происходит увеличение потребления кислорода тканями, чем в остальных зонах кожного покрова. При этом электрическое сопротивление эпидермиса меньше среднего, но значительно выше чувствительность при раздражении [Пешкова, 2012].

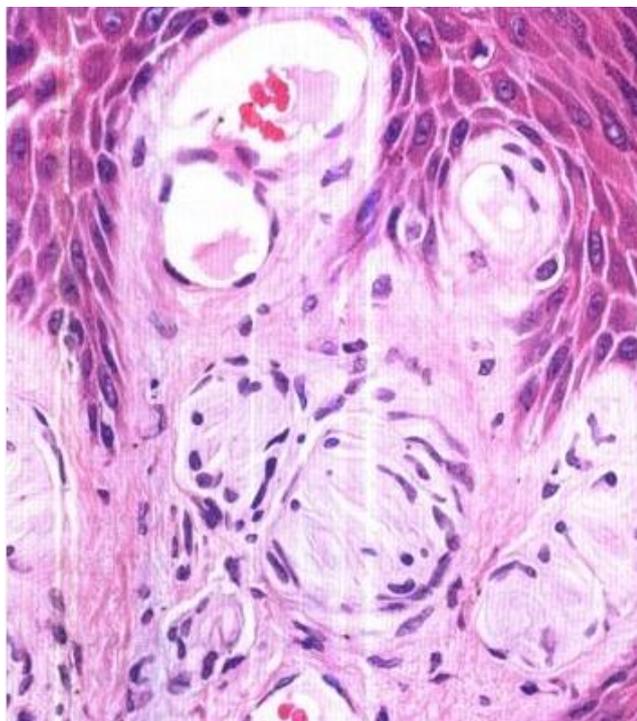


Рис. 1.2 Тельца Майснера [Самусенко, 2015]

Окраска гематоксилин-эозином

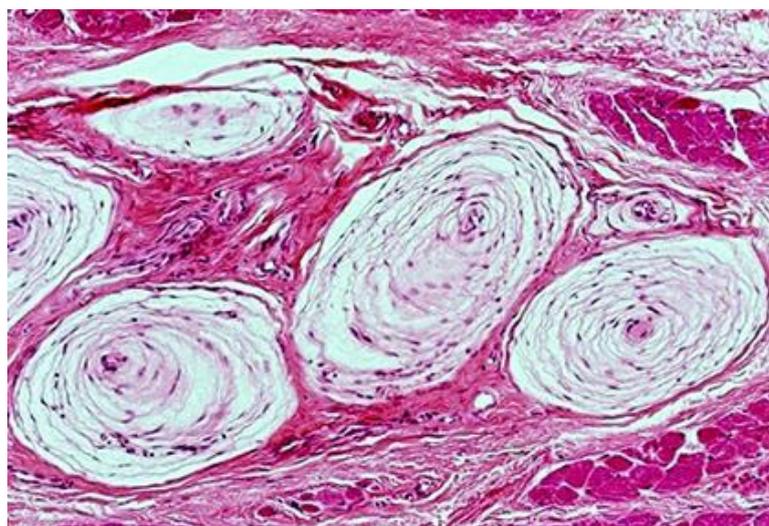


Рис. 1.3 Тельца Фатера-Пачини [Шевченко, 2017]

Окраска гематоксилин-эозином

В морфологической и функциональной характеристике механизма регуляции точек акупунктуры, большое значение имеют анастомозы. Они делятся на: артерио-артериальные, вено-венозные, артериовенозные (Рис. 1.4.).

Благодаря наличию анастомозов кровь имеет возможность транспортироваться во многих направлениях по кровеносному руслу.

Известно, что капиллярная сеть выражена поперечными соединениями – анастомозами. За их счёт артериальные и венозные стебли капилляров имеют свойство замыкаться так, что приток крови к периферии сбивается, а при минимально открытых анастомозах резко возрастает приток крови на периферию.

В тельца Фатера-Пачини (Рис. 1.3.) вливаются кровеносные сосуды совместно с центральным нервным волокном и его оболочками. В центре тельца Фатера-Пачини, сосуды распадаются в стороны от основания нервного волокна и разветвляются в межоболочечных пространствах. Периваскулярная сосудистая сеть инкапсулированных нервных окончаний в точках акупунктуры представлена множеством артериовенозных анастомозов, которые регулируют давление в точках акупунктуры [Щербатюк, 2011].

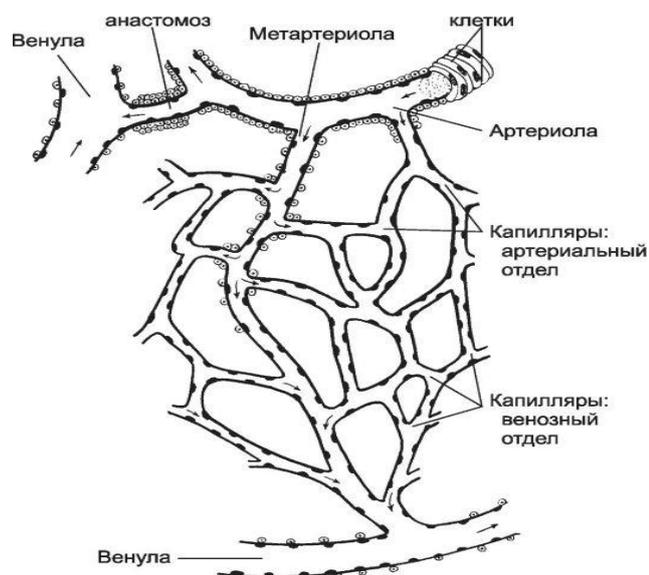


Рис. 1.4. Микроциркуляторное русло в области БАТ эпидермиса [Halata, 1996]

Из данного анализа следует, что диаметр сосудов находящихся в зоне точек акупунктуры весьма разнообразен.

Встречаются все звенья микроциркуляторного русла. Однако их диаметр выше, чем в интактных зонах на 12,5% у артериол и на 10,2% у венул [Казеев, 2014].

1.3. Физиологические основы и клиническое применение рефлексотерапии в ветеринарии

На сегодняшний день акупунктура в области ветеринарии становится популярнее во всем мире. Среди европейских стран ведущую роль играет Германия, среди азиатских государств – Китай.

В нашем государстве это направление отличается от привычных нам методов, и развивается на данный момент времени предпочтительно в крупных городах.

Методы рефлексотерапии, применяемые в области ветеринарии имеют определённые достоинства, такие как:

- побочные эффекты характерные для медикаментозного лечения при рефлексотерапии минимальны;
- данная методика лечения имеет высокий положительный терапевтический эффект;
- рефлексотерапию можно комбинировать с медикаментозным и хирургическим лечением [Казеев, 2014].

В настоящее время метод рефлексотерапии стремительно изучается. Созданы целые институты, которые занимаются изучением методологических подходов акупунктуры.

На сегодняшний день выделяют простые и сложные способы рефлексотерапии. Их смысл заключается в раздражающем воздействии на точки активности.

В нашей стране, созданы топографические атласы БАТ домашних животных и методики их использования при различных заболеваниях. Знание мест расположения точек активности делает возможным использование этого метода в практике ведущими ветеринарными специалистами, а так же в условиях промышленного животноводства [Казеев, 2014].

Изучая биологически активные точки различных животных, Казеев выявил закономерность зависимости увеличения количества точек активности, при увеличении физической величины тела. Так, он обнаружил, что наибольшее количество точек акупунктуры среди домашних животных будет у лошадей (Рис 1.5.).

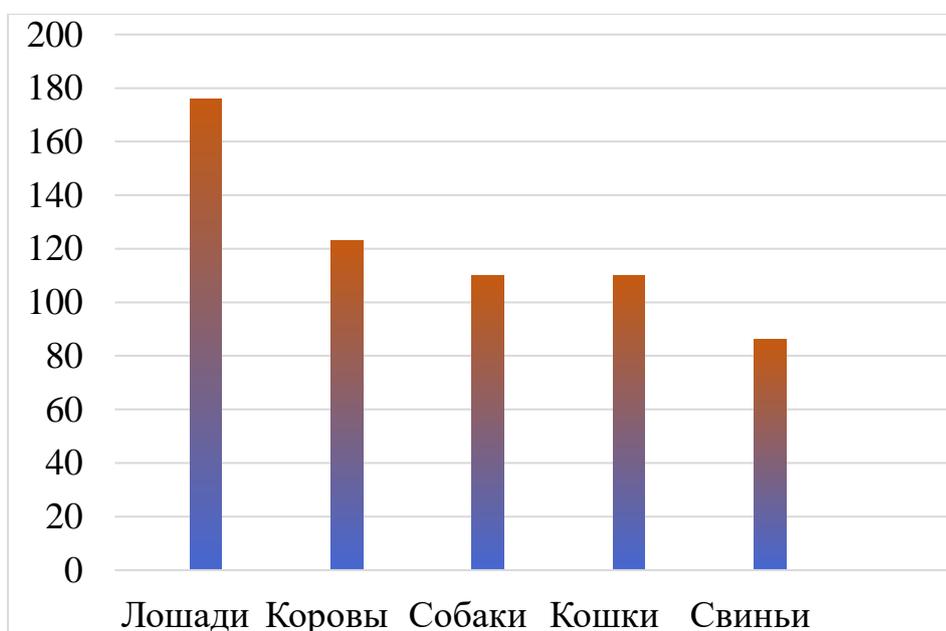


Рис. 1.5. Количество БАТ животных по атласу Г.В. Казаева [Казеев, 2014]

Указанные в атласе точки на конечностях животных и на боковых поверхностях туловища и головы расположены симметрично и при лечении используются с двух сторон и одновременно.

Но, исходя из анализа данных атласа БАТ, пришли к выводу, что количество активных точек у животных будет варьировать, в зависимости от физического состояния животных. При нарушении обменных процессов на кле-

точном уровне появляются так называемые «точки-глашатаи», которые сигнализируют о появившихся нарушениях в определенных органах.

В таблице 1.2. представлены виды рефлексотерапии в зависимости от места локализации БАТ.

Таблица 1.2.

Виды рефлексотерапии в зависимости от места
локализации БАТ [Копчекчи, 2016]

№ п/п	Вид рефлексотерапии	Локализация точек акупунктуры
1	Корпоральная	Воздействие на точки акупунктуры поверхности тела
2	Аурикулярную	Воздействие на точки акупунктуры ушной раковины
3	Краниальная или скальпотерапия	Воздействие на точки акупунктуры головы
4	Назотерапия	Воздействие на область носа
5	Манотерапия и педотерапия	Воздействие на область кистей и стоп
6	Спондилотерапия	Воздействие на область позвоночника
7	Глоссотерапия	Воздействие на область языка

Для лечения и профилактики различного рода заболеваний используют разные активные точки. На рисунке 1.6. показаны места локализации точек акупунктуры, используемых при лечении болезней позвоночника (грыжа дисков, остеохондроз, спондиллез) у собак.

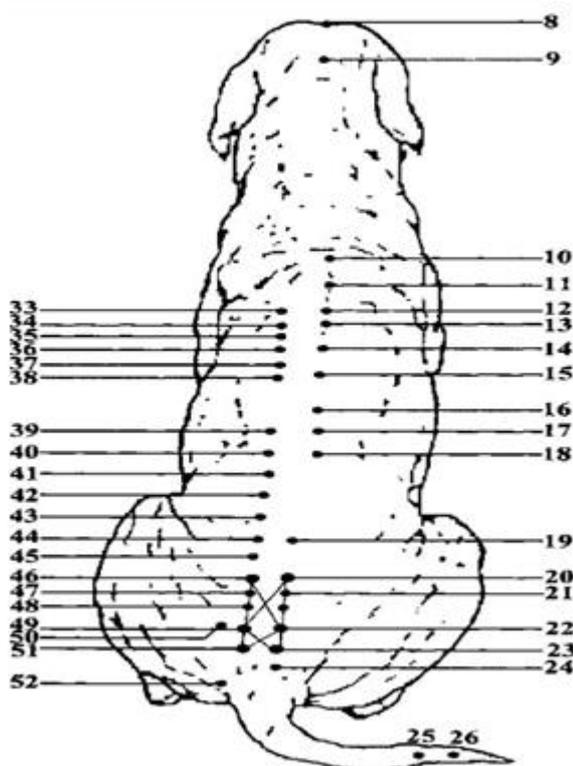


Рис. 1.6. Места локализации БАТ собак [Рябуха, 2014]

Точки на спине расположены между остистыми отростками позвонков, а также паравертебрально, на линии, идущей вниз от медиальных краев лопаток, на пересечении с горизонтальными линиями, проходящими между остистыми отростками позвонков [Концеева, 2017].

На рисунке 1.7. показаны места локализации точек акупунктуры кошек.

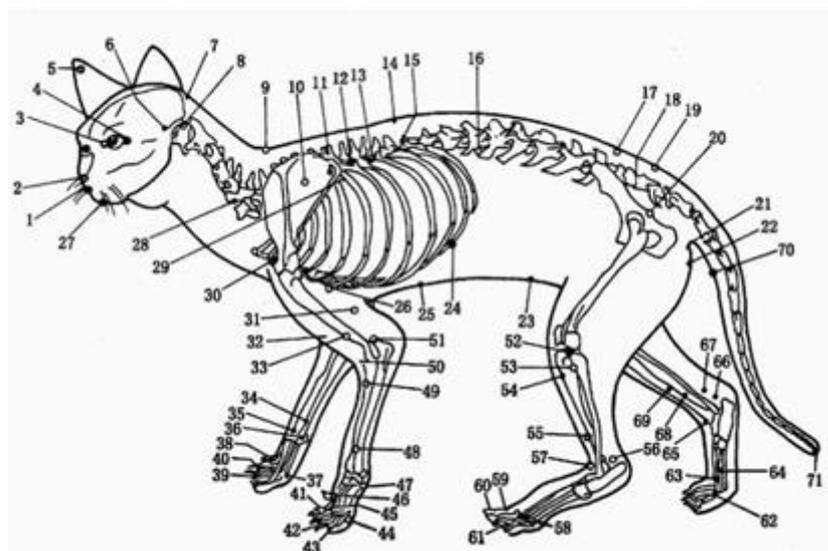


Рис. 1.7. Места локализации точек акупунктуры кошек [Пойденко, 2016]

На рисунке 1.8. показаны места локализации точек активности кроликов. Например, при заболеваниях глаз у кроликов используют точки акупунктуры под номерами 4, 5, 6 (Рис. 1.8.).

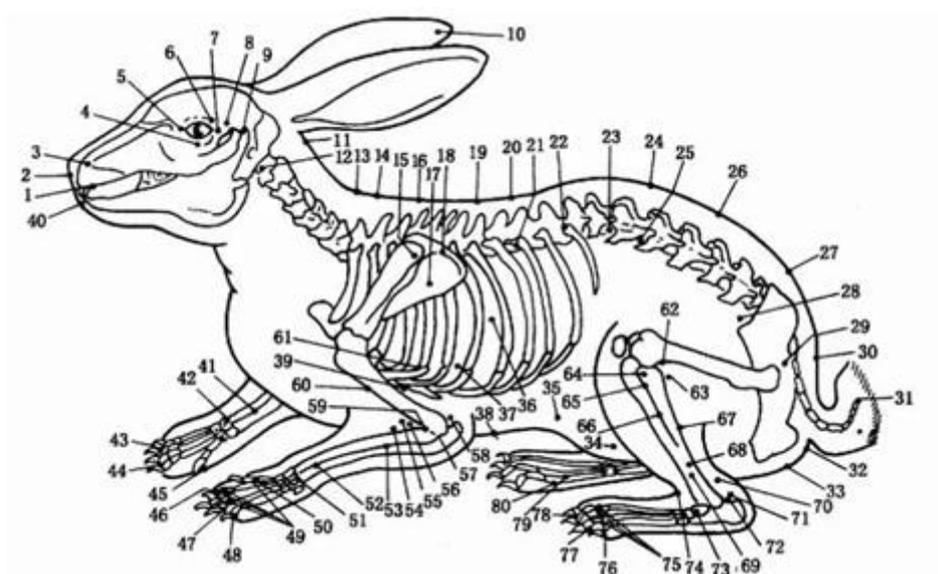


Рис. 1.8. Места локализации точек акупунктуры кроликов [Фолль, 2014]

Действие на БАТ порождает местные (сегментарные) и общие рефлекторные реакции. В их основе лежат нейрогенные, гуморальные и гормональные механизмы.

Среди медицинских областей рефлексотерапия находит применение в терапии, акушерстве и гинекологии, неврологии [Концева, 2017].

Считается, что рефлексотерапия приносит наибольший эффект при лечении заболеваний функционального происхождения, то есть патологических состояний, которые обусловлены, в основном, нарушениями центральных механизмов регуляции функции тех или иных органов или систем организма.

К болезням животным, при которых используют ветеринары иглоукалывание можно отнести: недержание, артрит, диарею, болезни позвоночника, эпилепсию [Катин, 2015].

Существует огромное количество способов воздействия на биологически активные точки, в основе их классификации лежит способ воздействия или природа раздражителя. В таблице представлены виды акупунктуры в зависимости от раздражителя (Табл. 1.3.).

Таблица 1.3.

Виды акупунктуры в зависимости от раздражителя [Латышев, 2017]

№ п/п	Способы воздействия на БАТ	Вид акупунктуры
1	Нажимом	Акупресура
2	Теплом	Термопунктура
3	Холодом	Криопунктура
4	Иглами	Акупунктура
5	Электрическим током	Электропунктура
6	УВЧ-излучением	Микроволновая пунктура
7	Вибрацией	Вибропунктура
8	Лучом лазера	Лазеропунктура
9	Постоянным магнитным полем	Магнитопунктура
10	Ультразвуком	Ультрафонопунктура
11	Струей воздуха или воды	Флюидопунктура

Наиболее популярным методом рефлексотерапии в области ветеринарии является акупунктура. Метод акупунктуры основывается на введении тончайших игл в области точек активности в зависимости от заболевания.

Существует научно доказанная теория, что при иглоукалывании в кровеносную систему организма попадают обезболивающие вещества. Механизм этого феномена полностью не изучен, но принято считать, что иглы стимулируют нервные окончания, которые отправляют определенные сигналы в мозг соответственно. Кроме того, исследования ученых показывают, что иглоукалывание улучшает приток крови к внутренним органам [Катин, 2015].

Существует несколько разновидностей иглоукалывания:

- обычное (сухая игла);
- с нагревом игл (моксибустия);
- с подачей на иглы тока низкого напряжения (электропунктура);
- лазерная акупунктура;
- акупунктура с подачей через иглы витаминов [Вержбицкая, 2014].

Стандартный курс иглоукалывания включает десять сеансов, которые проводятся через день или реже.

Продолжительность самого сеанса составляет не более 20 минут – это общепринятое время для данной процедуры. Количество БАТ, которые одновременно можно стимулировать, тоже ограничено: не больше – 12 для кошек и 15 – для собак. Специалист быстро находит нужные места, так что на постановку игл уходит всего пара минут [Плахотин, 2015].

При работе с животными используются иглы, предназначенные для людей, поскольку специальных, для работы с животными, не существует. Они металлические, и имеют серебряную отделку. Длина и ширина иглы четко неопределенна и изменяется от нескольких миллиметров до нескольких сантиметров. Какая из них будет использоваться для конкретного животного, в зависимости от толщины его кожи, а также от места на теле, для которого оно предназначено [Горбачева, 2016].

Из не инвазионных методик, кроме измерений пульса и давления, сочетание этих требований удовлетворяют только измерения параметров точек акупунктуры. Изучение точек активности, основывается на древнекитайском

знании о том, что любому организму необходим баланс электрической энергии. Исходя из этого, нарушения могут быть связаны с дисбалансом энергии, изменением биоэлектрического баланса энергии в организме. При нарушениях в функционировании конкретных органов и систем происходит отклонение от нормы потенциала клеточных мембран.

Акупунктура – это систематическая форма лечения с помощью различий в интенсивности электрических импульсов с использованием современных электронных устройств после диагностики всего организма. Влияние инструмента оказывает воздействие на акупунктурные точки, что приводит к восстановлению различных органов организма человека.

Рядом с пучками волос находятся сальные железы. Они расположены в пограничных областях папиллярно-ретикулярного слоя дермы, они имеют сферическую форму. Количество сальных желез в зоне точек акупунктуры варьируется от пяти до двенадцати.

В области точек активности на единицу площади количество сальных желез выше, чем в местах за пределами БАТ. Из этого следует, что сальные железы имеют большое значение в формировании биоэлектрического потенциала.

Кровеносные капилляры образуют плотные сети в области расположения точек активности [Шабанов, 2006].

Основное плотное нервное сплетение образовано нервами подкожной жировой клетчатки. Нервные волокна для сплетения корней волос и сосочкового слоя дермы. Плотное нервное сплетение направляет миелиновые и немиелинизированные нервные волокна в соединительную ткань и эпидермис. В местах расположения биологически активных точек находятся инкапсулированные нервные окончания в виде телец Мейснера и Фатер-Пачини, дисков Меркеля [Шабанов, 2006].

Тельца Фатер-Пачини имеют коническую колбу, которая состоит из циркулярных пластин. К одному из полюсов колбы Фатер-Пачини подходит

миелиновое нервное волокно. Между циркулярными пластинами находятся глиальные клетки. Величина телец меняется и зависит от их мест Расположения [Ремезов, 1998].

Из исследований гистологического строения БАТ можно сделать вывод, что эпидермис точек акупунктуры более тонкий в сравнении с кожей вокруг БАТ. Поверхность кожи БАТ шероховатая. В эпидермисе БАТ имеются эпидермальные выросты, под которыми в сосудистом слое наблюдается более густая капиллярная сеть, чаще встречаются артериовенозные анастомозы, имеются тучные клетки, инкапсулированные и свободные нервные окончания [Voitor, 2006].

Результаты исследований топографии точек активности кролика в области спины играют важную роль в практическом применении их в клиниках для стимуляции иммунной системы организма и лечения различных заболеваний. Полученные в результате исследований данные представляют интерес для сравнительной, функциональной и клинической морфологии, терапии, акушерства, хирургии и гинекологии [Voitor, 2006].

Исходя из вышеизложенного текста, можно сделать вывод, что рефлексотерапия это эффективный и безмедикаментозный метод лечения много заболеваний животных. Сегодня существуют огромное количество методов и средств рефлексотерапии. Одним из часто используемых методов является акупунктура или иглоукалывание.

Глава 2. Материалы и методы

2.1 Методы поиска биологически активных точек

На сегодняшний день существует огромное количество методов и методик определения мест локализации БАТ. Обще характеризующая особенность методов определения точек активности, заключается в сравнении мест их локализации с окружающей поверхностью кожи, которая физиологически отличается.

Наиболее удобным показателем для измерения является температура поверхности кожи, которая значительно отличается в точках акупунктуры. Помимо термочувствительности так же используют показатель электропроводимости [Андрющенко, 2016].

В ходе исследования мы использовали прибор «Поиск» для определения точек активности. Внешне устройство представляет собой удобную и компактную ручку, длина: 135 мм; диаметр 16 мм; диаметр проводящего зонда: $1,0 \pm 0,1$ мм; (Рис. 2.1.).

Акупунктурный аппарат «Поиск» рекомендован для профессионального использования в лабораторных и медицинских учреждениях. Изделие сертифицировано и зарегистрировано в государственном реестре изделий медицинского назначения Федеральной службы по надзору в сфере здравоохранения. Регистрационное удостоверение № ФС 02012006 / 3728-06.

Принцип действия этого устройства «Поиск» заключается в генерации слабого гальванического тока.



Рис. 2.1. Прибор для нахождения БАТ «Поиск»

Данный прибор определяет положение центральной части, а также выдает слабые импульсы электрического тока или механического воздействия (давления) низкой частоты.

Устройство имеет световой и звуковой сигнал для уведомления. Когда устройство движется вдоль поверхности эпидермиса, по мере удаления от центральной зоны точки активности, индикатор фотодиода начинает мигать в режиме затухания (пока не достигнет полного исчезновения), а при возвращении в центр точки акупунктуры, наоборот, исходит непрерывное свечение и звуковой сигнал проявляется интенсивнее [Андрющенко, 2016].

Правильное определение точки активности сопровождается появлением непрерывного свечения индикатора и непрерывного звука.

Сигнал становится все более редким при отдалении от точки активности, звуковой сигнал также затухает (пока полностью не исчезнет).

Преимущество устройства «Поиск» заключается в том, что оно может нейтрализовать статическое электричество, что является препятствием для правильной диагностики. Кроме того, он имеет удобную форму [Щербатюк, 2016].

Исходя из выше изложенного текста, можно сделать вывод о том, что поиск точек акупунктуры осуществляется путем улавливания температурных

изменение на поверхности эпидермиса. Для этих целей было разработано устройство «Поиск», основанное на принципе электропроводности.

2.2 . Методы подготовки гистологического препарата

Лабораторное гистологическое исследование проводилось по следующему плану:

1. Подготовка срезов с мест локализации БАТ кролика;
2. Подготовка срезов обычных участков кожного покрова кролика;
3. Фиксация материала в 90% спирте;
4. Заливка парафином;
5. Получение срезов на санном микротоме МС-2;
6. Получение срезов на замораживающем микротоме с термоэлектрическим охлаждающим столиком ТОС-1;
7. Окраска срезов гематоксилин-эозином;
8. Исследование и фотографирование препаратов под микроскопом;

Важными условиями получения высококачественных гистологических препаратов являются:

- своевременная подготовка материала;
- не допущение повреждения материала;
- правильная фиксация [Артишевский, 1999].

Самой оптимальной считается площадь срезов травная 2-3 см², а толщина 5 -7мм.

Гистопрепараты, вырезанные из кожи кролика, немедленно погружают в фиксирующую жидкость. В этом случае нельзя их передавливать или промывать водопроводной водой. Затем производят погружение препаратов в емкость с фиксирующей жидкостью, в него же помещают этикетку с номером (шифром, маркировкой), написанным карандашом или маркером на матовой поверхности фотобумаги.

В случае необходимости маркировки каждого элемента он вместе с этикеткой помещается в марлевую сумку [Волкова, 2002].

Фиксация существует для обеспечения стабилизации тканевых структур и их уплотнения. Механизм фиксации основан на коагуляции белка и стабилизации липидов.

Фиксация всегда приводит более или менее к изменению структуры и объема тканей, степень тяжести воздействия которых зависит от уровня кислотности, ее концентрации, температуры, продолжительности воздействия и других факторов. Концентрация водорода должна соответствовать таковой в тканях, поэтому рН должен быть близкий к нейтральному. Повышение температуры фиксатора ускоряет процесс, но в то же время приводит к большим изменениям в тканях. Длительная фиксация приводит к значительному уплотнению материала, что в так же затрудняет его обработку [Кларк, 2017].

Для каждого вида исследования, подбирают наиболее подходящий фиксатор. Чем меньше будет происходить развитие диффузий в тканевых структурах при фиксации, тем быстрее и глубже будет происходить их воздействие на ткань, и тем лучше будет считаться качество фиксирующей жидкости [Ромейс, 2014].

Для обеспечения полноценной фиксации необходимо соблюдать ряд требований:

1. После подготовки срез необходимо незамедлительно переместить в фиксатор.
2. Необходимо чтобы объем фиксатора превышал фиксирующий материал примерно в 10 раз, так как тканевая жидкость имеет свойство сильно изменять концентрацию фиксатора.
3. Если происходит изменение цвета фиксатора после погружения в него срезов, фиксатор нуждается в незамедлительной замене.
4. Нельзя использовать фиксаторы повторно.
5. Для каждого фиксатора необходимо соблюдение указанного в методичке времени для фиксации. Во многих фиксаторах фиксация происходит

за короткий промежуток времени, лишь в немногих фиксаторах материал может пребывать длительно, без нанесения ему повреждений. Например, в 10 %-ном нейтральном формалине, жидкости Буэна [Волкова, 2002].

Для фиксации необходимо применять емкости с широким горлом, для предотвращения проблем с изъятием фиксированного материала. Если необходимого материала слишком много, кусочки необходимо разделить ватой или марлей.

В большинстве случаев материал фиксируют при комнатной температуре, но при некоторых видах исследования (гистохимических, электронно-микроскопических и др.), фиксация проводится при температуре равной 4 °С [Янин, 2015].

Формалин – это 35-40 %-ный водный раствор формальдегида, или, по-другому, альдегида муравьиной кислоты. Формалин – это бесцветная жидкость, имеет ярко выраженный характерный запах, может быть использован при разведении 1:10, что представляет собой 4 %-ный раствор формальдегида.

При подготовке раствора исходный раствор берут за 100 %, а затем из него приготавливают 5 %, 10 %, и 20 %-ные растворы, которые обозначаются как 2 %, 4 % и 8 % растворы формальдегида соответственно.

Для растворения могут быть применены такие жидкости, как водопроводная вода, или физиологический раствор. При попадании формалина в препарат, он очень быстро проникает в ткани. Фиксация парафином отличается высоким качеством. Уплотнение препаратов происходит в течение 24-48 ч, после чего их можно использовать для дальнейших гистологических исследований.

Основное преимущество формалина заключается в его способности сохранять приготовленные материалы в аутентичном виде годами. Слишком долгая выдержка в формалине может сделать материал излишне плотным.

Если такое произошло, это можно исправить 10 %-ным раствором лимонной кислоты. Она имеет способность смягчать материал.

При слишком длительном хранении формалина, могут появиться темно-коричневые агрегаты, их наличие в препарате вызовет искажение гистологической картины, при рассмотрении под микроскопом. Чтобы такого не произошло, необходимо промыть фиксированный материал большим количеством воды. [Артишевский, 1999].

Если необходимо нейтрализовать формалин, его помещают в банку с темным стеклом и на дно добавляют мел (углекислый кальций – CaCO_3), или магнезию (к 1 литру формалина добавляют 100 г мела или магнезии). Получившуюся консистенцию необходимо перемешать. Нейтральная реакция будет примерно через сутки. Индикаторной бумагой проверяю через некоторые промежутки времени нейтрализацию формалина. Чтобы получить 10 %-ный раствор к 10 мл 40 %-ного формалина добавляют 90 мл водопроводной воды.

Для дальнейшей работы гистологические препараты необходимо уплотнить путем заморозки или заливки в парафин. Если в качестве уплотнителя будет взят парафин, то кусочки фиксированной ранее ткани предварительно обезвоживают в спиртах восходящей концентрации. Если работа будет осуществляться на замораживающем микротоме, то в обезвоживании образцов нет необходимости [Пешкова, 2012].

Наиболее часто используемый метод уплотнения образцов и подготовки из них блоков для микротомирования – заливка в парафин. Для заливки применяется гомогенизированный парафин, его температура плавления составляет 54-56 °С. Чтобы обеспечить более качественную резку на микротоме, к парафину может быть добавлен воск. К 100 г парафина необходимо добавить 3-5 г воска.

Подготовка парафина необходима для избавления его от газов, примесей других посторонних веществ. Чтобы это осуществить, необходимо кипятить парафин с добавлением дистиллированной воды несколько часов, повторяют процедуру несколько раз. После чего, парафин необходимо прогнать по фракциям в термостате. Легкоплавкие при температуре 54-46 °С, а

тугоплавкие при температуре 56-57 °С. При необходимости удаления газов из парафина можно использовать вакуумный термостат [Ставицкая, 2016].

Преимуществом заливки в парафин является его широкая распространенность, быстрота, эффективность и способность создавать серийные срезы с толщиной до 2 мкм.

Недостатками заключения в парафин может быть сжатие образцов на 8-20 %. Кроме того, необходимость подвержения тканей высоким температурам. В последнее время, все чаще в лабораторных исследованиях используют современные гомогенизированные среды.



Рис.2.2. Микротом санный МС-2 [Ромейс, 2014]

В исследовании при подготовке материала, для получения срезов необходимой толщины, нами был использован санный микротом МС-2. Он является настольным прибором и состоит из основных частей таких как: Станина, механизм микроподачи, механизм подъема и опускания объектодержателя,

зажима для гистологических блоков, суппорта с ножедержателем. (Рис. 2.2., Рис. 2.3.).

На станине, сделанной из чугуна, в верхней части имеется паз с плоскими направляющими. По ним и перемещается суппорт под номером 14 и ножедержатель 13. В наклонных направляющих, находящихся на передней поверхности перемещается механизм подъема объектодержателя [Роскин, 2014].

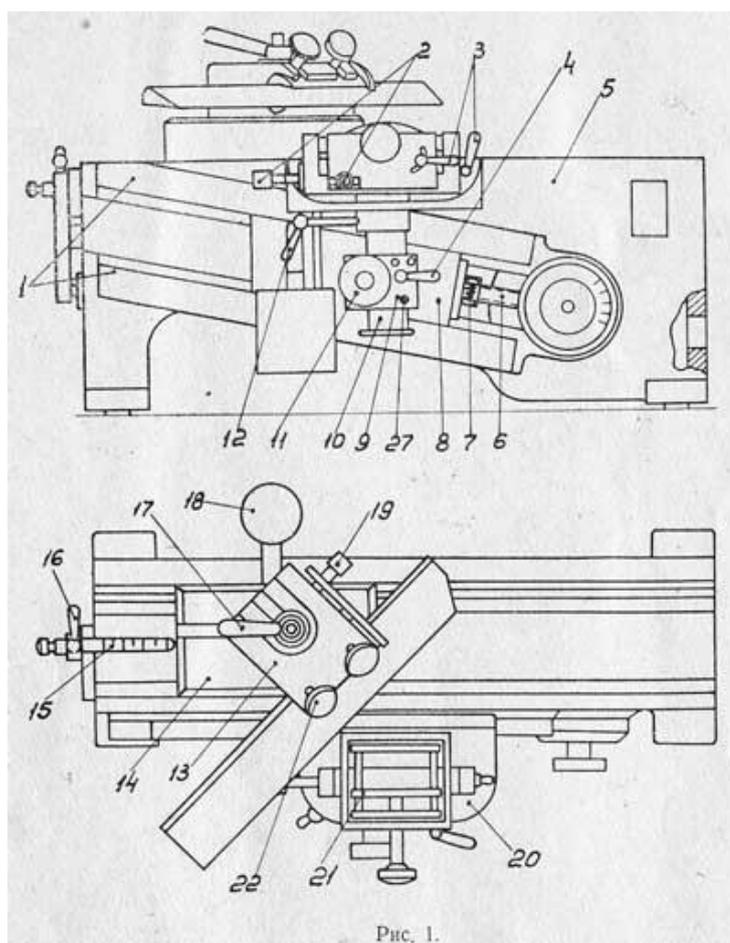


Рис.2.3. Микротом санный МС-2. Техническое описание

Для переноски микротома имеются специальные приспособления. Они располагаются на торцовых сторонах станины. Система микроподачи располагается в станине. Здесь разработана автоматизированная система микроподачи, осуществляется она следующим образом: суппорт под номером 14, продвигает шкалу 15 и шток, расположенный рядом с ней, по окончании холостого хода.

На штоке расположена собачка под номер 23, которая необходима для поворачивания храповика под номером 24. Через шестерны от храповика осуществляется подача к микровинту под номером 6. Он перемещает по наклонным направляющим ползушки, и систему подъема и опускания объектодержателя. Затем, пружина под номером 26, перемещает в исходное положение шток 25 и шкалу под номером 15.

Регулировка высоты расположения объекта относительно лезвия ножа осуществляется рукояткой под номером 11, затем необходимо ее зафиксировать в требуемом положении винтом под номером 4. Диапазон значений угла в котором может быть расположен нож – от 0° до 15° к горизонтальной плоскости, а ножедержатель можно установить под произвольным углом.

Под номером 20 изображен лоток для накопления жидкости. Он расположен между зажимом и призмой системы подъема.

Перед проведением необходимых исследований на санном микротоме необходимо произвести подготовку рабочего места:

- оборудование необходимо очистить от пыли и смазочных жидкостей;
- нанести на направляющие узлы и микровинты небольшой слой специального масла;
- произвести передвижение механизма объектодержателя по наклонным направляющим станины для нахождения его в крайнем правом положении.
- необходимо установить объектодержатель в разъем призмы, перед этим надев на ось лоток для слива жидкостей. [Кларк, 2017].

Алгоритм работы на данном оборудовании заключается в следующем:

1. В зажиме под номером 21 закрепляется блок с расположенным на нем объективом. Установка зажима в нужном положении осуществляется с помощью поворота рукояток под номером 2, с последующей их фиксацией в необходимом положении;

2. Нож устанавливается в разъем ножедержателя и закрепляется винтами под номером 22. То, насколько качественный будет срез, зависит напрямую от установки следующих углов:

- а) угла поворота ножа в ножедержателе;
- б) угла расположения ножа относительно направляющих станины.

Чтобы выполнить поворот ножа в ножедержателе на необходимый угол, требуется опустить винты, которые крепят нож, и зафиксировать их окончательно.

Чтобы осуществить поворот ножедержателя с находящимся в нем ножом, относительно направляющих станины, требуется ослабить силу сдавливания ножедержателя, передвинув рукояттку под номером 17, и повернуть ножедержатель на необходимую высоту и окончательно закрепить винтом под номером 17.

3. Для установления толщины среза требуется опустить винт под номером 16 и передвинуть шкалу под номером 15 на необходимое число делений (цена одного деления – 1 микрон), и закрепить рукоятку окончательно, в необходимом положении;

4. Объектодержатель поднимается на высоту режущей кромки, и закрепляется винтом под номером 4;

5. Осуществить работу на микротоме: сделать несколько срезов, чтобы выровнять их поверхность.

При дальнейшей работе кусочкам нужно придать однородную и плотную необходимую консистенцию, с целью получения максимально тонких срезов. Для этого кусочки можно заморозить, или пропитать их различными пропитывающими жидкостями [Ромейс, 2014].

2.3 Методы окраски и исследования гистологических препаратов

При исследовании определенных органов и тканей, для окрашивания препаратов наиболее широко используют краситель эозин-гематоксилин.

Чаще всего для исследований структур нормальных или измененных в результате заболеваний органов используют данный метод окраски. При необходимости обнаружения конкретных структур, пользуются специфич-

ными методами окраски, при этом проводя параллельно окрашивание гематоксилин-эозином. Данная окраска является двойной: так как гематоксилин – основной краситель, им окрашиваются ядра клеток, а эозин – кислый краситель, с его помощью окрашиваются цитоплазма клеток и в меньшей мере другие неклеточные структуры. [Горбачева, 2011].

Гематоксилин – это специфический экстракт древесины кампешевого дерева, которое произрастает в Америке. Эозин представляет собой искусственную окраску. Красящие растворы приготавливаются заранее. При использовании гематоксилина отдельно от других красителей, он не будет являться красящим веществом. Поэтому, чтобы приготовить окраску, гематоксилин должен быть окислен, с помощью чего он превратится в красящее вещество – гематеин. При добавлении к нему некоторых солей, гематеин даст четкое окрашивание ядер [Гайдученко, 2011].

Для приготовления гематоксилина Эрлиха необходимо растворить в 100 мл 95° спирта, к приготовленному раствору добавить 100 мл дистиллированной воды, чистого глицерина 100 мл, калийных квасцов 3г, ледяной уксусной кислоты 10 мл. Полученную смесь необходимо перемешать в указанной очередности. Необходимо, чтобы калийные квасцы были химически чистыми.

Для осуществления полного окисления гематоксилина (то есть, образования гематеина), приготовленный раствор должен в течение 15 дней настаиваться в светлом месте, с обеспечением доступа воздуха, в связи с этим банку с полученным раствором можно прикрыть бумажным колпачком или марлей, сложенной в 3 слоя.

О том, что раствор готов к использованию, можно понять по изменению его цвета. В начале приготовления он имеет светло-красную окраску, по мере созревания он изменяется на темно-красный через 15 дней.

Периодическое перемешивание раствора ускоряет его созревание [Кларк, 2017].

Полученный после 15 дней выстойки, раствор квасцового гематоксилина Эрлиха, можно хранить на протяжении очень долгого времени в посуде с притертыми или пришлифованными пробками.

При приготовлении данной окраски можно использовать и непосредственно гематеин: 0,5 г сухого гематеина растворяют в 100 мл 95° спирта, затем, указанные прежде вещества добавляют в тех же пропорциях.

В данном случае, краситель можно применять сразу же после приготовления, необходимости настаивать на свету нет.

Методика окраски:

1. После промывки в воде срезы переносят в приготовленный раствор красителя. При правильно приготовленном растворе, качественные препараты будут готовы через 2-3 минуты, но качество окрашивания и продолжительность зависит не только от правильности приготовления раствора, но и от размеров самого препарата. Так время окраски может достигать 15-20 минут.

2. При окрашивании препаратов на первых 2-3 срезах необходимо определить наилучшим образом подходящее время окраски. После того, строго придерживаясь заданных сроков, красить оставшиеся срезы данного блока. Нельзя забывать о том, что если раствор красителя созревший, то для достижения хорошего окрашивания ядер, необходимо не более 6 минут.

3. После того, полученный срез из гематоксилина переносят в дистиллированную воду и производят контроль качества препарата на предметном стекле, с помощью микроскопа при слабом увеличении, если необходимо исследование при более высоком увеличении, то препарат необходимо накрыть покровным стеклом. В случае качественной окраски ядра клеток имеют ярко выраженный фиолетово-красный цвет, кроме того в них видны ядрышко и глыбки хроматина, при вышеупомянутых методах фиксации.

Цитоплазма клеток, в таком случае, не окрашивается. Необходимость в увеличении времени окраски возникает, когда ядра имеют светло-фиолетовый цвет и в них невозможно различить какие-либо структуры. В

случае, если ядра закрашены в слишком темный, почти черный цвет и не удастся увидеть никаких структур, а цитоплазма имеет красновато-фиолетовый цвет, время окраски нужно ограничить.

4. Применение метода окраски с последующим ее ослаблением производят в случаях, если срезы окрашиваются в излишне темные цвета, даже при крайне малом времени обработки. При таком методе срезы заведомо переокрашивают, то есть выдерживают больше положенного времени для получения нормальной окраски. Затем, чтобы ослабить окрашивание среды переносят на несколько секунд в слабый раствор соляной кислоты с добавлением 70°-ного спирта (5-6 капель соляной кислоты на 100 мл спирта). В таком случае будет происходить усиление цвета до красного оттенка. Очень часто достаточно 1-2 секунды, для получения ослабления окрашивания до необходимого оттенка.

5. Срезы после гематоксилина или солянокислого спирта переносят на некоторое время в дистиллированную воду.

6. Далее осуществляется промывка в воде с некоторым количеством щелочи. В подщелоченной воде происходит изменение цвета в сторону синего через 20-30 секунд. На практике промывание можно проводить сразу же 10-15 минут в водопроводной воде до посинения препарата. Водопроводная вода часто содержит следы щелочно-земельных металлов, и считается слабо щелочной средой.

7. по завершению промывания срезов в водопроводной воде цвет ядер изменяется до интенсивно-синего. [Пешкова, 2012].

8. После окрашивания гематоксилином и после промывки водопроводной водой препараты переносят в дистиллированную воду и выдерживают там 3-5 минут. При необходимости окраски цитоплазмы клеток приготовленные срезы переносят на 1-2 минуты в раствор эозина. продолжительность выдерживания в данном растворе так же зависит от размеров самого препарата, фиксации и других параметров. В таком случае, необходимо для

каждого конкретного образца определить продолжительность окраски на первых нескольких срезах.

В случае качественной окраски препарат должен иметь равномерный желтовато-розовый цвет, на фоне которого можно отчетливо определить окрашенные в синий цвет ядра. В случаях, если препарат имеет слишком бледный розоватый цвет, необходимо увеличить продолжительность окраски.

Если эозин недостаточно хорошо окрашивает срезы, его подкисляют с помощью уксусной кислоты (1 капля 3%-ной уксусной кислоты на 100 мл приготовленного раствора эозина). О том, что препарат переокрашен, можно понять по интенсивно красным оттенкам, ядра видно неотчетливо, вся картина строения размыта, в таком случае необходимо уменьшить время окраски, или извлечь эозин при промывке водой [Волкова, 2002].

9. Необходимо перенести из раствора эозина образцы на 1 минуту в дистиллированную воду, если образец сильно переокрашен, для него необходимо увеличить время промывки до получения интересующего нас оттенка. После обезвоживания в спиртах восходящей концентрации, необходимо провести заключение через карбол-ксилол в канадский бальзам.

Следует помнить о том, что в спиртах окраска срезов эозином становится более слабой, поэтому срезы через карбол-ксилол проводятся быстро.

Данная окраска является наиболее широко используемой, но есть и другие окраски, позволяющие получить принципиально те же результаты, что и при окрашивании гематоксилин-эозином [Волкова, 2002].

Для выявления структур клеток мы использовали метод импрегнации, при помощи раствора азотнокислого серебра. Для этого используют 2-х процентный раствор азотнокислого серебра.

После извлечения материала из блока он помещается в ванночку для инкубации и заливается 40% спиртом. Настаивается 40 мин. После чего осуществляется промывка дистиллированной водой два раза по 10 минут, с учетом замены воды. Затем приготавливается окрашивающий раствор аммиака серебра.

В стакан (100 мл) помещаем 50 мл 0,1% раствора азотнокислого серебра, начинаем перемешивать. Все дальнейшие операции необходимо проводить при постоянном перемешивании. К 50 мл 0,1% раствора серебра добавляем 60 мкл насыщенного раствора аммиака. После недолгого перемешивания, добавляем 0,5 мл 1 М раствора гидроксида натрия, в этом случае в растворе выпадет бурый осадок. Аккуратно по каплям добавляем в раствор насыщенный раствор аммиака, бурый осадок будет растворяться. Не допускается, полное растворение осадка, раствор будет выглядеть слегка мутным или опалесцировать.

Помещаем препарат в окрашивающий раствор аммиаков серебра. Осуществляется инкубация 20-40 минут. Промывку препарата после окрашивания осуществляем два раза по 10 мин. С заменой воды, при каждой промывке. Для проявления препарата приготавливается проявитель.

К 50 мл дистиллированной воды добавляем 50мкл раствора формалина и 0,5мл 1% раствора лимонной кислоты перемешиваем. Заменяем воду при промывке на приготовленный проявитель. Проявление происходит до первых признаков появления фона. Когда это произошло, сливаем проявитель и добавляем к препарату уксусную кислоту, и сразу меняем ее на дистиллированную воду

Проявлять надо при покачивании до первых признаков появления фона. В этот момент следует немедленно слить проявитель, и добавить к гелю 7% уксусную кислоту и тут же заменить ее на дистиллированную воду.

Так же была проведена окраска аzur-эозином по Романовскому-Гимзе [Казьмин, 2016].

Подготовленные препараты исследовались и фотографировались под микроскопом Motic BA300 с цифровой камерой и программой Motic Images Plus 3.0 ML. (Рис. 2.4.)

Микроскоп Motic BA300 – это усовершенствованный прямой микроскоп. Он предназначен для ежедневного осуществления работ в университетах, лабораториях клиниках. Микроскоп Motic BA300 помогает при решени-

ях множества научных и медицинских задач, которые требуют наличия высокого качества оптических характеристик. Подсветка Koehler подает свет в большом количестве, достаточном для наилучшего изучения даже самых сложных препаратов.

Существуют дополнительные методы контрастности, такие как поляризация, фазовый контраст, темное поле и специальные устройства для изучения препаратов. Такое оптимально устройство микроскопа гарантирует, что данная модель будет популярна долгий период времени разными пользователями.



Рис. 2.4. Микроскоп Motic BA300



Рис. 2.5. Микрометр МОБ-1-15

Основными особенностями микроскопа являются: плоские ахроматические объективы CCIS® Plan Achromatic; коаксиальная грубая и точная фокусировка; обратная револьверная головка с пятью объективами; наличие подсветки Koehler и галогенной или светодиодной подсветок.

Для измерения микроархитектоники использовался микрометр МОБ-1-15 (ГОСТ-151-50-69) (Рис. 2.5.).

При фотографировании под микроскопом Motiс VA300 применялась микрофотонасадка МФН 12. (Рис. 2.6.). Она предназначена для фотографирования микропрепаратов, которые исследуются на биологическом микроскопе Motiс VA300 в проходящем, и в отраженном свете.



Рис. 2.6. Микрофотонасадка МФН 12.

Весь полученный материал был обработан методом вариационной статистики с использованием стандартной программы Microsoft Excel, пакт «Анализ данных».

Глава 3. Результаты собственных исследований и их обсуждение

3.1 Морфологическое строение корпоральных биологически активных точек кролика

С анатомической точки зрения точки активности это участки кожной поверхности диаметром от 0,3-0,5 см до 6-7 мм.

Здесь сконцентрированы скопления нервных элементов (рецепторы, свободные нервные окончания, сосудисто-нервные сплетения, нервные проводники), которые располагаются на разном уровне залегания – от нескольких миллиметров до нескольких сантиметров. Это подтверждено рядом анатомических и гистологических исследований [Самусенко, 2015].

В ходе морфологических исследований было обнаружено наличие в области БАТ рыхлой соединительной ткани, разветвления нервных окончаний, наличие в большем количестве тучных клеток, коллагеновых волокон дермы.

В областях залегания точек акупунктуры кроликов кожа образована более тонким эпидермисом, плотной капиллярной сетью и повышенным уровнем наличия свободных и инкапсулированных нервных окончаний.

При изучении препаратов срезов кожи, перпендикулярных ее поверхности под микроскопом, были обнаружены определенные гистологические отличия кожи в местах точек акупунктуры и интактной кожи.

В местах локализации точек активности кожа имеет неровную поверхность, состоит из бороздок и остроконечных эпидермальных гребешков отличающихся по высоте. На вершинах и у основания данных структур находятся эпидермальные выросты. Их слои не имеют четкой дифференциации, за исключением клеток базального слоя, которые здесь размещены неплотно.

При исследовании кожи кролика было выявлено, что между соседними поперечно-реберными и поперечными отростками в центре между ними располагаются биологически активные точки.

Вдоль позвоночника с правой и левой стороны нами были исследованы грудной и поясничный отдел позвоночника. В грудном отделе с правой и

с левой стороны обнаружено по 12 точек активности между поперечно-реберными отростками каждого позвонков. А в области поясничного отдела обнаружено по 7 точек с каждой стороны между поперечными отростками позвонков. Таким образом всего, были найдены в области грудного отдела 24 точки акупунктуры, а в области поясничного – 14 точек активности.

В местах залегания точек активности на поверхности эпидермиса выделяют дермальные и субдермальные сосуды. В области подкожных мышц субдермальные сосуды соединяются устьями между собой, они делятся на вены и артерии и направляются в область подкожной жировой клетчатки.

Было обнаружено, что количество артериальных и венозных сосудов в местах локализации биологически активных точек акупунктуры значительно превышает количество таковых в интактных участках (Рис. 3.1., Рис. 3.2.)

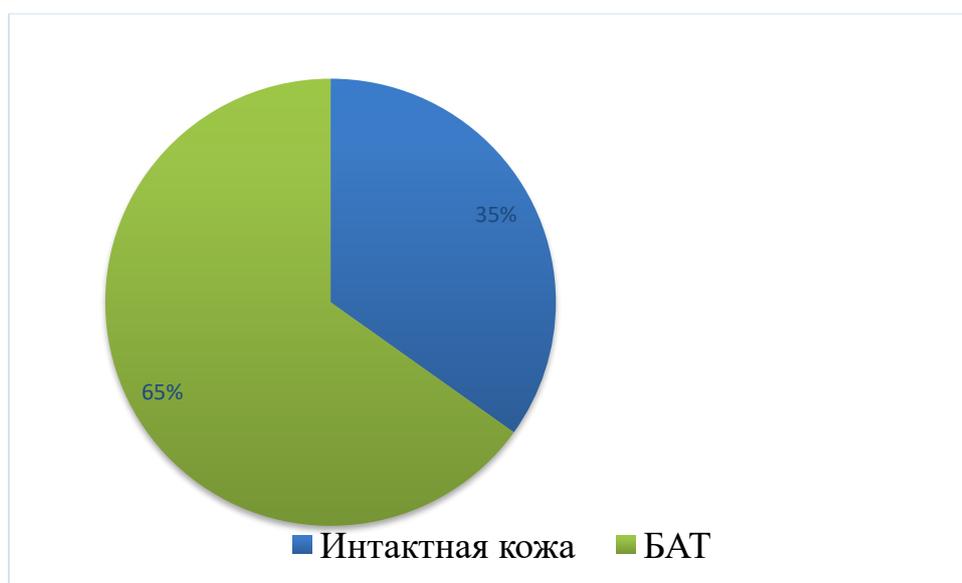


Рис. 3.1. Количество артериальных сосудов зоне БАТ и в интактной коже

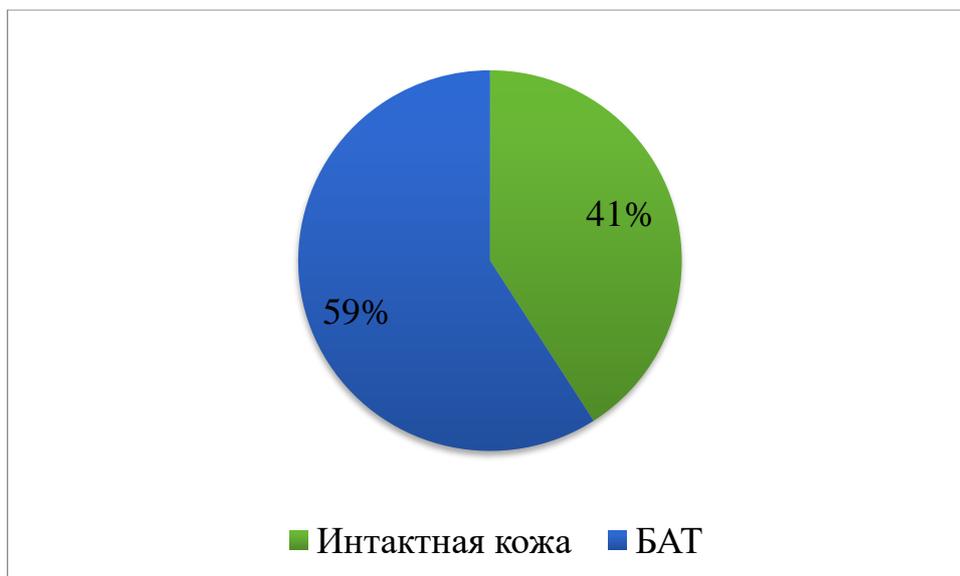


Рис. 3.2. Количество венозных сосудов зоне БАТ и в интактной коже

Кровеносные сосуды, расположенные в местах локализации БАТ образуют густую сеть, особенно в области воронкообразных углублений кожного покрова. Диаметр артериол и венул в местах расположения точек акупунктуры больше, чем в пределах интактной кожи, что совпадает с данными полученными в исследованиях, проведенных Горбачевой А. А., на собаках [Горбачева, 2011].

К волосяной луковице и фолликулу подходят капилляры, образующие спиралевидную сеть. Сосудистая сеть в подкожной клетчатке превращается из крупнопетливой в мелкопетливую, образуя ячейки полигональной формы, состоящие из артериол с двух сторон окруженные венулами, и переходит в ячеистую сеть капилляров.

Капилляры, кровоснабжающие потовые железы в биологически активных точках, не образуют сетей и встречаются в виде отдельных капилляров вдоль секреторных отделов, а в области сальных желёз точки активности тесно прилегают к концевым отделам [Рябуха, 2016].

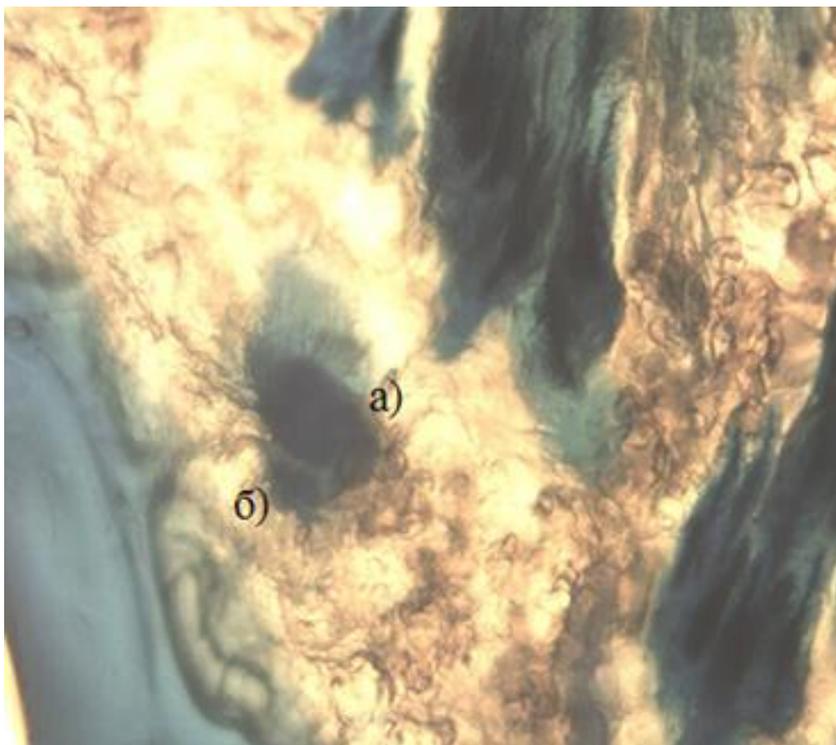


Рис. 3.3. Инкапсулированные нервные окончания:
 а) тельце Фатера-Пачини, б) тельце Мейснера
 Окраска азотно-кислым серебром, ув: 10x80

Во всех областях расположения точек активности отмечены скопления телец Мейснера (Рис. 3.3 (а)) и Фатера-Пачини (Рис. 3.7 (б)) – сложных инкапсулированных нервных окончаний

3.2 Сравнительный анализ мест локализации точек активности и рядом расположенных участков кожного покрова кролика

При исследовании микроструктуры кожи в местах расположения биологически активных точек, были определены следующие особенности.

Кожа кролика в местах локализации точек активности имеет 3 хорошо выраженных слоя: сетчатый, сосочковый и эпидермис.

Толщина сетчатого слоя составила $37,8 \pm 2,08$ мкм, в рядом расположенных участках $26,42 \pm 1,12$ мкм.

Размеры сосочкового слоя кожи в местах залегания точек активности составил $30,1 \pm 0,01$ мкм, а в интактных зонах $27,16 \pm 0,12$ мкм, длина и ширина соответственно.

Толщина эпидермиса в местах залегания точек активности составила $34,2 \pm 1,23$ мкм, а в интактных участках – $24,42 \pm 0,16$ мкм.

На границе кожи и эпидермиса находится хорошо различимая базальная мембрана. Базальный слой эпидермиса представляет собой один слой клеток. В коже вокруг биологически активных точек клетки базального слоя плотно упакованы, а в точках активности лежат более свободно.

Толщина эпидермиса в точках акупунктуры и его слоев различна. Показатели зависят от мест расположения биологически активных точек. При расположении точек активности вблизи костей, толщина эпидермиса будет значительно меньше, чем в местах, где точки расположены вблизи участков, богатых мышцами [Самусенко, 2015].

Были хорошо различимы три слоя кожи кролика: сетчатый, сосочковый и эпидермис (Рис 3.4.).

При микроскопическом исследовании срезов кожи кроликов в области нахождения биологически активных точек, присутствуют скопления кровеносных сосудов, жировые клетки и нервные окончания. Так же в местах обнаружения точек активности кожа кроликов имеет более тонкий эпидермис, чем в окружающих зонах.

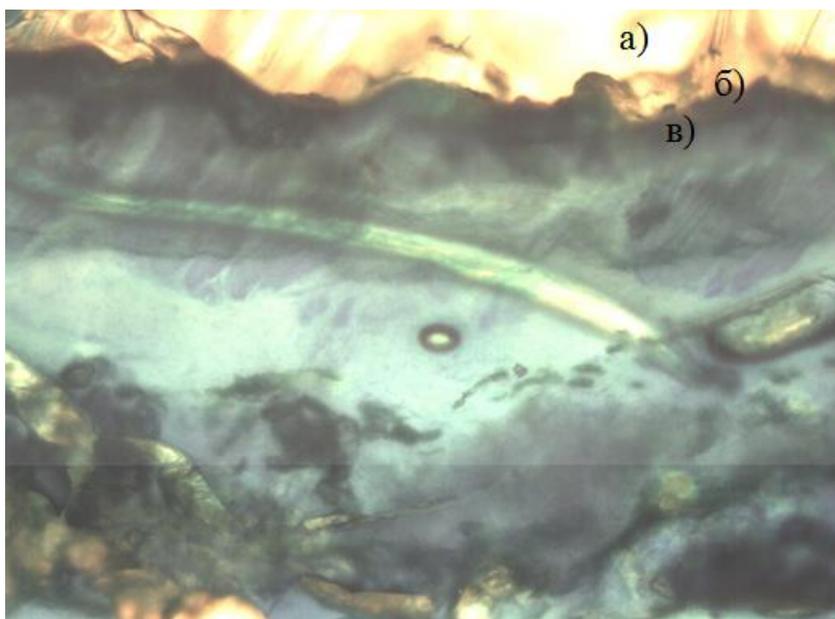


Рис. 3.4. Слои кожи кролика
 а) сетчатый, б) сосочковый, в) эпидермис
 Окраска гематоксилин-эозином (ув: 10x50)

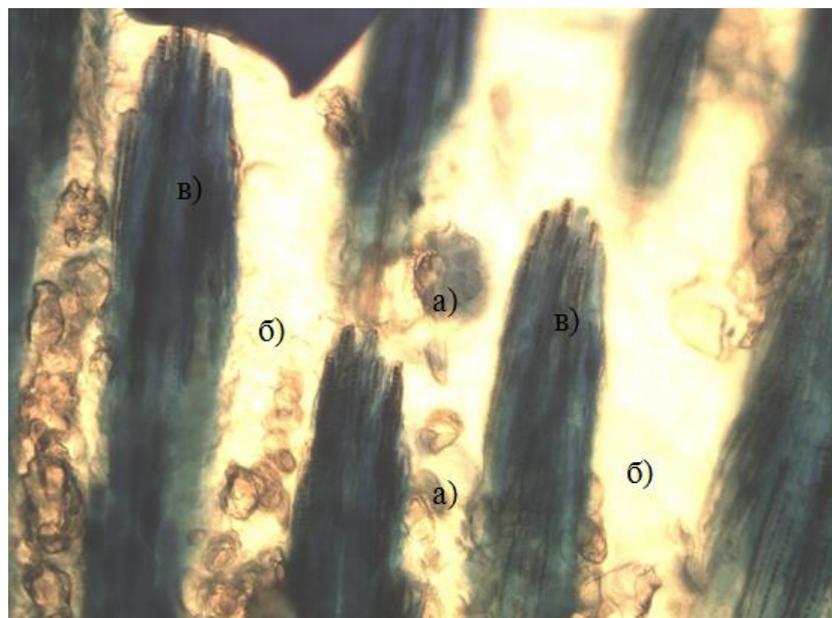


Рис. 3.5. Продольный срез кожи кролика
 а) инкапсулированные нервные окончания, б) жировые включения, в) волос,
 продольный разрез
 Окраска азотно-кислым серебром (ув: 10x50)

С фолликулами волос связаны сальные железы, которые располагаются в приграничных отделах сосочкового и сетчатого слоев дермы и имеют сферическую форму. Они находятся во всех частях кожного покрова кролика. Данные железы играют важную роль в обеспечении смазывания волос и поверхности кожи жиром, различаются по размерам и их количество в БАТ колеблется от пяти до двенадцати (Рис 3.5.).

На одну единицу площади БАТ приходится сальных желез больше (63%), они крупнее, чем в смежных зонах (37%). Из этого следует, что они играют важную роль в формировании биоэлектрического потенциала.

Сравнительный анализ показал, что количество жировых включений в области точек активности меньше, и их диаметр $1,61 \pm 0,09$ мкм, тогда как в участках кожи, где отсутствуют точки активности, их диаметр составил $2,34 \pm 0,1$ мкм (Рис. 3.6.).

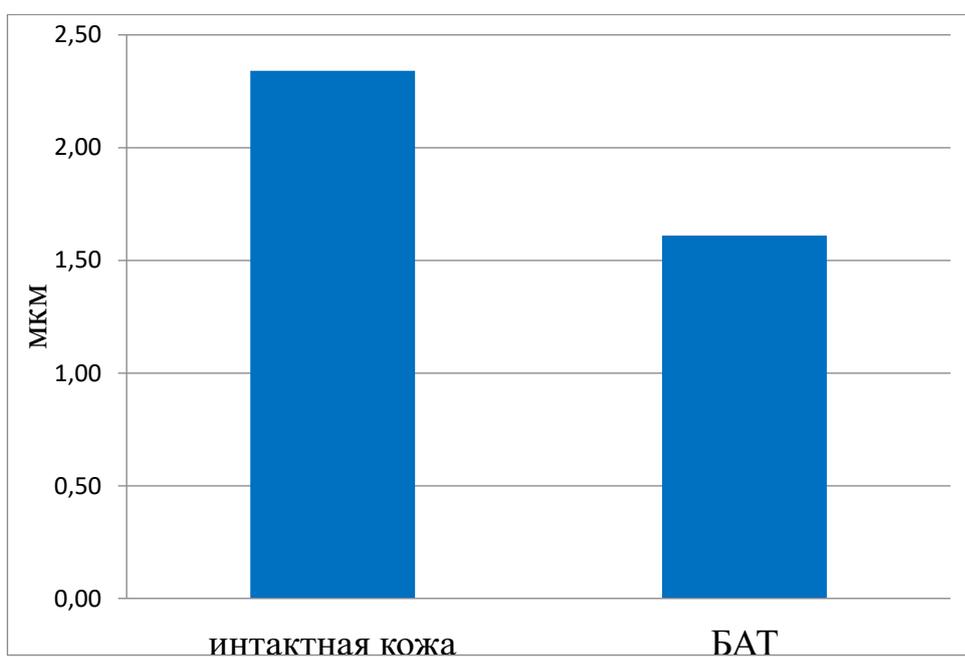


Рис. 3.6. Средний диаметр жировых клеток кролика, мкм

Кровеносные капилляры области локализации точек акупунктуры образуют густые сети (Рис. 3.7.).

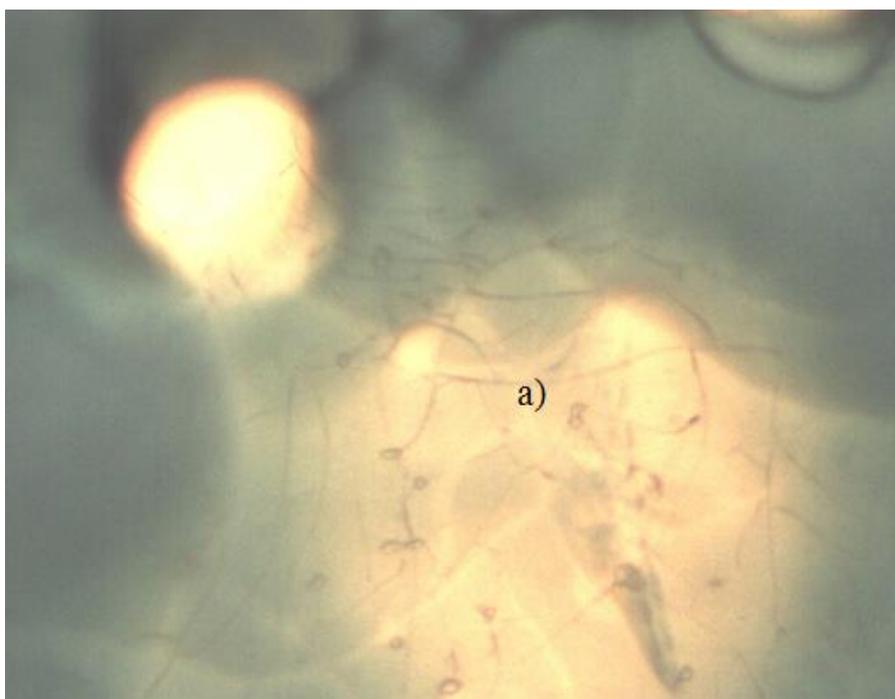


Рис. 3.7. Кровеносные капилляры образующие густую сеть
Окраска азур-эозином (ув: 10x50)

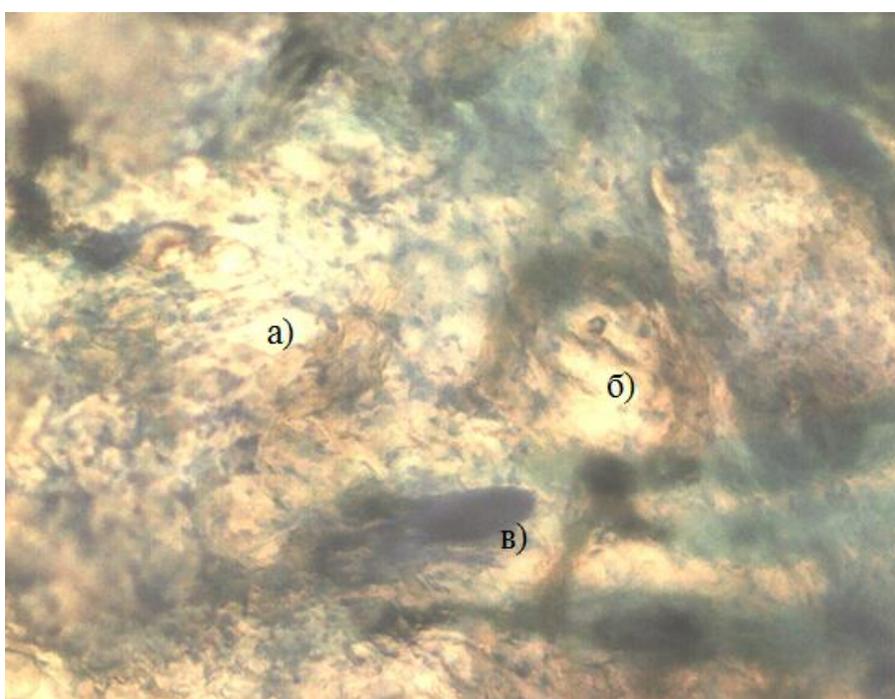


Рис. 3.8. Кровеносные сосуды: а) артериальный, б) венозный,
в) тельце Фатера-Пачини

Окраска азотно-кислым серебром (ув: 10x50)

Сосуды, которые находятся в области локализации точек акупунктуры,

крупнее, чем сосуды, находящиеся в интактных зонах, и их количество в местах залегания БАТ, превышает количество в зоне вокруг них.

Диаметр артериальных сосудов в области БАТ составляет $2,02 \pm 0,3$ мкм, в интактных зонах – $1,67 \pm 0,09$ мкм. Диаметр венозных сосудов в области БАТ равен $2,34 \pm 0,12$ мкм, в интактных зонах – $1,6 \pm 0,13$ мкм (Рис. 3.9.).

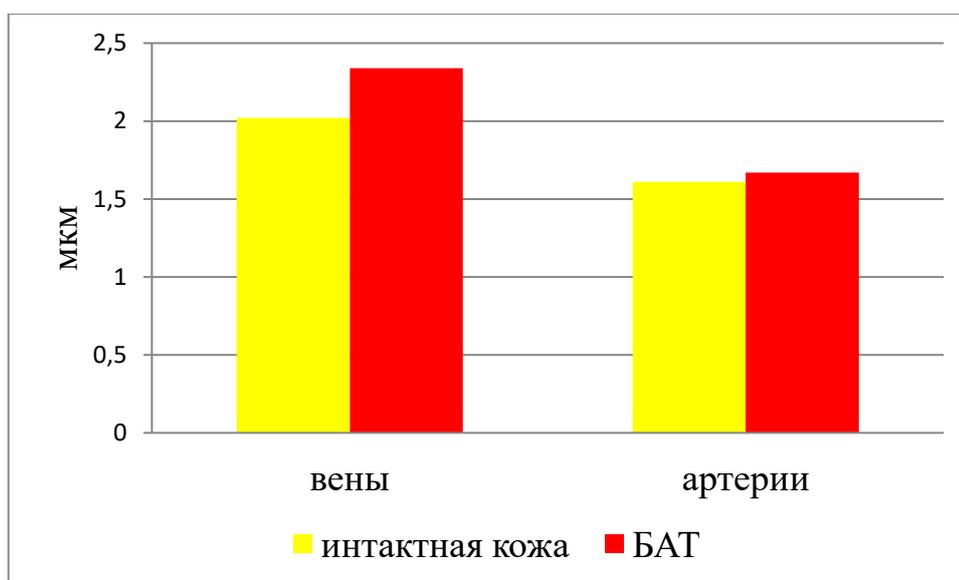


Рис. 3.9. Средние показатели диаметра кровеносных сосудов кроликов, мкм

Нервная система образует в коже нервную сеть, от которой отходят нервные волокна. Последние разветвляются в корнях волос и в сосочковом слое дермы. Густое нервное сплетение сосочкового слоя посылает миелиновые и безмиелиновые нервные волокна в соединительную ткань и в эпидермис [Концегова, 2017].

Кроме нервных волокон в областях нахождения биологически активных точек располагаются инкапсулированные нервные окончания, такие как тельца Мейснера и тельца Фатера-Пачини, определяющие вибрации. В срезах, полученных из мест локализации БАТ, обнаружены данные образования в количествах, превышающих таковые в интактной коже (Рис. 3.6.).

Тельца Мейснера и Фатер-Пачини имеют небольшой диаметр. Как правило, тельца Фетер-Пачини имеют овальную форму. Тельца Мейснера расположены между эпидермисом и дермой ближе к сосочковому слою и имеют

овальную форму, вытянуты вдоль поверхности кожи. Они значительно крупнее, чем в интактной коже.

Нервные окончания подходят к стержню волоса и оканчиваются непосредственно под сальной железой. Анализ полученных размеров данных инкапсулированных окончаний показал, что средняя длина телец Фатера-Пачини в области БАТ составила $2,83 \pm 0,21$ мкм, а ширина – $1,54 \pm 0,18$ мкм, тогда как в интактных зонах средние размеры составили $2,38 \pm 0,12$ мкм. и, $1,71 \pm 0,07$ мкм, соответственно (Рис. 3.10.).

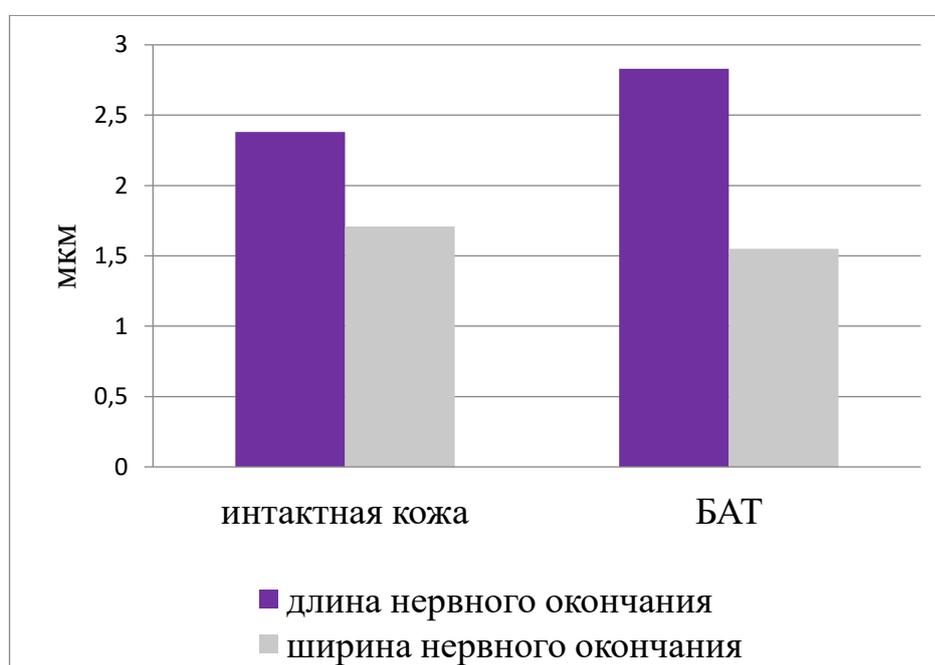


Рис. 3.10. Средние показатели размера телец Фатера-Пачини, мкм

Длина телец Мейснера в области БАТ составила $7,48 \pm 2,85$ мкм, а ширина – $3,82 \pm 1,32$ мкм, длина нервных окончаний в интактных зонах составила $5,41 \pm 0,29$ мкм, а ширина – $3,01 \pm 1,04$ мкм (Рис. 3.11.).

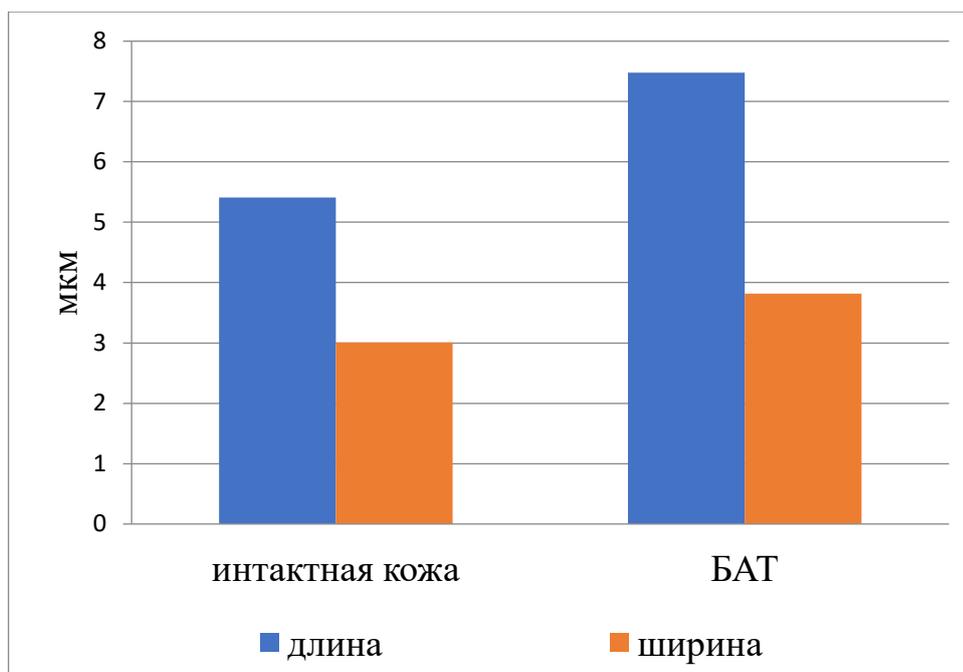


Рис. 3.11. Средние показатели размера телец Мейснера, мкм

В местах обнаружения точек активности наблюдаются скопления телец Фатера-Пачини и Мейснера, жировые включения и кровеносные сосуды. Инкапсулированные нервные окончания в интактных зонах отсутствуют, или встречаются очень редко [Пойденко, 2016].

В области БАТ количество жировых включений меньше и их диаметр равен $1,61 \pm 0,09$ мкм. Диаметр жировых клеток в интактных зонах больше и равен $2,34 \pm 0,1$ мкм.

Диаметр артерий в области БАТ составляет $2,02 \pm 0,3$ мкм, в интактных зонах - $1,67 \pm 0,09$ мкм. Диаметр венозных сосудов в области БАТ равен $1,6 \pm 0,13$ мкм, в интактных зонах - $2,34 \pm 0,12$ мкм.

Из исследований гистологического строения БАТ было выяснено, что эпидермис точек акупунктуры более тонкий в сравнении с кожей вокруг БАТ. Поверхность кожи БАТ шероховатая. В эпидермисе точек акупунктуры находятся эпидермальные выросты. Под этими образованиями в сосудистом слое можно обнаружить более густую капиллярную сеть, увеличена частота встречаемости артериовенозных анастомозов, располагаются тучные клетки, инкапсулированные и свободные нервные окончания [Шевченко, 2017].

Выводы

1. В области грудного и поясничного отделов спины кролика обнаружено 38 биологически активных точек. Корпоральные точки активности располагаются на паравертебральной стороне между поперечными отростками позвонков.

2. В местах обнаружения точек активности наблюдаются скопления телец Фатера-Пачини и Мейснера. Их размеры превышают таковые кожи рядом лежащих участков. Средняя длина телец Фатера-Пачини в области БАТ составила $2,83 \pm 0,21$ мкм, а ширина – $1,54 \pm 0,18$ мкм, тогда как в интактных зонах средние размеры составили $2,38 \pm 0,12$ мкм. и $1,71 \pm 0,07$ мкм, соответственно. Длина телец Мейснера в области БАТ составила $7,48 \pm 2,85$ мкм, а ширина – $3,82 \pm 1,32$ мкм, длина нервных окончаний в интактных зонах составила $5,41 \pm 0,29$ мкм, а ширина – $3,01 \pm 1,04$ мкм. Инкапсулированные нервные окончания в интактных зонах присутствуют в виде единичных экземпляров.

3. В области БАТ количество жировых включений меньше и их диаметр равен $1,61 \pm 0,09$ мкм. Диаметр жировых клеток в интактных зонах больше и равен $2,34 \pm 0,1$ мкм.

4. Средний диаметр артериальных сосудов в области БАТ составляет и $2,02 \pm 0,3$ мкм, в интактных зонах – $1,67 \pm 0,09$ мкм. Диаметр венозных сосудов в области БАТ равен $2,34 \pm 0,12$ мкм, в интактных зонах – $1,6 \pm 0,13$ мкм.

Список использованных источников

1. Андрющенко О. И. Методы поиска биологически активных точек. Системы и приборы медицинского назначения. Томск: 2016. С. 44-48.
2. Артишевский А. А., Леонтьук А.С., Слука Б. А. Гистология с техникой гистологических исследований: учебник. Мн.: Выш. шк., 1999. 236 с.
3. Вандан Я. А., Залцмане В. К. Морфологические особенности биологически активных точек. Проблемы клинической биофизики. Рига: 2015. С. 51-57.
4. Василенко А. М. Терминологический аппарат современной рефлексотерапии. Репринт // Рефлексотерапия. 2014. №1 (1). С. 43-46.
5. Васильева Л. А. Статистические методы в биологии, медицине и сельском хозяйстве: учеб. пособие. Новосибирск: Институт цитологии и генетики СО РАН, 2007. С. 113-124 .
6. Вержбицкая Н. И. Медико-биологические и технические аспекты рефлексодиагностики и рефлексотерапии. Калинин, 2014. 41 с.
7. Волкова О. В. Елецкий Ю. К. Основы гистологии с гистологической техникой. М.: Медицина, 2002. 240 с.
8. Гайдученко Ю. С. Модификация импрегнации гистологических объектов азотнокислым серебром по методу Кахаля-Фаворского-Ренсона. Международный журнал экспериментального образования. 2011. № 5. С. 37-37; URL: <http://expeducation.ru/ru/article/view?id=1471> (дата обращения: 15.03.2019).
9. Горбачева А. А. Микроструктурные особенности биологически активных точек собак // Научные ведомости БелГУ. Сер. Естественные науки. 2011. № 15(110), вып. 16. С. 55-58.
10. Горбачева А. А. Микроанатомическое строение биологически активных точек области лопатки и плеча собак // Проблема зоотехнии, ветеринарии и биологии сельскохозяйственных животных: Сб. науч. тр. Дальневосточный ГАУ. Благовещенск, 2016. С. 83-86.

11. Горбачева А. А., Рябуха В. А. Структурный анализ гистологического строения биологически активных точек области лопатки и плеча собак // Молодежь XXI века: шаг в будущее: Материалы четвертой региональной научно-практической конференции. Дальневосточный ГАУ. Благовещенск, 2016. С. 329-330.

12. ГОСТ 15150-69. Машины, приборы и другие технические изделия. Исполнения для различных климатических районов. Категории, условия эксплуатации, хранения и транспортирования в части воздействия климатических факторов внешней среды (с Изменениями № 1, 2, 3, 4, 5).

13. Зверев А. А., Зефирова Т. Л. Статистические методы в биологии: учебно-методическое пособие. Казань: КФУ, 2013. 42 с.

14. Пешкова Е. В., Акулинин Е. И. Изучение строения и методов исследования тканей животных и человека: метод. Указания. Тамбов: Изд-во ФГБОУ ВПО «ТГТУ», 2012. 24 с.

15. Казеев Г. В. Ветеринарная акупунктура (научно-практическое руководство). М.: РИО РГАЗУ, 2014. 398 с.

16. Катин А. Я. Акупунктурная сегментно-зональная вегетотерапия. М.: МЕД. ЛИТ. 2015. 156 с.

17. Кларк Э. Р., Эберхард К. Н. Микроскопические методы исследования материалов. М.: Техносфера, 2017. 376 с.

18. Клименко Л. М. Акупунктурные точки специфических зон воздействия. М.: Прометей, 2014. 12 с.

19. Концевова А. А. Значение биологически активных точек при патологии печени у собак // Политематический сетевой электронный НАУЧНЫЙ ЖУРНАЛ Кубанского государственного аграрного университета. 2017. № 74 (10). С. 8.

20. Казьмин В. И., Даценко А. В. Импрегнация микроглиоцитов солью серебра на гистологических срезах гиппокампа кроликов // Саратовский научно-медицинский журнал. 2016. № 12 (4). С. 692–695.

21. Латышев В. А., Латышев К. В. Метод ПЭП «Евразия». Психоэлектропунктура и долголетие. 2-е изд., перераб. Москва: АНАЛИТИК, 2017. 132 с.
22. Копчекчи М. Е., Чучин В. Н. Нетрадиционные методы лечения в ветеринарии: методические указания по выполнению лабораторных работ для специальности 36.05.01. Ветеринария. Саратов: изд-во ФГБОУ ВО «Саратовский ГАУ», 2016. 109 с.
23. Малков П. Ю. Количественный анализ биологических данных: учеб. пособие. Горно-Алтайск: РИО ГАГУ, 2017. 71 с.
24. Масенко В. П., Кочетов О. В., Жиров И. В. Методы статистической обработки медицинских данных: методические рекомендации для ординаторов и аспирантов медицинских учебных заведений, научных работников. Москва: РКНПК, 2016. 42 с.
25. Микроскоп биологический исследовательский Микроскоп Motic BA300. Инструкция к пользованию. Л.: ЛОМО, 2014. 30 с.
26. Плахотин М. В. Иглоакупация в ветеринарии. М.: Колос, 2015. 71 с.
27. Пойденко А. А. Анатомо-топографические закономерности расположения биологически активных точек в области голени собак // Вестник КрасГАУ. 2016. № 7. С. 114-116.
28. Ремезов Л. В., Пирогов Н. А., Ремезов Л. В. Стимуляция молочной продуктивности и профилактика маститов у коров воздействием на биологически активные точки. Профилактика незаразных болезней у коров. Таллин, 1998. С. 165-166.
29. Ржаницена И. С. Видовые и регионарные особенности в морфологии нервных сплетений кожи сельскохозяйственных животных: тез. док. Науч. конф. морфологов Восточной Сибири. Иркутск, 2001. С. 273-274.
30. Русецкий И. И. Метод китайского иглоукалывания в неврологической практике // Казанский мед. журнал. 2000. № 2. С. 11-18.
31. Рокицкий П. Ф. Биологическая статистика. Минск: Высшая школа, 2015. 320 с.

32. Ромейс Б. Микроскопическая техника М., 2014. 57 с.
33. Роскин Г. И., Левинсон Л. Б. Микроскопическая техника. М., 2014. 77 с.
34. Рябуха А. В. Морфофункциональная характеристика биологически активных точек головы собак: монография. Благовещенск, 2004. 263 с.
35. Рябуха В. А., Засорина Т. Н. Морфологическая структура биологически активных точек и возможность применения способа рефлексохимиотерапии. Морфология и хирургия практической ветеринарной медицине: Сб. науч. тр. Оренбургский ГАУ. Оренбург, 2014. С. 148-150.
36. Рябуха В. А., Миллер Т. В., Пойденко А. А. Мофрфизиологические аспекты механизма лечебного действия рефлексотерапии: материалы международной научно-практической конференции «Состояние и перспективы обеспечения ветеринарного благополучия Восточной Сибири». Чита, 2016. С. 163-169.
37. Савельева Т. С. Применение методики «RIO-DO-RAKU» для диагностики внутренних незаразных болезней домашних животных: 3-я Международная конференция по проблемам ветеринарной медицины мелких домашних животных. М., 2012. С. 283-285.
38. Самусенко О. Л. Гистологическое строение биологически активных точек головы кур в аптериях. Экология южной Сибири и сопредельных территорий: материалы междунар. науч. конф. студентов и молодых ученых. Абакан, 2015. Т. 2. С. 142–143.
39. Ставицкая Т. С. Термоэлектрическое охлаждение. М., 2016. 98 с.
40. Статистические методы анализа в биологии: учеб. пособие для самостоятельной работы студентов по направлению подготовки бакалавров 020400 Биология. Ставрополь: Изд-во СтГМУ, 2014. 81 с.
41. Устройство нахождения точек акупунктуры Поиск. рег. уд. Росздравнадзора ФС 02012006/3728-06.
42. Фолль Р. Топографическое положение точек замера при электроиглотерапии. М.: Техарт, 2014. 58 с.

43. Хэм А., Кормак Д. Гистология. Т. 4. М.: Мир, 1983. С. 49-79.
44. Чельшев Ю. А., Винтер Р. И., Зефилов Т. Л. Дегенерация слоистых телец (Фатера-Пачини) при аппликации колхицина на нерв // Архив анатомии, гистологии и эмбриологии. 1998. Т. 74, вып. 5. С. 26-31.
45. Чельшев Ю. А. Нейрогистологические и гистохимические данные о дополнительном волокне некоторых инкапсулированных рецепторов. Архив анатомии, гистологии и эмбриологии, 1999. Т. 76. Вып. 4. С. 45-51.
46. Черняев Э. Г. Адаптация магистрального венозного русла обыкновенной кукуры к полуводному образу. Адаптивные особенности кровяной и других систем и органов у млекопитающих и птиц. Киев, 1995. С. 78-83.
47. Чучин В. Н. Электропунктура при атонии преджелудков у коров // Ветеринария. 1990, № 5. С. 54-55.
48. Шабанов А. Н., Сосунов А. А., Тельцов А. П. Иннервация аурикулярных точек акупунктуры // Морфология. 2008. № 3. 130 с.
49. Швальбе Г. Учебник неврологии. Эрланген: 2010. 312 с.
50. Шевченко Б. П. Артерии гортани, глотки и языка северного оленя. Исследования по морфологии и физиологии сельскохозяйственных животных: Сб. науч. тр. Благовещенского СХИ. Благовещенск, 2008. С. 7-11.
51. Шевченко Б. П., Андреев М. В. Переходный тубус для МБИ. Удостоверение на рационализаторское предложение № 40205 от 1.10. 2005.
52. Шевченко Б. П., Рябуха, В. А. К морфологии биологически активных точек собак. Актуальные проблемы ветеринарной медицины: материалы международной научно-практической конференции. Ульяновск, 2017. С. 70-71.
53. Шуст И. В. Артериальная васкуляризация некоторых мышц затылка собаки: Сб. науч. тр. Львов, 1998. Т. 9. 439 с.
54. Щербатюк В. А., Лисенкова А. М. Устройство поиска и воздействия на биологически активные точки. Минск, 2016. 78 с.

55. Юдичев Ю. Ф. Венозные сосуды. Анатомия домашних животных. М., 1984. С. 368-369.
56. Янин В. Л., Бондаренко О. М., Сазонова Н. А. Учебно-методическое пособие для аспирантов очной формы обучения к практическим занятиям по дисциплине «Методы исследования в цитологии и гистологии»: учеб.-метод. пособие. Ханты Мансийск: БУ «Ханты-Мансийская государственная медицинская академия», 2015. 65 с.
57. Auteface A. Recherche de quelques points d'acupuncture chez le chien application a Tanalgesie chirurgicale: These. Ecole nat. Veter. Toulouse, 2005. 136 p.
58. Babor J. Sur les veines de la tete ches lachavze. Publ. boil. Haut. Etud. 2002. Vet. 1, 13. 398 p.
59. Boitor I., Mois D., Muntean M. Perspectivele aplicarii acupuncturii in medicina veterinara. Lucr. Inst. Agron. (Cluj-Napoca). Fac. Agr. Cafedra Med. Veter. 2006. T. 15. P. 165-171.
60. Borzecki M., Kacki J. Assessment of acupuncture as a method of analgesia during operation. Anaesth. Resusc. Intens. Ther. 2004. Vol. 4, № 1. P. 53-60.
61. Bossi J. Bases neuro-biologiges des reflexotherapies. Paris, 2007. 110 p.
62. Bossi J., Marel J. C. Acupuncture. Paris, 2009. 140 p.
63. Bossi J. Nerval mechanisia in acupuncture analgesia. Minerva med. 2009. Vol. 70, № 24. P. 705-715.
64. Bossut D. F., Page E. H., Stromberg M.W. Production of cutaneous analgesia by electroacupuncture in horses: Variations dependent on sex of subject and locus of stimulation. Am. J. Veter. Res. 2014. Vol. 45, № 4. P. 620-625.
65. Brunner F. Die anwendung der akupunktur zur analgesia in der chinesischen veterinary. Chirurgie Wien., Tierarztel Monatsschr. 2011. Bd. 62, № 10. P. 392-394.
66. Cauna N. Fine structure of the receptor organs and its probable functional significance. In: Touch, heat and pain. London. J. a. Churichill LTD, 2006. P. 47-136.

67. Chen C. S. The nevrophysiological mechanism of acupuncture treatment in prychiatrie illness an autonomical humoral theory. Amer. J. Clin.Med. 2009. Vol. 7, № 2. P. 183-187.
68. Clark E. R. Arterio-venous anastomoses. «Physiol. Rev.». 1998. V. 18, № 2, P. 229-245.
69. Clifford D. N., Lee D. S., Lee M. O. Influence of acupuncture on the cardiovascular system of dogs under halothane anesthesia. In Proceedings other World Congres of the World small animals. Amsterdam, 1997. P. 84-85.
70. Dewey M. M., Barr L. A study of the structure and distribution of the nexus. J. Cell. Biol. 2013. V. 25. P. 553-583.
71. Dimitrescu J. Elements d'electrodermodiagnose compte rendu general. Congress mondal acup. Paris, 1969. P. 34.
72. Doust J. W. The capillary system in patients with psychiatric disorder: ontogenetic structural determination of the nail ford capillaries as observed by photomicroscope. «J.nerv. ment. dis», 2005, V. 121, № 6, P. 516-526.
73. Draehmpaehl D., Ottensmejer A., Kleinpeter A. Makroskopische und histologische untersuchungen von akupunkturpunkten an extremitaten von pferden. Akupunktur-Theorie und Praxis. 2002. № 3. P. 135-142.
74. Ehinger B., Falck B. Adrenergic fibres to the heart and to peripheral vessels. Bibl. Anat. (Basel). 2006. V. 8. P. 35-45.
75. Fuxe K., Nilson B. J. Mechanoreceptors and adrenergic nerve terminals. Experiential. 2005. V. 21, № 2. P. 641-642.
76. Gardner E. The Distribution and termination of nerves in the Knee joint of the cat. J. Comp. Nevrol. 2004. V. 80, n. 1. P. 1-32.
77. . Goto K., Loewenstein W. An accessory small nerve fibre in a mechano-receptor. Biol. Bull. 2011. V. 121, № 2, P. 391.
78. Grail G. Elements d'electrodermodiagnose compete rendu general. Congres mondall acup. Paris, 1999. P. 34.
79. Grant R. T. Observation on direct communication between arteries and vein in the rabbits ear. M.: «Heart», 1990. № 3. P. 281-304.

80. Halata Z., Groth H.-P. Innervation of the synovial membrane of the cat's joint capsule. *Cell. Tissue Res.*, 1996. V. 169, № 3 P. 415-418.
81. Halata Z. The ultrastructure of the sensory nerve endings in the articular capsule of knee joint of the domestic cat. *J. Anat.*, 1997. V. 124, P. 717-724.
82. Halata Z., Munger B. L. Sensory nerve endings in rhesus monkey sinus hairs. *J. Comp. Neurol.* 2000. V. 192, № 4. P. 645-663.
83. Heine H. Funktionelle morphologie der akupunkturpunkte des du mai- und Ren Mai-Meridians. *Dtsch. Zschr. Akup.* 2000. № 33. P. 94-98.
84. Iggo A. Electrophysiology of cutaneous sensory receptors. In: *skin Vertebr. Pap. Symp. Lond.*, 1988. P. 225-270.
85. Kano T., Cowan G. S. M., Smith R. N. Electroanesthesia (EA) studies produced by stimulation sensory nerves of the scap in rhesus monkeys. *Anesth. Analg.* 1996. Vol. 55, № 4. P. 536-541.
86. Koning R. Does acupuncture help to induce oestrus // *Pins.* 1998. Vol. 4, № 2. P.13-14.
87. Kothbauer O. Ein Kaiserschnitt bei eniner Kuh unter akupunkturalgesie. *Wien. tierarztl. Monatssehr.* 1995. Bd. 62, № 10. P. 394–396.
88. Kruger L., Perl E. R., Sedives M. J. Fine structure of myelinated mechamcal noiceptor endings in cat hairy skin. *J. Comp; Neurol.* 1991. V. 198, № 1, P. 137-154.
89. Larsen W. J. Structural diversity of gap functions. *Tissue, cells*, 2007, V. 9, №3, P. 373-394.
90. Liebich H. Funktionelle Histologie. Forbatlas und Kurzlenrbuch der mikroskopischen Anatomee der Haussa uqetiere. Schattauer. Stutt-gart. New York., 2010. P. 37-38.
91. Loewenstein W., Altamirano-Orrego R. Enhancement of activity in a Pacinian corpuscle by sympathetic agents. *Nature*, 1996, V. 178, P. 1292-1293.
92. Luo Cheng Hao Electropuncture therapy trial for treating infertility in mares. *Theriogenology.* 1997. Vol. 28, № 3. P. 301-305.
93. Man P. L. Handbook of acupuncture analgesia. Field-Place Press:

Woodbury N. J., 1993. 128 p.

94. Manaca Y., Urguhart A. The laymans quiede to acupuncture. New York: Tokyo, 2009. 143 p.

95. Martin B. B., Klide A. M. Use of acupuncture for the treatment of chronic back pain in horses: Stimulation of acupuncture points with saline solution injections. J. Am.Veter. Med. Assn. 2007. Vol. 190, N 9. P. 1177-1180.

96. Molinier F. Principes du traitement des coliques du cheval par l'acupuncture. Prat. Vete r/ equine. 2008. Vol. 20, № 2. P. 12-31.

97. Montagna W., Ellis R.A. Vascular patterns of the skin. Advances in Biology of the Skin. New York, Pergamon Pres, 2001. V. 2, P. 20,

98. Munger B. L., Halata Z. Sensory nerve endings in rhesus monkey sinus hairs. J. Comp. Neurol. 2003. V. 192. № 4 P. 645-663.

99. Muxeneder R. Unterusrelaxierung durch akupunktur bei der Sectio caesarea conservativa der rindes. Wien. Tierarztl. Mschr. 2004. Bd. 22, №11. P. 320-323.

100. Niboyet J. E. H. L'anesthesie par L'acupuncture. Paris, 2003. 433.

101. Ottonello M., Bertirotti S., Fabiano F., Meinero P., Gialdini S., Verardo T. Occlusione meccanica dell'intestino tenne da fitobezoari. Minerva chir. 2003, V. 48, № 7, P. 341-343.