

Ятусевич А.И. Мероприятия по профилактике гельминтозов крупного рогатого скота в условиях белорусского Полесья: Уте. ГУВ МСХ и П РБ 2007 г. / Ятусевич А.И., Протасовицкая Р.Н., Ятусевич И.А. – Витебск, 2007.- 32 с. 8. Ятусевич, А.И. Гельминтозы крупного рогатого скота и меры борьбы с ними в условиях экологического прессинга: монография / А.И. Ятусевич, Р.Н. Протасовицкая; Учреждение образования "Витебская государственная академия ветеринарной медицины". - Витебск, 2010. - 155 с.

Статья передана в печать 16.08.2013

УДК 611.451:598.252.1

ВОЗРАСТНЫЕ ГИСТОЛОГИЧЕСКИЕ ПЕРЕСТРОЙКИ НАДПОЧЕЧНИКОВ У КРЯКВЫ, ОБИТАЮЩЕЙ В СЕВЕРНОЙ ЧАСТИ БЕЛАРУСИ

Федотов Д.Н.

УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь

В статье представлен материал по морфологии надпочечника селезней кряквы. У данного вида птиц орган имеет четко выраженные структурные особенности и уникальную возрастную динамику клеточного состава надпочечника.

The article presents data on the morphology of the adrenal mallard drakes. In this type of bird body has distinct structural features and unique age dynamics of the cellular composition of the adrenal gland.

Ключевые слова: надпочечник, селезень, онтогенез, морфология.

Key words: adrenal, drake, ontogeny, morphology.

Введение. Своеобразный ход эволюции надпочечников, образующихся в филогенезе и онтогенезе из двух разных желез – интерреналовой (мезодермального происхождения) и супрареналовой (эктодермального происхождения) остается до сих пор загадочным по своему биологическому смыслу. Один из путей разрешения этой большой фундаментальной проблемы – исследование надпочечника на разных ступенях его развития у различных классов позвоночных, так как степень изученности гистологии этого органа явно убывает от млекопитающих к низшим позвоночным.

В этой статье предлагается фрагмент гистологического исследования надпочечника класса птиц (*Aves*), посвященный одному из его отрядов – гусеобразных (*Anseriformes*) и семейства утиных (*Anatidae*) – крякве или кряквенной утке (*Anas platyrhynchos*), наиболее известной и распространенной дикой утке. Она является одним из основных объектов спортивной, а местами – промысловой охоты. У кряквы очень интенсивный темп роста тела в постнатальном развитии, т.к. только за первые 2 месяца жизни живая масса птенцов увеличивается в 18 раз. Рост организма, его половое и физиологическое созревание, обмен веществ, линька, яйцекладка во многом определяются функциональным состоянием эндокринной системы, в том числе и исполнительно периферического звена – надпочечников. Интерреналовая и хромоаффинная ткани в надпочечнике птиц весьма разнообразны по топографии, морфологии и количеству. Современная литература содержит существенные пробелы по вопросу гистологии надпочечников птиц, в том числе и кряквы. Цель наших исследований – определить видовые особенности микроскопического строения надпочечника кряквы (*Anas platyrhynchos*) и выявить морфометрические изменения клеточного состава железы в возрастном аспекте.

Материал и методы исследований. Работа выполнялась на кафедре патологической анатомии и гистологии УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины». Материал для исследования отбирался от 4 – 6- месячных (n=6) и 1 – 2- летних (n=5) селезней крякв добытых во время лицензионной охоты в северной части Беларуси. Также от пойманных в природе крякв, было получено потомство, выращиваемое в условиях частного подворья на территории РУКПСХП «Синицы» Бешенковичского района Витебской области, и материал дополнительно отбирался от 5-и суточных (n=4) и 1 – 2-месячных (n=5) селезней. Для изучения возрастных гистологических перестроек надпочечников были подобраны физиологически обоснованные возрастные группы птиц (всего 20 особей): 5-суточные птенцы – период новорожденности, 1 – 2-месячные птенцы прошли линьку, способны к различному кормлению, 4 – 6-месячные – начало полового созревания селезней и 1 – 2-летние – период физиологической или истинной зрелости.

Макрофотографирование исследуемых эндокринных желез проводили при помощи цифрового фотоаппарата с зеркальной камерой Nikon, модели D3100, с характеристиками Kit AF-S DX 18-55 mm f/3.5-5.6G VR. Для морфологических исследований во все изучаемые возрастные периоды от птиц отбирали надпочечники и фиксировали в смеси ружа, а также в смеси бихромата калия – формалин, приготовленной по копш-рего: 80 мл 3% раствора бихромата калия и 20 мл 10% нейтрального раствора формалина. Затем морфологический материал подвергали уплотнению путем заливки в парафин по общепринятым методикам. Изготавливали гистологические срезы толщиной 3 – 5 – 7 мкм на санном мс-2 микротоме, с последующей окраской гематоксилин-эозином. На светооптическом уровне каждая цитологическая структура описывалась набором морфологических признаков, отражающих видоспецифические и возрастные функциональные особенности исследуемой железы. При выборе

гистологических методов и описании срезов птиц руководствовались рекомендациями hohn e.o., westwood l.a. При описании желез перепелов использовали классификацию клеточного состава надпочечника птиц по hassan a., guzsal e., несколько модифицированную нами. Более толстые срезы (толщиной 10 – 15 мкм) получали на замораживающем микротоме фирмы «microm» модели hm 525. Полученные гистологические препараты окрашивали суданом (для выявления липидов). При помощи данного метода в гистологических срезах органов липидные вещества окрашиваются в интенсивно оранжевый цвет, а ядра – в синий цвет. Результаты данного гистохимического исследования фиксировались путем визуального сравнения, как в описательной форме, так и с использованием условной пятибалльной шкалы оценок, с последующим расчетом суммы баллов и получения среднего балла для определенного возраста. Шкала оценки насыщенности липидов в надпочечнике: 0 баллов – отсутствие признака, 1 балл – очень слабо выраженный признак, 2 балла – слабо выраженный признак, 3 балла – умеренно выраженный признак, 4 балла – выраженный признак и 5 баллов – резко выраженный признак.

Абсолютные измерения структурных компонентов железы осуществляли при помощи светового микроскопа «Olympus» модели BX-41 с цифровой фотокамерой системы «Altra₂₀» и спектрометра HR 800 с использованием программы «Cell[^]A» и проводили фотографирование цветных изображений (разрешением 1400 на 900 пикселей). На препаратах определяли удельный объем (%) интерреналовой и хромаффинной ткани надпочечника по точечной счетной сетке, при помощи компьютерной программы «NETS» для воспроизведения морфометрии сеткой Авандилова. Все цифровые данные, полученные при проведении экспериментальных исследований, были обработаны с помощью компьютерного программного профессионального статистического пакета «IBM SPSS Statistics 21», критерий Стьюдента на достоверность различий сравниваемых показателей оценивали по трем порогам вероятности: * p<0,05, ** p<0,01 и *** p<0,001.

Результаты исследований и их обсуждение. Результаты проведенных исследований указывают, что у кряквы надпочечник покрыт тонкой соединительнотканной капсулой образованной двумя слоями: толстым наружным – более плотным и тонким внутренним – рыхлым, с множеством клеточных элементов. Наличие адипоцитов в составе капсулы не было выявлено. Синусоидные капилляры присутствуют на всей территории надпочечника и, как правило, в железистой ткани.

Таблица 1 – Морфометрические характеристики цитологического состава надпочечника кряквы

Показатели		Возраст			
		5-сут.	1-2 мес.	4-6 мес.	1-2 года
Толщина капсулы, мкм		27,25± 2,63	38,20± 2,17*	42,83± 1,94	98,80± 6,30**
Интерреналоциты I типа, мкм	высота клеток	9,00± 0,16	9,72± 0,37	10,47± 0,52	6,86± 0,36*
	диаметр ядра	3,85± 0,31	4,64± 0,23*	4,88± 0,24	3,00± 0,10**
Интерреналоциты II типа, мкм	высота клеток	10,00± 0,22	8,90± 0,22	8,55± 0,41	10,7± 0,31
	диаметр ядра	4,38± 0,21	3,60± 0,26*	3,28± 0,17	5,36± 0,30**
Интерреналоциты III типа, мкм	высота клеток	9,45± 0,19	11,68± 0,18	14,17± 0,29*	15,38± 0,41
	диаметр ядра	3,58± 0,15	4,80± 0,32*	6,10± 0,24*	6,26± 0,23
Интерреналоциты IV типа, мкм	высота клеток	4,60± 0,12	4,66± 0,42	5,33± 0,53	5,60± 0,65
	диаметр ядра	1,65± 0,19	2,00± 0,07	2,27± 0,39	2,40± 0,42
Хромаффиноциты, мкм	размер клеток	10,63± 0,48	16,08± 0,45**	18,27± 0,53*	14,72± 0,55*
	диаметр ядра	3,33± 0,24	6,74± 0,28**	7,50± 0,44	6,22± 0,37*
Относительное содержание интерреналоцитов, %		60,75± 4,35	68,20± 2,59	80,00± 1,41*	71,40± 2,19
Относительное содержание хромаффинноцитов, %		39,25± 4,35	31,80± 2,59*	20,00± 1,41**	28,60± 2,19*
Насыщенность интерреналоцитов липидами, баллы		2,00± 0,82	3,40± 1,14**	4,83± 0,41*	3,20± 1,30**

Примечание: * p < 0,05; ** p < 0,01; * - по отношению к предыдущему возрастному периоду

Для кряквы характерно четкое районирование интерреналовой ткани на субкапсулярную и внутреннюю зоны. Интерреналовая часть надпочечника кряквы представлена системой многочисленных эпителиальных тяжей, тесно прилегающих друг другу, между которыми располагаются синусоиды. Каждый тяж состоит из двух рядов эндокриноцитов. Клеточный состав интерреналовой железы надпочечника у кряквы подразделен на интерреналоциты I, II, III и IV типов. Интерреналоциты преимущественно столбчатой формы. Ядра клеток первого ряда располагаются преимущественно в центре, а второго ряда – ближе к апикальному полюсу клетки. Часть ядер шаровидной формы с одним ядрышком, реже с двумя-тремя ядрышками, а часть ядер овальной формы в стадии деления. Для интерреналоцитов характерна пеннистая цитоплазма. Клетки I типа субкапсулярной зоны имеют столбчатую форму, формируют тяжи, организованные в два ряда, которые локализуются вдоль капсулы изогнуто, образуя петли, тем самым ограждая медуллярные островки клеток. Интерреналоциты I типа с плотной пеннистой цитоплазмой,

ядрами преимущественно овальной формы содержат эухроматин с четким ядрышком. Высота интерреналоцитов I типа у 5-суточных утят составляет $9,00 \pm 0,16$ мкм, до 2-х месяцев показатель незначительно возрастает в 1,08 раза, к 6-и месяцам становится максимальным и составляет $10,47 \pm 0,52$ мкм. К 2-м годам высота клеток снижается в 1,53 раза ($p < 0,05$) по сравнению с предыдущим возрастным периодом. Данная тенденция характерна и для размера ядер интерреналоцитов I типа. Так, максимальный диаметр ядер в 4 – 6 месяцев равен $4,88 \pm 0,24$ мкм, а минимальный – в 1 – 2 года составляет $3,00 \pm 0,10$ ($p < 0,01$). Следовательно, в первый год жизни у крякв в надпочечнике наблюдается динамичный рост интерреналоцитов I типа, после чего к 2-м годам рост начинает снижаться, приводя к уменьшению размеров самих клеток.

Интерреналоциты II типа столбчатые, со сферическими ядрами и пенистой цитоплазмой, расположены на границе субкапсулярной и внутренней зон надпочечника кряквы. Митотическая активность настоящих клеток очень высокая на протяжении всех исследуемых возрастных периодов. Ядра содержат до 3-х ядрышек и эухроматин. У интерреналоцитов II типа наблюдаются противоположные ростовые процессы, в отличие от интерреналоцитов I типа. Так, к 1 – 2 месяцам высота клеток снижается в 1,12 раза по сравнению с 5-суточными утятами и к 4–6-месяцам в среднем составляет $8,55 \pm 0,41$ мкм. На протяжении первого года развития размер интерреналоцитов II типа плавно снижается, после чего к 2-м годам увеличивается в 1,25 раза, т.е. высота клеток становится практически такой же, как у 5-суточных утят. Диаметр ядер также с возрастом уменьшается: у 2-месячных в 1,22 раза ($p < 0,05$), у 6-месячных в 1,09 раза и после 1 года увеличивается в 1,63 раза ($p < 0,01$), достигая максимально размера $5,36 \pm 0,30$ мкм.

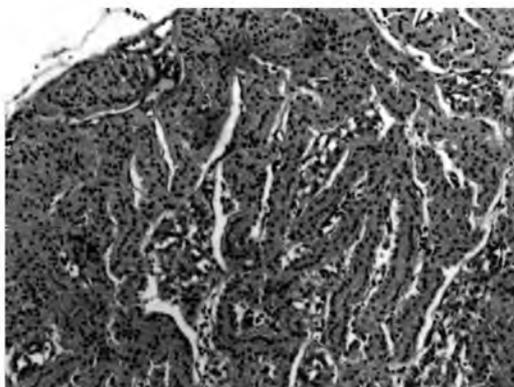


Рисунок 1 – Гистологическая композиция надпочечника 5-суточного утенка (окраска гематоксилин-эозином, x100)

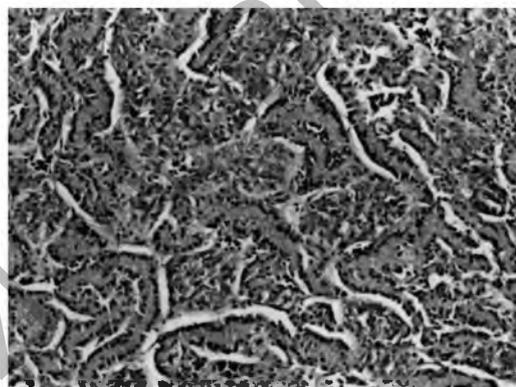


Рисунок 2 – Расширение синусоидных капилляров и уменьшение количества медуллярных островков между интерреналовыми тяжами в надпочечнике 2-месячной кряквы (окраска гематоксилин-эозином, x100)

Интерреналоциты III типа кубической формы, с вакуолизированной цитоплазмой, у птенцов располагаются на границе двух зон, а у взрослой птицы после 4-х месяцев только во внутренней зоне надпочечника, образуя прямые тяжи, местами переплетающиеся с хромоаффинноцитами. В надпочечнике утят в этих клетках между вакуолями располагается мелкая ацидофильная зернистость, которая с возрастом пропадает и цитоплазма приобретает исключительно пенистый вид. Ядра шаровидной формы с одним ядрышком, реже с двумя. Однако встречаются ядра вытянутой или овальной формы, которые, как правило, находятся в стадии деления. Интерреналоциты III типа в отличие от предыдущих клеток двух типов интерреналовой железы надпочечника кряквы имеют прямой рост от 5-и суток до 2 лет. Следовательно, наименьший их размер – в 5-суточном возрасте и равен он $9,45 \pm 0,19$ мкм. К 2-м месяцам показатель плавно увеличивается в 1,24 раза, а к началу полового созревания (4 – 6 месяцев) – в 1,28 раза ($p < 0,05$). Максимального размера клетки достигают к 2-м годам – $15,38 \pm 0,41$ мкм. За весь изучаемый период высота клеток увеличилась в 1,63 раза.

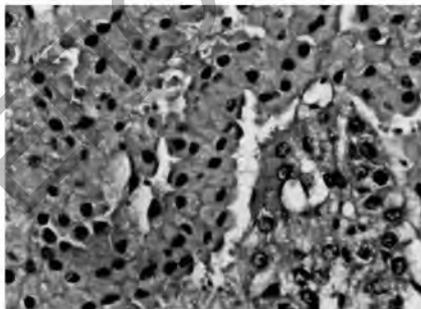


Рисунок 3 – Прямые тяжи интерреналоцитов III типа с вакуолизированной цитоплазмой во внутренней зоне надпочечника 4-месячного селезня (окраска гематоксилин-эозином, x400)

Диаметр ядер интерреналоцитов III типа так же, как и клетки, имеет прямой рост. У 5-суточных утят диаметр составляет $3,58 \pm 0,15$ мкм, у 1 – 2-месячных крякв показатель увеличивается в 1,34 раза ($p < 0,05$), у 4–6-месячных – в 1,27 раза ($p < 0,05$) по сравнению с предыдущим периодом и к 1 – 2-м годам равен $6,26 \pm 0,23$ мкм. В отличие от самой клетки ядро имеет наибольшие темпы роста, т.к. его диаметр от 5-суток до 2-х лет увеличивается в 1,75 раза.

Клетки IV типа кубической формы, с негранулированной цитоплазмой и ядром, содержащим гетерохроматин. Интерреналоциты этого типа рассеяны внутри надпочечника группами, в виде коротких тяжей, либо островков. Размер интерреналоцитов IV типа незначительно увеличивается в постнатальном онтогенезе с $4,60 \pm 0,12$ мкм до $5,60 \pm 0,65$ мкм, т.е. на 1 мкм за весь исследуемый период увеличиваются клетки.

Размеры их ядер также варьируют в пределах от $1,65 \pm 0,19$ мкм до $2,40 \pm 0,42$ мкм, но за весь период роста увеличиваются в 1,45 раза.

Хромаффинная ткань в надпочечнике кряквы представлена в виде небольших клеточных островков. Преобладающая форма островков округлая, но встречаются вытянутые, а местами шнуровидные островки. Каждый медуллярный островок состоит из 16 – 22 клеток. В каждом островке от 2-х до 4-х клеток составляют норадреналиноциты. Островки окружены тонкой прослойкой рыхлой соединительной ткани. По бокам каждого из них проходит 1 – 2 синусоиды. Хромаффинноциты округлой, многоугольной и неправильной формы. Ядра шаровидной и неправильно округлой формы. Содержат от 3 до 5 ядрышек. Кариоплазма светлее, чем у ядер интерреналоцитов. Цитоплазма клеток содержит вытянутые или шаровидные гранулы, которые находятся вокруг ядер. Адреналиноциты имеют базофильную цитоплазму, преимущественно округлую либо неправильную форму и организуют целые островки. Хромаффинноциты по своим размерам преобладают над интерреналоцитами всех четырех типов. У 1 – 2-месячных птиц размер хромаффинноцитов увеличивается в 1,51 раза ($p < 0,01$) по сравнению с 5-и суточными птенцами. К 4-м – 6-и месяцам клетки достигают максимального размера, который составляет $18,27 \pm 0,53$ ($p < 0,05$). Однако к 2-м годам размер хромаффинноцитов уменьшается в 1,24 раза ($p < 0,05$). Для ядер данных клеток характерна такая же тенденция роста: до 6-месяцев их диаметр увеличивается, а к 2-м годам снижается и равен $6,22 \pm 0,37$ мкм ($p < 0,05$).

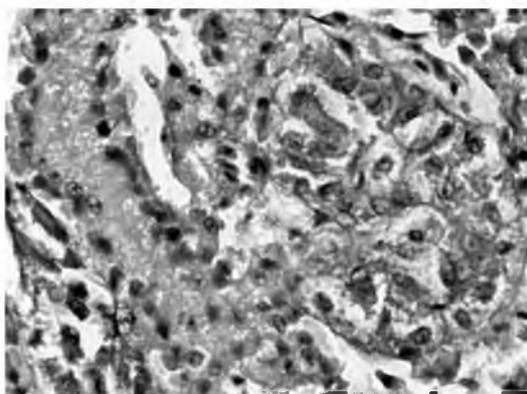


Рисунок 4 – Крупный островок хромаффинноцитов, оплетенный прослойкой соединительной ткани и синусоидами у 6-месячного селезня кряквы (окраска гематоксилин-эозином, х400)

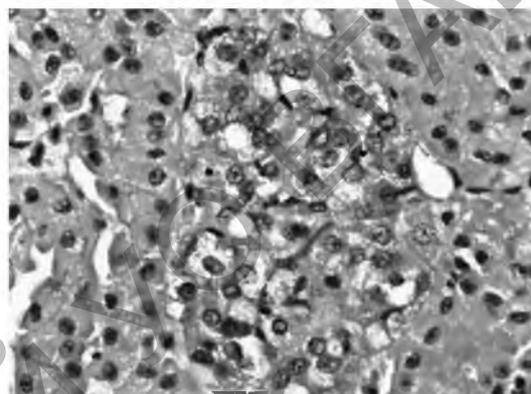


Рисунок 5 – Гистологическая конструкция надпочечника 12-месячной кряквы (окраска гематоксилин-эозином, х400)



Рисунок 6 – Утолщение капсулы надпочечника 2-летнего селезня кряквы (окраска гематоксилин-эозином, х100)

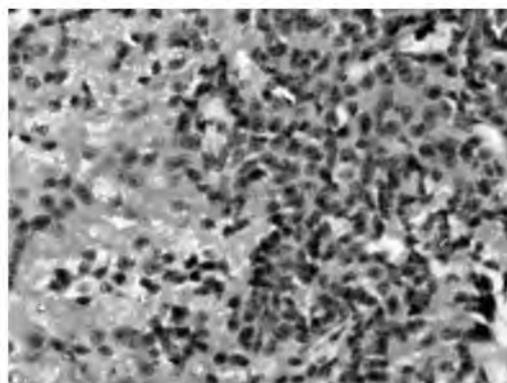


Рисунок 7 – Разрушение плазмолеммы интерреналоцитов субкапсулярной зоны надпочечника 2-летней кряквы (окраска гематоксилин-эозином, х400)

Заключение. Поскольку в этих исследованиях представлен лишь фрагмент работы, относящийся к одному из отрядов птиц, сравнения и обобщения будут сделаны в последующих работах, посвященных строению надпочечника у других видов орнитофауны.

Литература. 1. Жданов, Д.А. Макромикроскопические и стереоморфологические методы исследования конструкции органов / Д.А. Жданов // *Современные методы и техника морфологических исследований*. – Москва: Медгиз, 1955. – С. 221 – 235. 2. Тустановский, А.А. Современные гистохимические методы / А.А. Тустановский, Г.В. Орловская // *Современные методы и техника морфологических исследований*. – Москва: Медгиз, 1955. – С. 159 – 168. 3. Федотов, Д.Н. Микроскопическое строение надпочечников у японского перепела в возрастном аспекте / Д.Н. Федотов // *Ученые записки учреждения образования «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»*. – 2013. – Т. 49, вып. 2, ч. 1. – С. 154–158.

Статья передана в печать 16.08.2013