

21. *Shamsuddin M. & Rodriguez-Martinez, H. A simple, non- traumatic culture method for the selection of spermatozoa for in vitro fertilization in the bovine // Anim. Reprod. Sci. – 1994. – № 36. – P. 61–75.*
22. *1/29 Robertsonian translocation in Blond Aquitaine bulls: frequency and effects on semen characteristics / F. Gary, D. Cohcordet, H.M. Berland [et al.] // Genet.-Selec., Evol. – 1991. – № 23. – Suppl. 1. – P. 117–119.*



УДК 48:597.94

*Н.В. Донкова, А.А. Рубай*

### МИКРОСТРУКТУРА РЕГЕНЕРИРУЮЩИХ ТКАНЕЙ ГРУДНОЙ КОНЕЧНОСТИ ТРИТОНА

*В статье приведены результаты микроструктурного исследования регенерирующих тканей грудной конечности тритона после тотальной резекции и рассмотрены сроки формирования различных отделов конечности.*

**Ключевые слова:** *гистология, тритон, регенерация, грудная конечность.*

*N.V. Donkova, A.A. Rubai*

### THE MICROSTRUCTURE OF THE NEWT PECTORAL LIMB REGENERATING TISSUES

*The results of the microstructure research on the newt pectoral limb regenerating tissues after total resection are presented in the article, the formation periods of the limb various divisions are considered.*

**Key words:** *histology, newt, regeneration, pectorallimb.*

---

**Введение.** Тритоны – хвостатые амфибии семейства саламандровых, отличающиеся у большинства сплюснутым с боков хвостом (в связи с приспособлением к плаванию) и отсутствием околушных кожных желез, столь развитых у саламандр. Задние конечности – пятипалые, передние – четырехпалые [2].

Весьма значительна у тритонов способность воспроизводить утраченные части тела (регенерация). Целая конечность, будучи отрезанной у тритона, снова вырастает [1].

**Цель исследования.** Изучить микроструктуру регенерирующих тканей грудной конечности тритона.

**Материалы и методы исследования.** Исследования проводились в гистологической лаборатории кафедры анатомии, патологической анатомии и хирургии Института прикладной биотехнологии и ветеринарной медицины Красноярского государственного аграрного университета в 2011–2014 гг.

**Объектом исследования** послужили самки иглистого тритона.

Материалом для исследования послужили грудная конечность и хвостовые позвонки тритона.

Экспериментальную ампутацию моделировали путем удаления правой грудной конечности на уровне 2–3 мм дистальнее плечевого сустава. Ампутацию проводили после введения животного в состояние анабиоза путем постепенной гипотермии, то есть понижения температуры тела с 23 до 0°C с использованием кусочков льда. При этом наступало обездвиживание и снижение порога тактильной и болевой чувствительности. Данный способ анестезии является более эффективным и гуманным по сравнению с применением наркотических средств.

При использовании в качестве наркоза рометара или золетила у одной из особей после ампутации возникло осложнение в виде кровотечения, а в случае гипотермии кровотечения не наблюдалось.

За тритонами установили постоянное наблюдение. После ампутации животное вышло из состояния анабиоза через 25 минут. Признаков болевого шока не обнаруживали. Посттравматический период проходил без осложнений. Ампутированную грудную конечность погружали в 9%-й раствор нейтрального формалина, далее ее поместили в 5%-й водный раствор азотной кислоты для декальцинации. Декальцинация продолжалась в течение 10 суток с ежедневной сменой раствора. Затем препараты перекладывали в 96%-й спирт на сутки для избежания набухания волокнистых структур, после чего тщательно промывали в течение двух суток в проточной воде [3]. Далее на криотомном микротоме изготавливали срезы толщиной 10 мкм, монтировали на предметных стеклах при помощи смеси состоящей из яичного белка и глицерина в соотношении 1:1. Препараты окрашивали гематоксилином и эозином, Суданом черным, Суданом-3 и по Маллори [4].

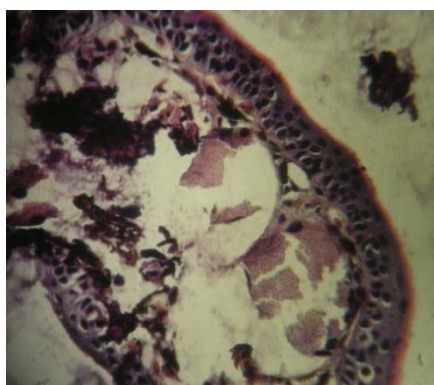
Окрашенные препараты просматривали под бинокулярным микроскопом Микромед-5 и производили микрофотосъемку камерой CanonPC1201.

При гистологическом исследовании ампутированной кисти тритона различимы слои кожи и хрящи пясти и пальцев. Кожа представлена слабоороговевшим эпидермисом из 3–4 слоев эпидермиоцитов, часть из которых находится на различных стадиях митоза (про-, ана- и метафаза). Интерфазные клетки округло-овальной формы с крупными гиперхромными ядрами. В одних клетках цитоплазма не окрашена, в других имеет оксифильную окраску различной интенсивности. Ядра овально-вытянутой формы, гиперхромные, без ядрышек. Ближе к поверхности эпидермиса, на уровне 4-го ряда от базальной мембраны, ядра становятся уплощенными, цитоплазма прокрашивается интенсивней. Роговой слой эпидермиса узкий, цитолемма клетки окрашена ярко-оксифильно (резко отличается от ростковой зоны), что по структуре аналогично блестящему слою эпидермиса млекопитающих. Протоков желёз не выявлено. Под эпидермисом располагается слой дермы, представленной узкой полоской (около двух объемов эпидермиса) рыхлой соединительной ткани, содержащей единичные фибробласты, гистиоциты, клетки крови (эритроциты, лимфоциты и др.). Подкожная клетчатка не развита, а рыхлая соединительная ткань дермы плавно переходит в надхрящницу пястных костей и пальцев. Надхрящница представлена единичными хондроцитами и хондромукоидом. Основу кости пясти и пальцев составляет гиалиновый хрящ. Изогенные группы хондроцитов состоят из 2–4 клеток и занимают большую часть гистологического среза. Хондроциты содержат белую или слабооксифильную цитоплазму, ее объем примерно равен объёму ядра; ядро округлое гиперхромное, располагается чаще в центре клетки. Ближе к центру хряща ядра уплощаются и сдвигаются к цитолемме хондроцитов. Хондромукоид гомогенен, окрашен базофильно, волокон не содержит. В центре кости пальцев расположены участки пластинчатой костной ткани из сформировавшихся костных пластинок. На границе эпидермиса и дермы обнаруживали скопление пигментных клеток темно-зелёного цвета, содержащее мелкую густорасположенную зернистость (рис. 1).

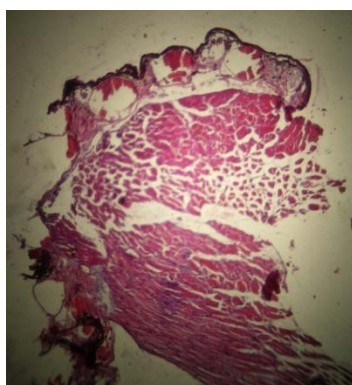
На гистологическом препарате поперечного среза плеча тритона на уровне 2–3 мм дистальнее плечевого сустава различают слои кожи, мышцы и костной ткани (рис. 2).

Кожа в области плеча представлена 5–6 слоями клеток эпидермиса с ярко оксифильной цитоплазмой, без пустот, ядра овальные, слегка сплюснутой формы. Роговой слой отделен от эпидермиса – признак линьки. В дерме хорошо развиты пигментные клетки, образующие темный тяж под слоем эпидермиса. Под эпидермисом располагаются секреторные отделы желёз. Экзокриноциты призматической формы, ядра расположены базально и ориентированы вдоль длинной оси клетки, цитоплазма пеннистая (гранулы секрета с признаками экзокринной секреции). Подкожная клетчатка не развита.

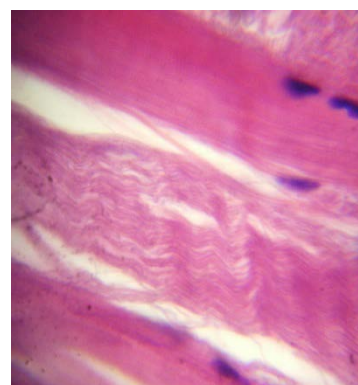
Под кожей лежат продольно расположенные пучки мышечных волокон с поперечно-полосатой исчерченностью. Ядра с зернистым хроматином палочковидной формы расположены под сарколеммой. Между пучками поперечно-полосатой мышечной ткани находятся скопления коллагеновых волокон (рис. 3). На поперечном срезе пучки мышц образуют поля Паппенгейма, ограниченные друг от друга прослойками перимизия, представленные рыхлой соединительной тканью и содержащие фибробласты и пигментные клетки.



*Рис. 1. Срез пальца тритона. Окраска: гематоксилин-эозин, об. 10x*



*Рис. 2. Поперечный срез в области плечевой кости. Окраска: гематоксилин-эозин, об. 10x*



*Рис. 3. Волокна скелетных мышц (а) и коллагеновых волокон (б). Окраска: гематоксилин-эозин, об. 40x*

После ампутации грудной конечности в зоне резекции на 1–5-е сутки видимых макроскопических изменений не наблюдалось. В последующем наблюдали постепенное формирование пальцевидного выроста, который к 25-м суткам достиг в длину 0,3 см, без кожного покрова, розового цвета (рис. 4).

К 45-м суткам вырост (культя) достиг в длину 1,0 см, был покрыт кожей в области плечевого сустава в виде чулка. На свободном (дистальном) крае культы просматривались зачатки пальцев (рис. 5).

На 85-е сутки вновь отросшая конечность полностью покрылась кожей и достигла идентичных размеров и функциональных способностей, сходных с интактной конечностью (рис. 6).



*Рис. 4. 25-й день после ампутации грудной конечности*



*Рис. 5. 45-й день после ампутации*



*Рис. 6. 85-й день после ампутации*

При микроструктурном исследовании продольного среза культы на 45-е сутки после резекции установили, что она содержит ярко базофильные участки хрящевой ткани. При окраске по Маллори выявляются элементы соединительной и мышечной ткани.

Пучки мышц видны вокруг зачатка гиалинового хряща. В проксимальном участке хряща хондробласты расположены тяжами и идут в поперечном направлении, в каждом тяже содержится от 13 до 15 хондробластов, их ядра округлой формы, расположены в центре или смещены к периферии клетки. Цитоплазма в большей части хондробластов не окрашена, но вокруг ядра сохранен участок протоплазмы. В центральном участке хряща, соответствующего локтевому суставу, тяжи клеток состоят из более мелких хондробластов. Цитоплазма окрашивается полностью, видны фигуры митоза. Ядерно-цитоплазматическое отношение составляет примерно единицу, что свидетельствует о том, что это бластные клетки. Их ядра полихроматичны – окрашиваются в разные оттенки от голубого до красно-коричневого (рис. 7). Пространство между тяжами клеток заполнено полиморфным веществом. В дистальном участке культы, соответствующей костям предплечья, располагаются плотно прилегающие друг к другу хондроциты. Ядра в них мелкие, уступают объему цитоплазмы, ядерно-цитоплазматическое соотношение меньше единицы. Четко выраженных тяжей нет. Количество клеток в поперечнике от 5 до 6. Межклеточное аморфное вещество практически отсутствует, что напоминает более зрелый хрящ. В области запястья, между костями предплечья и костями пясти видно пространство, заполненное недифференцируемой клеточной массой. В области пястных костей тяжи хрящевой ткани идут продольно, между ними имеется пространство, заполненное аморфным веществом, клетки мелкие, ядерно-плазматическое отношение равно единице. В области дистальных отделов пястных костей находятся крупные клетки с крупными базофильно окрашенными ядрами и равномерно прокрашенной цитоплазмой. На некотором расстоянии от дистальных отделов пястных костей виден автономный участок из молодых бластных клеток, расположенных по спирали, ядра крупные. Между дистальным отделом и этим участком расположены соединительнотканые волокна, которые связывают кости пясти с костями пальцев. Вокруг хрящевой пластины видны продольно ориентированные поперечно-полосатые скелетные мышечные волокна. Между ними хорошо развит эндомизий. По ходу мышечных волокон видны участки, окрашенные базофильно с красно-рыжими вставками, что свидетельствует об интенсивном синтезе миоглобина в этой зоне. Мышечные волокна расположены рыхло, переплетаются между собой, напоминая сеть. По ходу волокон видны узлы сокращения и поперечно-полосатая исчерченность мышечного волокна (рис. 9). В дистальном отделе поперечно-полосатой исчерченности нет. В области локтевого сустава поперечно-

полосатая исчерченность мышечных волокон не сформирована и не заполнена миоглобином. В формирующейся мышечной ткани много пигментных включений в виде черных гранул (рис. 8).

Таким образом, в процессе регенерации направление роста кости идет от эпифизов к диафизу за счет формирования соединительной ткани и хондроцитов, а мышечные клетки регенерируют позже.

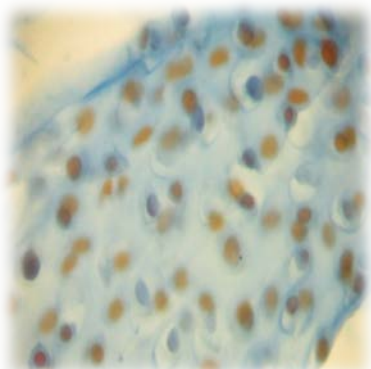


Рис. 7. Эффект полихромазии в ядрах. Окраска: по Маллори, об. 90х

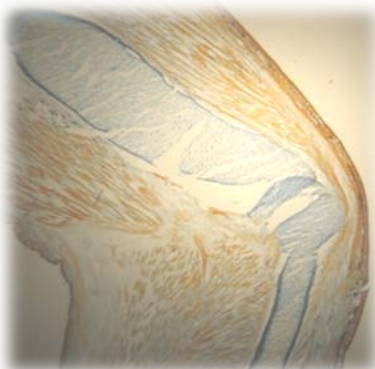


Рис. 8. Регенерирующая грудная конечность тритона. Окраска: по Маллори, об. 10х

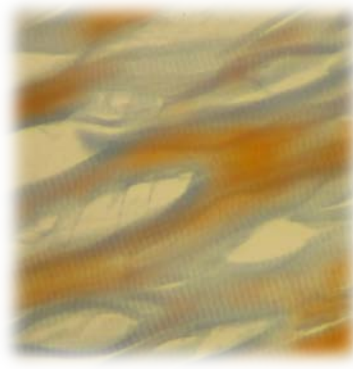


Рис. 9. Поперечно-полосатая исчерченность в формирующихся мышечных волокнах. Окраска: по Маллори, об. 90х

При окрашивании среза культы гематоксилином и эозином в проксимальной зоне просматриваются фрагменты плечевой кости и зачатки лучевой и локтевой костей предплечья. В области суставной поверхности (эпифиза) расположены более молодые клетки зоны роста хряща с фигурами митоза (рис. 10). Культа заполнена слабодифференцируемыми клетками. Ближе к поверхности кожи видны пучки поперечно-полосатых мышц. Культа на всем протяжении покрыта кожей со слабо развитым эпителием, имеется зона пигментных клеток.

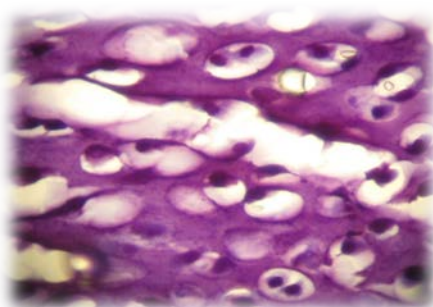


Рис. 10. Зона роста хряща регенерирующей грудной конечности тритона. Окраска: гематоксилин-эозин, об. 90х

На срезах, окрашенных Суданом В, в центре формирования хрящевой пластины отчетливо просматриваются клетки с протоплазмой грязно-серого цвета и с малиновыми ядрами. Также встречаются непрокрашенные зоны, что свидетельствует о зрелости хондроцитов, так как вследствие накопления кальция в аморфном веществе суставной хрящевой ткани обмен веществ в хондроцитах затрудняется, и они теряют способность к делению и окрашиванию.

На срезах, окрашенных Суданом-3, на самом краю хрящевой ткани видны фибробласты – клетки палочковидной формы с очень узким ободком цитоплазмы и интенсивно базофильным ядром с матриксом, повышенной плотности. Эти клетки ориентированы продольно и формируют вокруг себя аморфное вещество. В большом количестве встречаются двуядерные клетки с зонами эндомитоза и кариокинеза.

**Выводы.** После ампутации грудной конечности тритона происходит ее полное восстановление путем регенерации тканей и формирования культы. К 25-м суткам после резекции размер культы составляет 3 мм,

к 45-м – 1,5 см, а к 85-м суткам из культи формируется грудная конечность, состоящая из плечевых костей, локтевого сустава, костей предплечья, запястья, пястья и 4 пальцев, полностью покрытых кожей, достигая морфофункциональной идентичности с интактной конечностью.

Формирование культи сопровождается пролиферацией клеток фибробластического ряда, ориентированных по ходу роста культи, и образованием вокруг них матрицы из светооптически плотной ткани. Глубже формируется зона хрящевой ткани с участками роста суставных поверхностей и слабодифференцируемых мышечных волокон с широкими межволокнустыми пространствами. Ближе к завершению регенерации формируются ткани эпидермиса и дермы кожи.

### Литература

1. Брем А. Рыбы и амфибии. – М.: АСТ, 2000. – 416 с.
2. Брокгауз Ф.А., Ефрон И.А. Энциклопедический словарь. – СПб., 1890.
3. Ролдугина Н.П., Никитченко В.Е., Яглов В.Е. Практикум по цитологии, гистологии и эмбриологии. – М.: Колос, 2001. – 263 с.
4. Судебно-медицинская библиотека. Подготовка костного материала для гистологического исследования. – URL: <http://www.forens-med.ru/book.php?id=520> (дата обращения: 26.03.14).



УДК 619:636.2:616.15

А.П. Лашин, Н.П. Симонова, Н.В. Симонова

### ВЛИЯНИЕ НАСТОЕВ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ НА БИОХИМИЧЕСКИЙ СТАТУС НОВОРОЖДЕННЫХ ТЕЛЯТ

*Исследовано влияние настоев лекарственных растений (листья крапивы, березы, подорожника) на биохимический статус новорожденных телят. Установлено более выраженное положительное влияние на динамику гемоглобина, эритроцитов, общего белка, иммуноглобулинов, фагоцитарной, лизоцимной и бактерицидной активности сыворотки крови телят в условиях введения настоев листьев крапивы и подорожника.*

**Ключевые слова:** настои листьев крапивы, березы, подорожника, эритроциты, гемоглобин, лейкоциты, биохимический статус.

A.P. Lashin, N.P. Simonova, N.V. Simonova

### THE MEDICINAL PLANT INFUSION INFLUENCE ON THE NEWBORN CALF BIOCHEMICAL STATUS

*The influence of the medicinal plant infusion (nettle, birch, plantain leaves) on the newborn calf biochemical status is researched. The more pronounced positive impact on the dynamics of hemoglobin, erythrocytes, total protein, immunoglobulin, phagocytic, lysozyme and bactericidal activity of the calf blood serum in the conditions of the nettle and plantain leaf infusion introduction is established.*

**Key words:** nettle, birch, plantain, leaf infusion, erythrocytes, hemoglobin, leukocytes, biochemical status.

---

**Введение.** Большая роль в прогнозировании и диагностике желудочно-кишечных болезней у телят должна быть отведена оценке гематологических показателей, которые достаточно полно отражают напряженность обменных процессов в организме животного [2]. Исследование биохимического состава крови является важным показателем состояния здоровья животных, позволяет констатировать преморбидные состо-