

4. Anthracyclines: molecular advances and pharmacologic developments in antitumor activity and cardiotoxicity / G. Minotti [et al.] // Pharmacol. Rev. – 2004. – Vol. 56. – P. 185–229.
5. Charras G.T. A short history of blebbing // J. Microsc. – 2008. – Vol. 231. – № 3. – P. 466–478.
6. Different prooxidant levels stimulate growth, trigger apoptosis, or produce necrosis of insulin-secreting RINm5F cells. The role of intracellular polyamines / J.M. Dypbukt [et al.] // J. Biol. Chem. – 1994. – Vol. 269. – № 48. – P. 30553–30560.
7. Doonan F., Cotter T.G. Morphological assessment of apoptosis // Methods. – 2008. – Vol. 44. – № 3. – P. 200–204.
8. Gough N.R. When repair is suicide // Sci. Signal. – 2009. – Vol. 2. – № 85. – P. 283.
9. Hagmann J., Burger M.M., Dagan D. Regulation of plasma membrane blebbing by the cytoskeleton // J. Cell Biochem. – 1999. – Vol. 73. – № 4. – P. 488–499.
10. Involvement of p38 in apoptosis-associated membrane blebbing and nuclear condensation / R.G. Deschesnes [et al.] // Mol. Biol. Cell. – 2001. – Vol. 12. – № 6. – P. 1569–1582.
11. Lane J.D., Allan V.J., Woodman P.G. Active relocation of chromatin and endoplasmic reticulum into blebs in late apoptotic cells // J. Cell Sci. – 2005. – Vol. 118. – P. 4059–4071.
12. Membrane blebbing during apoptosis results from caspase-mediated activation of ROCK I / M.L. Coleman [et al.] // Nat. Cell Biol. – 2001. – Vol. 3. – № 4. – P. 339–345.
13. Shiratsuchi A., Mori T., Nakanishi Y. Independence of plasma membrane blebbing from other biochemical and biological characteristics of apoptotic cells // J. Biochem. – 2002. – Vol. 132. – P. 381–386.



УДК 619:616-091.8:636.52/58

Е.Г. Турицына

МОРФОЛОГИЯ ОРГАНОВ ИММУНОГЕНЕЗА КУР ПРИ ЭКСТРЕМАЛЬНЫХ СОСТОЯНИЯХ НЕИНФЕКЦИОННОЙ ЭТИОЛОГИИ

Изучена морфологическая характеристика органов иммунной системы кур при экстремальных состояниях неинфекционной этиологии – транспортном и низкотемпературном стрессе, механической травме конечностей, алиментарном истощении.

Установлено развитие акцидентальной инволюции в тимусе, степень которой зависит от характера экстремального фактора и длительности его воздействия. В фабрициевой бурсе и селезенке определена преждевременная инволюция лимфоидных структур.

Ключевые слова: куры, морфология, иммуногенез, тимус, фабрициева Bursa, селезенка, экстремальные состояния.

Е.Г. Turitsyna

HENS IMMUNOGENESIS ORGANS MORPHOLOGY IN EXTREME CONDITIONS OF NON-INFECTIOUS AETIOLOGY

Henimmune organs morphological characteristics in extreme conditions of non-infectious aetiology – transport and low-temperature stress, limbs mechanical trauma, alimentary cachexia is studied in the article. The development of thymus accidental involution which degree depends on the extreme factor character and its influence duration is established. Lymphoid structures premature involution in bursa of Fabricius and spleen is defined.

Key words: hens, morphology, immunogenesis, thymus, bursa of Fabricius, spleen, extreme conditions.

В условиях промышленных птицеводческих предприятий организм птиц нередко находится в экстремальном состоянии, обусловленном факторами инфекционной и неинфекционной этиологии, что ведет к развитию дисбаланса иммунной системы птиц. Экстремальные состояния возникают, прежде всего, при нарушениях технологической дисциплины на всех этапах производственного цикла, начиная с процессов инкубации [3, 4, 7].

Истощение лимфоидной ткани при различных видах хронических стрессов у лабораторных животных и человека отмечено многими авторами [2, 5, 8]. В то же время сведения о влиянии стрессовых факторов неинфекционной этиологии на иммунную систему кур противоречивы и требуют уточнения, так как большин-

ством авторов любые отклонения в структуре органов иммуногенеза птиц рассматриваются как проявление иммунодефицитного состояния, в то время как они могут свидетельствовать лишь о функциональном напряжении иммунной системы.

Целью настоящей работы явилось изучение морфологической характеристики органов иммуногенеза кур при экстремальных состояниях неинфекционной этиологии – транспортном и низкотемпературном стрессе, сочетанной механической травме конечностей, гипотрофии на фоне алиментарного истощения.

Материал и методы исследования. Исследования проведены на кафедре анатомии и гистологии животных Института прикладной биотехнологии и ветеринарной медицины Красноярского государственного аграрного университета в рамках госбюджетной научно-исследовательской тематики.

Объектом исследования служил вынужденно убитый и павший молодой кур при транспортном и низкотемпературном стрессе (7 гол.); сочетанной механической травме ног и крыльев (5 голов); гипотрофии, обусловленной алиментарным истощением (6 гол.). Контролем служили клинически здоровые цыплята аналогичного возраста (по 2–3 гол.), не подвергавшиеся экстремальным воздействиям. Птица поступала из ОАО «Птицефабрика Заря» Емельяновского района Красноярского края.

Материалом для морфологических исследований служили тимус, фабрициева бурса и селезенка. Готовые парафиновые срезы толщиной 5–7 мкм окрашивали гематоксилином и эозином, на соединительную ткань по Маллори, полисахаридные соединения выявляли по Крейбергу [1].

Морфометрические исследования включали определение абсолютной и относительной массы органов. В тимусе измеряли соотношение коркового и мозгового вещества (индекс коры); плотность лимфоцитов в условном поле зрения коры и медуллы; количество митозов в верхней зоне коры на 1000 зарегистрированных клеток (митотический индекс); количество и размеры телец Гассала. В фабрициевой бурсе определяли диаметр и площадь лимфатических фолликулов, клеточный состав интерфолликулярной соединительной ткани. На поперечном срезе селезенки подсчитывали количество и размеры лимфатических фолликулов, клеточный состав красной пульпы. Для морфометрических исследований использовали окуляр-микрометр МОВ-1-15х и окулярную сетку Г.Г. Автандилова. Микрофотографирование проводили на микроскопе МС 100 (Micros, Austria) фотокамерой Canon PowerShot A620 при увеличениях объектива 10, 40 и 100. Достоверность полученных данных оценивали с использованием *t*-критерия Стьюдента.

Результаты исследования и их обсуждение. Развитие экстремального состояния при транспортном и низкотемпературном стрессе связано с неспособностью цыплят первых дней жизни к самостоятельному поддержанию постоянной температуры тела и с проблемой равномерного прогрева помещения до оптимальной рекомендуемой температуры 32°C на всех уровнях клеточных батарей в холодное время года.

Абсолютная масса тимуса суточных цыплят после 6–8-часового пребывания в помещении с температурой 20–22°C находилась в нижних границах физиологической нормы и составила 103,3±5,20 мг; весовой индекс колебался от 1,95 до 3,14 ед., что на 20–26% ниже средних возрастных показателей интактной птицы (табл. 1).

При гистологическом исследовании установлено неравномерное сокращение ширины коркового слоя и снижение индекса коры до 0,99±0,03 ед. Плотность лимфоцитов коры составила 99,6±2,59, а в мозговом слое – 28,7±1,79 клеток в условном поле зрения. В одной дольке насчитывалось 4,14±0,49 тимических телец, что в 3 раза больше, чем у интактной птицы ($P \leq 0,05$).

Таблица 1

Показатели весового индекса тимуса цыплят при экстремальных состояниях неинфекционной этиологии

Этиологический фактор	Возраст, сутки	Кол-во гол.	Весовой индекс, усл. ед.		
			min	max	M±m
Транспортный и низкотемпературный стресс	0,5–1	7	1,95	3,14	2,42±0,63
Механическая травма конечностей	33–35	5	3,68	4,85	4,42±0,23
Алиментарное истощение	37–42	6	0,50	1,32	0,83±0,13

При клеточном способе содержания у цыплят раннего возраста нередко встречаются механические травмы конечностей. Структура органов иммуногенеза изучена у пяти цыплят 33–35-суточного возраста кросса «Хайсекс уайт» с сочетанными механическими травмами конечностей, продолжительность болезни составляла от трех до шести суток.

У всех травмированных цыплят живая масса тела была на 32% меньше показателей здоровой птицы. Абсолютная масса тимуса в посттравматическом периоде сократилась на 60% относительно показателей здоровой птицы и составила $982,2 \pm 82,91$ мг. Весовой индекс ниже, чем в контроле на 7% (рис. 1).



Рис. 1. Уменьшение долек тимуса при сочетанной механической травме конечностей: 1 – здоровая; 2 – больная птица. Возраст 33–35 суток

Морфологические изменения в тимусе трех больных цыплят характеризовались умеренным сокращением коркового вещества и расширением мозговой зоны. Индекс коры (ИК) составил $1,06 \pm 0,05$ (рис. 2). Несмотря на сокращение корковой зоны, пролиферативная активность лимфоцитов находилась на высоком уровне, и митотический индекс достиг $3,75 \pm 0,39$. Содержание телец Гассалья в некоторых дольках выросло до 6–8. Мозговая зона светлая, рыхло заполнена клетками, хорошо видны скопления эпителиоцитов, секреция кислых гликозаминогликанов (ГАГ) повышенная.

В двух случаях в тимусе наблюдалось резкое сокращение коры, вплоть до ее полного исчезновения в отдельных участках. ИК сократился до $0,82 \pm 0,17$. Мозговая зона запустевшая, количество тимических телец увеличено до 6–12 в одной дольке, на месте эпителиоцитов сформированы кистозные полости.

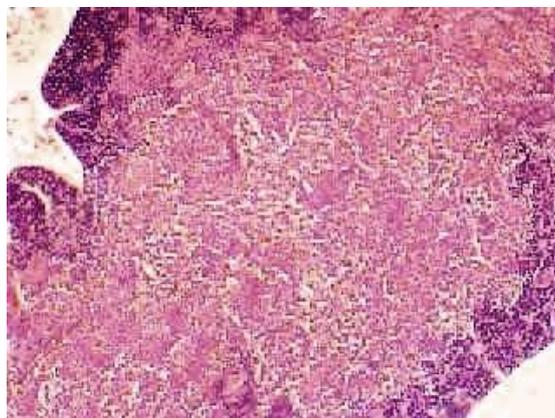


Рис. 2. Тимус. Истончение коркового вещества и расширение мозговой зоны долек при сочетанной механической травме конечностей (II стадия акцидентальной инволюции). Возраст 33–35 суток. Гематоксилин и эозин. Ув. 100

Выраженные изменения гистоархитектоники тимуса обнаружены при гипотрофии, обусловленной алиментарным истощением продолжительностью около двух недель. Для изучения влияния длительного голодания на органы иммунной системы было отобрано шесть цыплят 37–42-суточного возраста со значительными отклонениями живой массы от возрастных показателей.

Из шести отобранных птиц два цыпленка имели живую массу 240 и 230 г, что ниже показателей стандарта породы на 40–45%. При этом абсолютная масса тимуса была меньше показателей здоровой птицы на 37 и 51%, а весовой индекс – на 30 и 45% соответственно.

У четырех 42-суточных цыплят живая масса составила $130,8 \pm 17,1$ г, в то время как по стандарту породы она должна быть в данном возрасте не менее 480 г, т.е. в 3,7 раза больше ($P \leq 0,01$). На фоне продол-

жительного голодания абсолютная масса тимуса сократилась до $99,3 \pm 23,3$ мг, что в 19–36 раз меньше средних возрастных показателей ($P \leq 0,001$). Весовой индекс тимуса почти в 6 раз меньше, чем у птицы со стандартной массой тела и в 4,0–4,5 раза меньше, чем у травмированных цыплят (см. табл. 1).

При вскрытии обнаружены мелкие дольки тимуса, плотной консистенции, серого цвета, окруженные сухой подкожной клетчаткой. В двух случаях в дольках обнаружено снижение ИК до $0,66 \pm 0,07$ ед., корковая зона рыхло заполнена мелкими лимфоцитами, их плотность в условном поле зрения коры составила $59,9 \pm 3,28$, медуллы – $23,9 \pm 1,96$ клеток.

Эпителиальные клетки в состоянии деструкции, их ядра бледные слабо контурированные. В местах локализации эпителиоцитов появились мелкие кистозные полости со слизистым содержимым или клеточным детритом внутри (рис. 3,А). Тельца Гассалья, как правило, многочисленные, их количество колебалось от 6 до 11 в одной дольке. Встречались крупные тельца в состоянии кератинизации (рис. 3,Б).

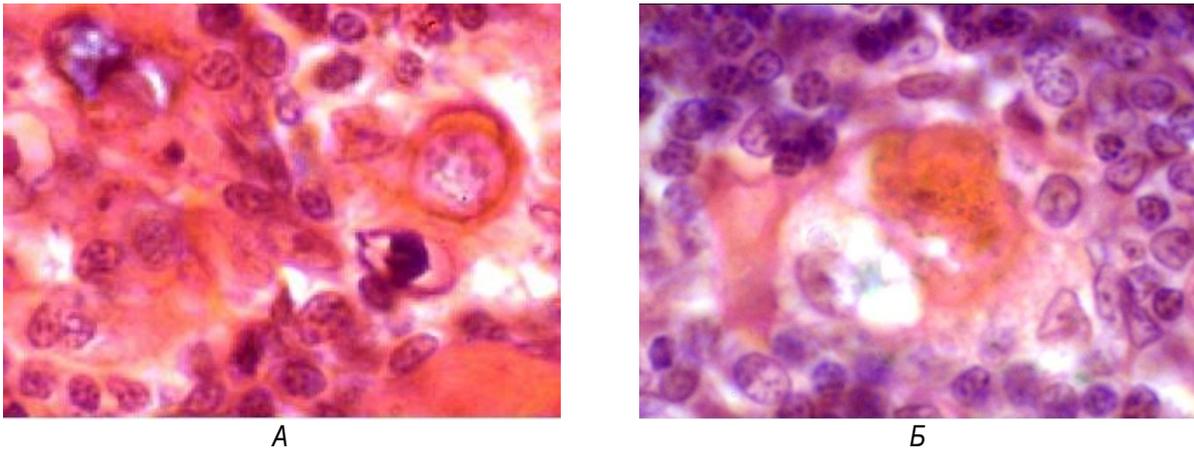


Рис. 3. Тимус: А – мелкие кистозные полости в мозговой зоне; Б – кератинизация тимического тельца при длительном голодании. III стадия акцидентальной инволюции. Возраст 35-40 суток. Гематоксилин-эозин. Ув. 100 (А), 1000 (Б)

В четырех случаях наблюдалась инверсия слоев, при которой плотность лимфоцитов на периферии долек меньше, чем в мозговом веществе. Проллиферативная активность лимфоцитов отсутствовала, фигуры митоза не обнаружены. Лимфоциты с плотными темными ядрами формировали в центре долек мелкие очаговые скопления. Плотность заполнения лимфоцитами коры составила $36,6 \pm 4,01$, мозговой зоны – $55,9 \pm 9,71$ клеток. Тельца Гассалья в большинстве долек отсутствовали, либо встречались единичные экземпляры в состоянии кератинизации или кистозного перерождения с клеточным детритом внутри полости. Подобная морфологическая картина характерна для IV и V стадии акцидентальной инволюции [6].

В отличие от тимуса, транспортный и низкотемпературный стресс, не оказывали существенного влияния на морфометрические параметры фабрициевой бursы. Абсолютная масса органа находилась в пределах средней возрастной нормы и составляла $43,9 \pm 3,30$ мг, весовой индекс – $1,13 \pm 0,08$, что было всего на 5% ниже средних показателей интактной птицы (табл. 2). Морфологических отличий от суточных цыплят, не находившихся в экстремальной стрессовой ситуации, в фабрициевой бурсе не обнаружено.

Таблица 2

Показатели весового индекса фабрициевой бursы цыплят при экстремальных состояниях неинфекционной этиологии

Этиологический фактор	Возраст, сутки	Кол-во гол.	Весовой индекс, усл. ед.		
			min.	max.	M±m
Транспортный и низкотемпературный стресс	0,5–1	7	0,94	1,39	$1,13 \pm 0,08$
Механическая травма конечностей	33–35	5	3,64	6,05	$4,50 \pm 0,06$
Гипотрофия при алиментарном истощении	37–42	6	0,80	1,50	$1,08 \pm 0,15$

При механической травме конечностей морфометрические показатели фабрициевой бursы находились в пределах физиологических границ: абсолютная масса колебалась от 720 до 1470 мг, весовой индекс – от 3,64 до 6,05 усл. ед. (табл. 2). Сочетанные травмы ног и крыльев продолжительностью от трех до шести суток не оказывали существенного влияния на линейные размеры и абсолютную массу фабрициевой бursы. На рисунке 4 представлены органы здорового и больного цыплят 30-35-суточного возраста.



Рис. 4. Фабрициева бурса при сочетанной травме конечностей: 1 – клинически здоровая; 2 – больная птица. Возраст 30–35 суток

Абсолютная масса органов составила 1,48 и 1,47 г у здоровой и травмированной птицы соответственно. У здоровой птицы бурса имела упругую консистенцию, у больной – орган воспаленный, дряблый, набухший, светло-серого цвета. Под микроскопом наблюдали отечность и разрыхление соединительнотканых волокон, их инфильтрацию лимфоцитами и эозинофильными гранулоцитами, повышенную секрецию кислых ГАГ клетками эпителиальной выстилки.

Гипотрофия на фоне алиментарного истощения вызывала значительные отклонения абсолютной и относительной массы и структурные изменения фабрициевой бursы. В двух случаях абсолютная масса составила 300 и 200 мг, что на 35–65% меньше нижних пределов физиологической нормы. У четырех цыплят абсолютная масса органа снижалась более, чем в 2,5 раза относительно здоровой птицы и составила 116–154 мг, орган приобретал удлинненную цилиндрическую форму и плотную консистенцию. Весовой индекс колебался от 0,80 до 1,50 ед. и в среднем составил $1,08 \pm 0,15$ ед. (табл. 2).

При морфологическом исследовании наблюдали инволюцию фабрициевой бursы, что проявлялось исчезновением лимфатических фолликулов, либо формированием на их месте очагов некроза и кист (рис. 5,А). Клетки выстилающего эпителия не секретировали кислые ГАГ (рис. 5,Б).

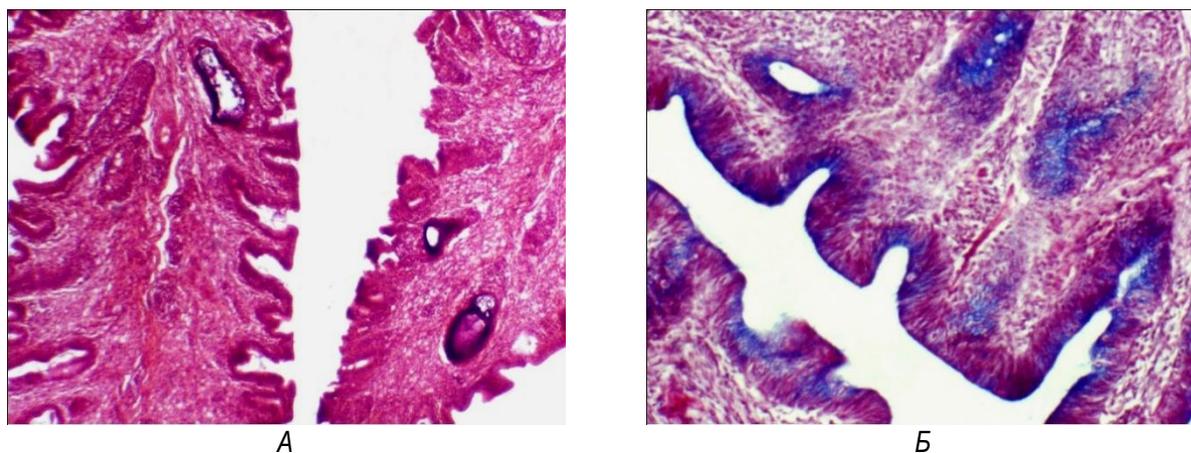


Рис. 5. Фабрициева бурса: А – отсутствие лимфатических фолликулов и кисты в складках; Б – отсутствие секреции кислых ГАГ эпителиальной выстилкой складок. Алиментарное истощение. Возраст 30–35 суток. Гематоксилин-эозин (А), окраска по Крейбергу (Б). Ув. 100 (А), 1000 (Б)

Транспортный и низкотемпературный стресс не оказали видимого влияния на морфометрические показатели селезенки суточных цыплят: абсолютная масса ($18,6 \pm 0,94$ мг) и весовой индекс ($0,48 \pm 0,02$ ед.) находились в пределах физиологической нормы и не имели достоверных отличий от показателей интактной птицы. Морфологических отличий также не выявлено.

У больных цыплят с сочетанными механическими травмами конечностей специфические изменения в селезенке отсутствовали. Абсолютная и относительная масса органа была ниже средних возрастных показателей 30-суточной птицы в 2,5–3 раза. При микроскопическом исследовании установлено запускание кровеносных сосудов, снижение относительного содержания эритроцитов в красной пульпе, умеренная макрофагальная реакция.

Гипотрофия, развивающаяся на фоне длительного алиментарного голодания птицы, приводила к сокращению абсолютной и относительной массы селезенки. У двух цыплят масса селезенки колебалась от 400 до 420 мг, весовой индекс составил 1,73–1,75 ед., что в 2–2,5 раза ниже показателей здоровой птицы. В четырех случаях масса селезенки снижалась в 8–10 раз относительно средних возрастных показателей ($P \leq 0,001$).

Гистологическое исследование выявило опустошение органа лимфоцитами, отсутствие оформленных лимфатических фолликулов. Периаартериальные лимфоидные скопления состояли из незначительного количества пикнотичных лимфоцитов, маргинальная зона практически не содержала клеток и приобретала дырчатый криброзный вид.

Выводы

1. При экстремальных состояниях неинфекционной этиологии в тимусе молодняка кур развиваются различные стадии акцидентальной инволюции: первые три стадии свидетельствуют о функциональном напряжении органа и развиваются при кратковременном транспортном и низкотемпературном стрессе и механических травмах конечностей, последние фазы появляются при гипотрофии на фоне длительного алиментарного истощения и характеризуются атрофией органа, что является морфологическим эквивалентом приобретенного иммунодефицита.

2. Транспортный и низкотемпературный стресс не оказывают заметного влияния на структуру фабрициевой бursы, механические травмы конечностей вызывают воспалительные процессы и незначительное опустошение лимфоидной ткани, в то время как алиментарное истощение ведет к развитию преждевременной инволюции и атрофии органа.

3. Морфологические изменения в селезенке при экстремальных состояниях неинфекционной этиологии не носят специфического характера, однако при длительном алиментарном голодании наблюдается истощение лимфоидной ткани органа.

Литература

1. Автандилов Г.Г. Основы патолого-анатомической практики. – М.: РМАПО, 1994. – С. 372–407.
2. Акцидентальная инволюция тимуса в растущем организме при воздействии различных видов стрессоров / М.Ю. Капитонова [и др.] // Морфология. – 2006. – № 6. – С. 56–61.
3. Болотников И.А., Михиева В.С., Олейник Е.К. Стресс и иммунитет у птиц. – Л.: Наука, 1983. – 118 с.
4. Кочиш И.И., Сидоренко Л.И., Щербатов В.И. Биология сельскохозяйственной птицы. – М.: КолосС, 2005. – 203 с.
5. Сапин М.Р., Никитюк Д.Б. Иммунная система, стресс и иммунодефицит. – М.: Джангар, 2000. – 184 с.
6. Турицына Е.Г. Критерии морфологической оценки иммунодефицитов птиц // Сиб. вестн. с.-х. науки. – 2009. – №5. – С. 73–77.
7. Influence of egg shell embryonic incubation temperature and broiler breeder flock age on posthatch growth performance and carcass characteristics / R. Hulet [et al.] // Poult. Sci. – 2007. – Vol. 86. – P. 408–412.
8. Padgett D.A., Glaser R. How stress influences the immune response // Trends Immunol. – 2003. – Vol. 24. – № 8. – P. 444–448.