

Генетический контроль и гистохимическая характеристика перестройки железы Гардера уток в период начала полового созревания

Л.Ю. Топурия, д.б.н., профессор, Г.М. Топурия, д.б.н., профессор, ФГБОУ ВО Оренбургский ГАУ, Д.А. Боков, н.с., ГБОУ ВПО ОрГМУ

Железа Гардера птиц – эпителиальный (лимфоэпителиальный) парный орган, расположенный в параорбите, дорзомедиально по отношению к

глазному яблоку [1, 2]. К важнейшим функциям железы Гардера относятся: участие в обмене порфирина, межполовая коммуникация животных (синтез феромонов), контроль циркадных ритмов, терморегуляция и некоторые другие. Наибольшее значение, по мнению ряда авторов, железа Гардера имеет как иммунореспондентный орган, являясь

источником большого количества плазматических клеток, вырабатывающих иммуноглобулины (IgA, IgM, IgG) [3–5]. В частности, доказано, что железа Гардера и её лимфоидная ткань являются важнейшими элементами В-иммунитета организма и играют значимую роль в модулировании иммунных реакций в системе сумки Фабрициуса – селезёнка – железа Гардера. При этом после инволюции бурсы существенно изменяются параметры функциональной морфологии Гардеровой железы, её лимфоидная ткань разрастается [6–8].

Несмотря на признание важнейшей роли железы Гардера в онтогенезе птиц, её главенствующего значения как органа, контролирующего адаптацию организма, а также иммуноответственного статуса, на сегодняшний день отсутствуют представления об источниках развития тканевых элементов органа, закономерностях морфогенеза и условиях регуляции её перестройки на этапах индивидуального развития.

Прежде всего заслуживает внимания проблема становления взаимоотношений лимфоидной и эпителиальной тканей, возникновения условий такой интеракции, а также конкретных гистогенетических процессах формирования необходимых функциональных иммуноrespondентных гистионов.

Возможное функциональное переключение органа в период наступления половой зрелости требует новых подходов к обоснованию изменения физиологических параметров иммунитета, в том числе его В-зависимых функциональных элементов.

Цель исследования – обосновать морфогенетический потенциал, а также условия достижения и реализации в индивидуальном развитии иммуноrespondентной роли железы Гардера после инволюции клоакальной сумки: установить механизмы и свойства трансформации тканевых элементов в связи с активностью конкретных гистогенетических процессов: пролиферации, дифференцировки, миграции, интеграции.

Материал и методы исследования. В репрезентативной группе (N=50) домашних бройлерных уток кросса Благоварский изучали реорганизацию В-иммунитета при возрастной инволюции сумки Фабрициуса. Возраст уток соответствовал периоду начала полового созревания – 120 сут. При этом осуществлялся забор клоакальной сумки и железы Гардера для гистологических и иммуноцитохимических исследований. В бурсе гистологически верифицировали факт инволюции. Критериями достижения функциональной несостоятельности сумки служили освобождение органа от иммунопоэтических гистионов (лимфоидных узелков) и их фиброзное замещение, а также атрофия складок слизистой оболочки, когда они становились истонченными и многочисленными [6, 7].

У животных с разным уровнем морфофункционального состояния клоакальной сумки анализировали морфодинамику железы Гардера. Для

гистологических исследований орган подвергли стандартной обработке. Серийные тотальные срезы окрашивали гематоксилином Майера и эозином.

Для выявления секреторного профиля эпителиальных клеток и его различий использовали гистохимический метод окраски перийодатом калия и реактивом Шиффа по Мак Манусу, что позволило поставить реакцию на нейтральные мукополисахариды.

Механизмы активных гистогенетических процессов изучали на основе оценки уровня экспрессии гена Src в различных типах эпителиальных клеток. Для этого использовали моноклональные антитела (c-Src(H-12) фирмы Santa Cruz Biotechnology Inc.) к белковым продуктам гена – фосфорилирующим тирозинкиназам. Иммуногистохимический набор предназначен для окрашивания парафиновых срезов. Система детекции пероксидазного выявления – ABC staining.

Результаты исследования. Паренхима железы Гардера уток образована сложными трубчато-альвеолярными железами, а также системой протоков различных уровней, в конце концов последовательно образующих главный проток (коллектор). При этом паренхима разделена на дольки, которые отграничены друг от друга тонкими прослойками соединительной ткани.

Паренхима гардеровой железы неоднородна. Различимы регионы с железами (концевыми отделами), характеризующимися тем или иным способом выведения секрета: апокриновым или голокриновым (рис. 1). В последних в концевых отделах не визуализируются отдельные клетки. Здесь обычно гомогенное содержимое. В апокриновых концевых отделах различимы призматические (цилиндрические) клетки (с базальным расположением ядер) в пределах однорядного эпителия, имеющего различную высоту. Это соответствует тому, что клетки находятся на разных этапах секреторного процесса и фазы выведения синтезированного продукта.

Концевые отделы желез окружены миоэпителиальными клетками.

Следует отметить, что на апикальной части эпителиоцитов имеются многочисленные микровыросты цитоплазмы. Кроме того, на поверхности эпителиального пласта обнаруживается большое количество ассоциированных с ним лимфоцитов. Таким образом, здесь образуются специальные гистионы локальных иммунных процессов.

После начала инволюции сумки Фабрициуса железа Гардера начинает интенсивно перестраиваться. В частности, концевые отделы, прилежащие к главному протоку, подвергаются деструкции. При этом железистый эпителий десквамирует, а строма подвергается гиперплазии.

Трансформация стромы заходит так далеко, что изменяется функция органа. Данный комплекс процессов выражается в изменении взаимоотно-

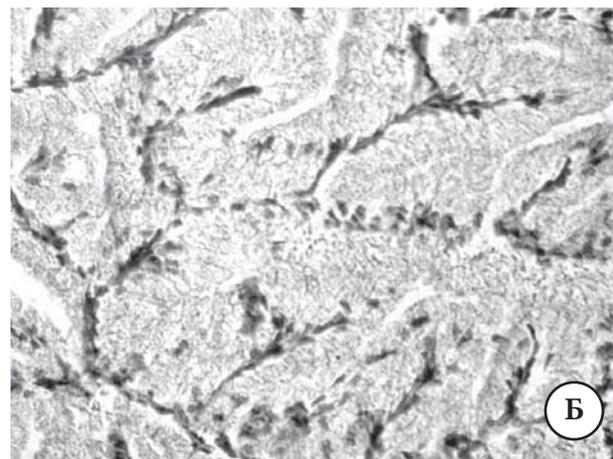
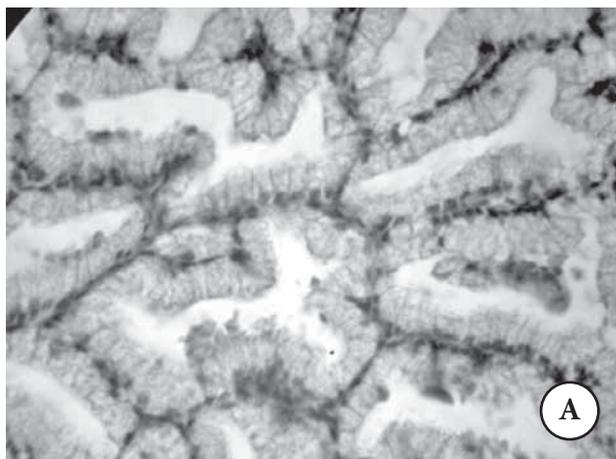


Рис. 1 – Концевые отделы желёз Гардеровой железы: А – с апокриновым способом выведения секрета; Б – с голокриновым способом выведения секрета. Окр.: гематоксилин Майера и эозин. Увел.: $\times 400$

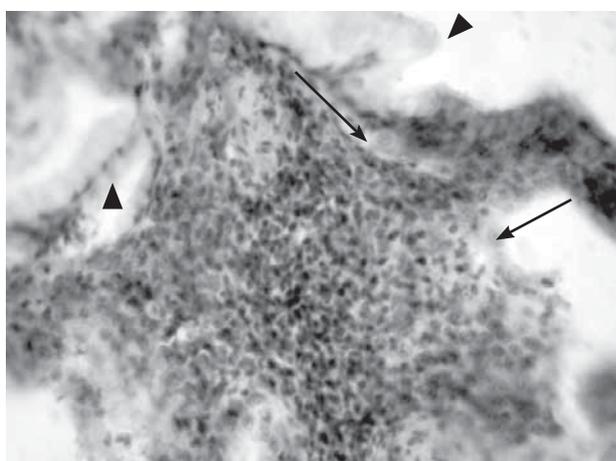


Рис. 2 – Десквамация железистого эпителия (треугольники) и разрастание нежелезистого (стрелками показаны недифференцированные эпителиоциты) в регионах скопления иммуноцитов. Окр.: гематоксилин Майера и эозин. Увел.: $\times 400$

шений тканевых элементов, в активизации гистогенетических процессов миграции, пролиферации и дифференцировки.

Главным событием в реорганизации стромы является миграция в интерстиций большого количества иммунокомпетентных клеток, принадлежащих самым разнообразным функциональным группам. В их составе преобладают плазматические клетки. Здесь происходит интенсивное деление лимфоцитов, что обуславливает формирование их значительных скоплений (рис. 2).

Под отторгаемым эпителием обнаруживаются недифференцированные эпителиальные клетки с эозинофильной цитоплазмой, высоким ядерно-цитоплазматическим отношением, крупным светлым ядром. Данные клетки принадлежат дифферону нежелезистых эпителиальных клеток, образующих пласт тёмных эпителиоцитов. Нежелезистый эпителий разрастается по поверхности регионов, интенсивно заселяемых иммуноцитами.

Есть все основания считать, что таким образом формируются В-инклюзивные гистионы железы Гардера – постоянные необходимые структуры, имеющие иммунопозитивное значение в пост-бурсальный период онтогенеза, на этапе половой зрелости.

Формирование В-инклюзивных гистионов происходит по периферии главного коллектора, куда они вдаются в виде кисточек (гроздьев).

Всю глубину гистологических изменений Гардеровой железы в период начала полового созревания демонстрируют гистохимические различия двух типов эпителиев: железистого и нежелезистого (рис. 3). При окраске на мукополисахариды (ШИК-реакция) нежелезистый эпителий интенсивно воспринимает краситель и характеризуется выраженной ШИК-позитивностью. При этом хорошо видно, что такой эпителий ограничивает гиперплазированные участки стромы, содержащие мигрировавшие сюда лимфоциты. Напротив, эпителий функционирующих концевых отделов желёз очевидно ШИК-негативный, что соответствует другому профилю секретируемых продуктов и, следовательно, другому направлению дифференцировки эпителиоцитов.

Принадлежность железистых и нежелезистых эпителиоцитов к различным эпителиальным дифферонам, что исключает возможность констатации последовательных функциональных состояний клеток одной и той же линии дифференцировки, подтверждается при анализе уровня экспрессии гена Src (рис. 4).

На приведённых микрофотографиях видно, что метка маркера в большом количестве накапливается в клетках нежелезистого эпителия в активно формируемых В-инклюзивных гистионах. Это свидетельствует об идущих здесь пластических процессах, связанных с пролиферацией и дифференцировкой клеток эпителия.

Вероятно, белковые продукты гена Src – фосфорилирующие тирозинкиназы – имеют значение

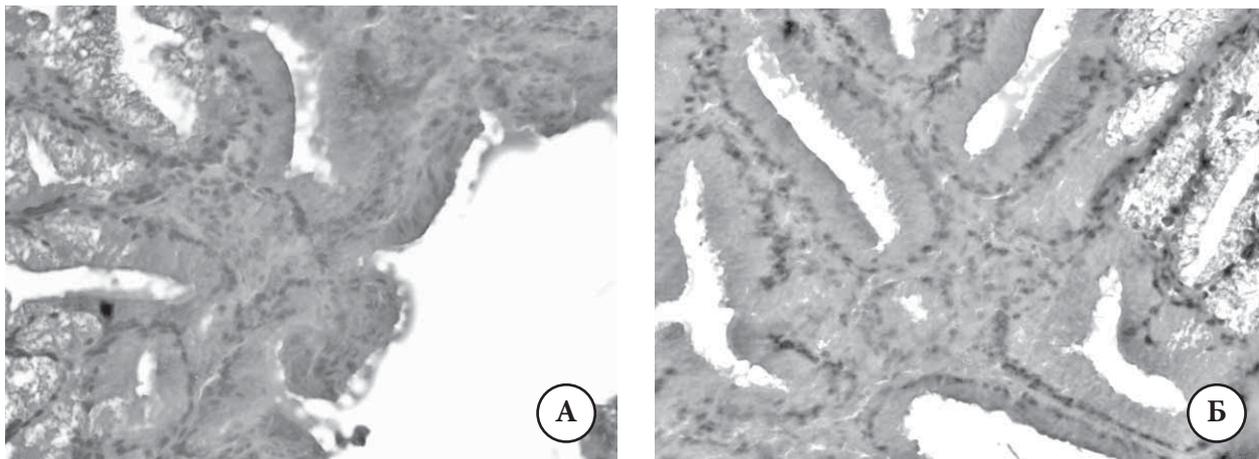


Рис. 3 – Резко ШИК-позитивный эпителий в регионах скопления иммуноцитов (стрелки). ШИК-негативный эпителий в железистых регионах (треугольники). А и Б – разные поля зрения. Окр.: ШИК-реакция. Увел.: $\times 100$

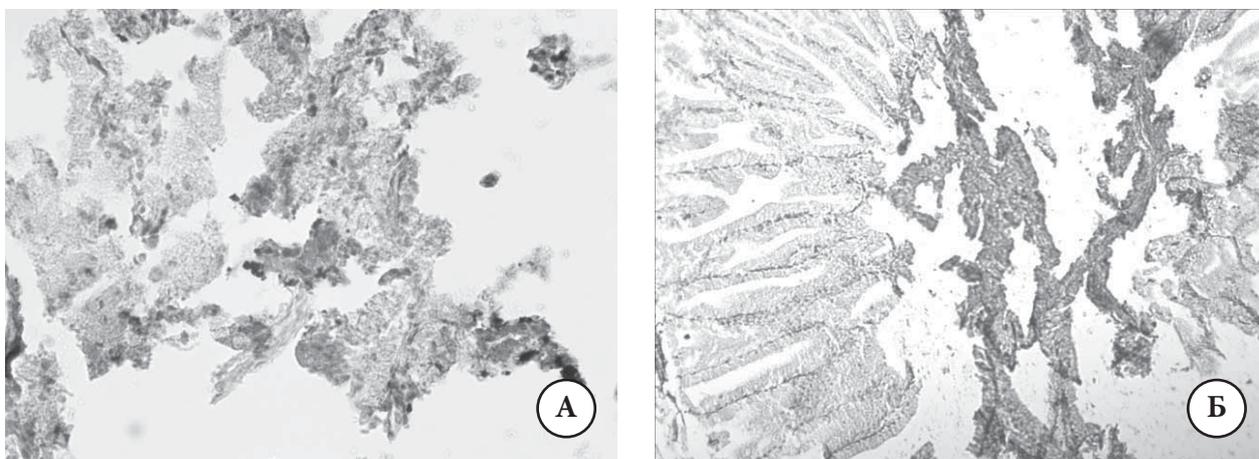


Рис. 4 – Иммунопозитивное окрашивание (экспрессия гена Src) эпителиоцитов регионов с накоплением иммунокомпетентных клеток (плазмоцитов). А и Б – разные поля зрения. Увел.: $\times 100$

в формировании системы цитокиновой регуляции гистогенетических процессов, так как модулируют рецепторы соответствующих цитокинов. Так как тёмные эпителиоциты имеют функциональную связь с лимфоцитами, сущностью которой является в том числе и выведение иммуноглобулинов на поверхность клеток, то становятся очевидными значение эпителиальной трансформации и её самостоятельный генетический контроль.

Выводы. Полученные данные позволяют сформулировать новые закономерности перестройки железы Гардера на этапе индивидуального развития, соответствующего началу полового созревания после инволюции клоакальной сумки. Кроме того, получены гистохимические и генетические доказательства пластических процессов, направленных на адаптацию органа к заселению иммунокомпетентными клетками и повышению иммунореспондентной роли железы в целом.

Активация гена Src происходит при индукции митотической активности клеток. При этом белковые продукты гена способствуют контролю прогрессивной дифференцировки клеток, их

интеграции в пласт, становлению цитоскелета. Выраженная экспрессия гена Src в регионах образования В-инклюзивных гистионов подтверждает ранее высказанные суждения [1, 2] о необходимости трансформации эпителиев. При этом очевидна метаплазия этой тканевой системы как механизм становления новых условий функциональной активности органа.

Трансформация эпителиев свидетельствует об их гетерогенном дифференном составе в Гардеровой железе, что позволяет констатировать конкретный морфогенетический потенциал органа при необходимом в онтогенезе переключении его функции. Гистохимическая характеристика неоднородности состава эпителиев в железе Гардера также убедительно продемонстрировала соотношение и значение процессов перестройки и их приспособительное значение.

Эпителий, взаимодействующий с лимфоидной тканью, обеспечивающий поддержание градиента выводимых иммуноглобулинов, по результатам настоящего исследования имеет следующие специфичные признаки: относительно мелкие

тёмные призматические клетки с центральным расположением ядер, выраженную положительную реакцию на мукополисахариды, а также иммунопозитивность к антителам против белковых продуктов гена Src.

Таким образом, весь комплекс фактических данных, полученных в настоящем исследовании, определяет иммунореспондентную роль железы Гардера в постбурсальный период онтогенеза, а также значение конкретных морфогенетических механизмов достижения эффективных иммунопатических параметров.

Литература

1. Селезнёв С.Б., Кротова Е.А., Бурыкина Л.П. Морфологическое исследование иммунной системы перепелов // Морфология. 2016. № 3. С. 184.
2. Топурия Г.М. Ветеринарно-санитарная оценка продуктов убоя утят при применении хитозана / Г.М. Топурия, Л.Ю. Топурия, В.П. Корелин, М.Б. Ребезов // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. 2014. № 3 (47). С. 95–97.
3. Перевозникова Ю.Е., Мустафина Л.Р. Сравнительная морфология желёз Гардера у млекопитающих // Морфология. 2016. № 3. С. 159–160.
4. Payne A.P. The harderian gland: a tercentennial review // Journal of anatomy. 1994. Vol. 185. P. 1–49.
5. Топурия Л.Ю., Топурия Г.М. Иммунологические методы исследований в ветеринарной медицине: учебно-методическое пособие. Оренбург, 2006. С. 7–12.
6. Боков Д.А., Антимоновна Л.С. Формирование В-функциональных зон в лимфоидной ткани при инволюции сумки Фабрициуса в системе бурса – селезёнка – железа Гардера // Морфология. 2013. № 5. С. 65.
7. Боков Д.А. Формирование микроокружения и перестройка лимфоидной ткани в системе сумка Фабрициуса – селезёнка – железа Гардера в определении структурных свойств адаптивного диапазона модулирования В-иммунитета / Д.А. Боков, А.А. Стадников, Е.А. Дьяконова, Л.С. Антимоновна, Л.Ю. Топурия // Ветеринария. 2013. № 2. С. 49–52.
8. Топурия Г.М., Топурия Л.Ю. Иммунокоррекция в ветеринарной медицине // Международный научно-исследовательский журнал. 2014. № 12-2 (31). С. 106–110.