

Заключение. Таким образом, плазмидная ДНК с геном *vegf* в составе ген-активированного костного графта обеспечила индукцию репаративного остеогенеза. По всей видимости, терапевтический белок VEGF, пролонгированно секретировавшийся трансфицированными клетками, обеспечил активизацию ангиогенеза – критически значимого остеоиндуцирующего фактора, а также мог оказать прямое влияние на клетки остеобластического дифферона [6], что в совокупности привело к выраженной индукции репаративного остеогенеза.

ЛИТЕРАТУРА

1. Деев Р. В., Дробышев А. Ю., Бозо И. Я. и др. Создание и оценка биологического действия ген-активированного остеопластического материала, несущего ген VEGF человека // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. 2013. Т. 8. № 3. С. 78–85.
2. Deev R., Drobyshev A., Bozo I. et al. Angiogenic non-viral gene transfer: from ischemia treatment to bone defects repair // J. Tissue Eng. Regen. Med. 2014. Vol. 8. Suppl. 1. P. 64–65.
3. Evans C. H. Gene delivery to bone // Adv. Drug Deliv. Rev. 2012. Vol. 64. № 12. P. 1331–1340.
4. Feichtinger G. A., Hofmann A. T., Slezak P. et al. Sonoporation increases therapeutic efficacy of inducible and constitutive BMP2/7 in vivo gene delivery // Hum. Gene Ther. Methods. 2014. Vol. 25. № 1. P. 57–71.
5. Keeney M., Beucken J. J. van den, Kraan P. M. van der et al. The ability of a collagen/calcium phosphate scaffold to act as its own vector for gene delivery and to promote bone formation via transfection with VEGF(165) // Biomaterials. 2010. Vol. 31. № 10. P. 2893–2902.
6. Yang Y. Q., Tan Y. Y., Wong R. et al. The role of vascular endothelial growth factor in ossification // Int. J. Oral Sci. 2012. Vol. 4. № 2. P. 64–68.

Боков Д. А.

ИНВОЛЮЦИЯ СУМКИ ФАБРИЦИУСА КАК СТРУКТУРНЫЙ ФАКТОР МОДУЛИРОВАНИЯ ИММУНОРЕСПОНДЕНТНОГО СТАТУСА ЖЕЛЕЗЫ ГАРДЕРА ПТИЦ В ПЕРИОД ПОЛОВОЗРЕЛОСТИ

*Научно-исследовательская лаборатория «Морфогенез и регенерация клеток и тканей»
(заведующий – проф. А. А. Стадников) Оренбургской государственной медицинской
академии, Оренбург, e-mail: cells-tissue.bokov2012@yandex.ru*

Введение. Становление новых регуляторных условий В-иммунитета на различных этапах онтогенеза птиц связано с эффективным диапазоном иммунного гомеостаза, достижение которого потенцируется адаптацией системы сумка Фабрициуса – селезёнка – железа Гардера [1–3, 5–6, 8, 15].

В период наступления половозрелости происходит инволюция бурсы [2–3]. При этом индуцируется пространственная реорганизация лимфоидной ткани [8, 13–14]. В частности, увеличивается объёмная плотность скоплений иммуноцитов в строме железы третьего века. Значение данного процесса в изменении иммуно-респондентного статуса этого органа активно дискутируется. То есть актуальна постановка вопроса о роли железы Гардера как периферического органа иммунитета [4, 7, 9]. Сведения об уровне функциональной динамики В-функциональных зон селезёнки, кишечных тенсилл, лимфоузлов (в случае их наличия) при инволюции бурсы противоречивы. Остаётся неясной роль лимфоидной ткани этих органов в организации В-иммунитета [12–13].

Предположение о переключении иммуно-респондентного статуса железы Гардера в период половозрелости акцентирует проблему верификации механизмов её перестройки, закономерностей приспособления органа к заселению иммуноцитами и конкретных структурных факторов названного процесса.

Установление дифференного состава эпителия железы Гардера, клеточного строения скоплений иммуноцитов, условий формирования В-инклюзивных гистионов и свойства функционального взаимодействия лимфоцитов и эпителиальных клеток – важнейшие направления перспективных исследований.

Цель работы. Показать свойства тканевой динамики эпителия железы третьего века (Гардера) птиц в её необходимом диапазоне в связи с новым уровнем развития лимфоидной ткани в органе и становлением его нового гистионного состава при инволюции клоакальной сумки (Фабрициуса) в период половозрелости; доказать иммуно-респондентный потенциал железы Гардера в данный период онтогенеза.

Материалы и методы. Объектом исследования были утята-бройлеры кросса Благосварский ($N = 100$) в возрасте 120 сут – периоде начала полового созревания. Животные содержались в условиях технологического процесса ЗАО «Птицесовхоз «Родина» Сорочинского района Оренбургской области. После взятия материала (центральных и периферических иммунных органов: клоакальная сумка, селезёнка, железа третьего века) его фиксация и технологическая подготовка для гистологических исследований проводились в соответствии со стандартными подходами. Серийные гистологические срезы окрашивались гематоксилином Майера и эозином.

Для оценки объёмных показателей лимфоидной ткани в иммунных органах использовали сетку Автандилова. Объём выборки учитываемых гистологических элементов определён формулой: $n_{\alpha} = \sum A_j \alpha_j / N$, где A_j – количество полей зрения для j -го утёнка, α_j – количество точек плотности метрической сетки для j -го утёнка.

Статистическую обработку параметрических данных осуществили обычными методами. Достоверность различий средних арифметических и долей оценивали при помощи критерия Стьюдента. Уровень допустимого совпадения значений вариант сравниваемых выборок принят не превышающим величины 5 %.

Результаты. Клоакальная сумка утят в возрасте 120 суток характеризуется значительным диапазоном величины собственной массы. Так, установленные границы весовых параметров бурсы определяют ширину интервала от 650 мг до 9200 мг. Показательно варьирование (изменчивость) массы бурсы в группе (здесь

$CV = 58,8 \pm 4,2 \%$). Приведённые данные характеризуют неоднородность группы по уровню морфофункциональной активности клоакальной сумки.

Гистологический анализ бursы позволил констатировать, что в выборке исследованных утят можно выделить три разновеликие группы животных. Во-первых, это птицы с завершённой инволюцией сумки (рис. 1, А–Б). Таких утят было не более 10 %. В данной группе бурса характеризуется атрофией слизистой оболочки, в которой уже не обнаруживаются лимфоидные узелки. Складки слизистой оболочки истончены и многочисленны. На поперечном срезе органа значительную площадь занимает фиброзная(-ое) ткань (кольцо), заместившая объём элиминированных иммунопозитивных гистионов. Полного освобождения органа от лимфоидной ткани не происходит. В собственной пластинке складок слизистой оболочки сохраняются диффузные субэпителиальные скопления лимфоцитов. Во-вторых, целесообразно указать группу, также с незначительной долей животных (<10 %), где сумка Фабрициуса характеризуется высоким уровнем функциональной динамики. Морфологически значимыми признаками такой активности являются гиперплазия слизистой оболочки и множество лимфоидных узелков с несколькими герминативными центрами, что выражает интенсивный процесс новообразования узелков. Очевидно, что в данной группе утят наблюдается задержка инволюции бursы. В-третьих, у большинства животных клоакальная сумка демонстрирует прогрессивное нарастание инволютивных процессов: увеличение относительной площади стромы складок, запустевание и деформация узелков, перестройка однорядного кубического эпителия боковых поверхностей складок в псевдомногослойный.

Верифицированное распределение долей утят в выборке в соответствии с конкретным уровнем морфодинамики сумки Фабрициуса позволяет считать, что адекватным уровнем её трансформации на рассматриваемом этапе онтогенеза является прогрессивная инволюция (большинство утят).

С конкретным уровнем иммунопоза бursы коррелируют параметры активности В-функциональных зон селезёнки и железы Гардера. При завершённой инволюции в селезёнке периэллипсоидные муфты запустевают (аналог мантийной зоны млекопитающих), почти шестикратно снижается объёмная плотность герминативных центров, отсутствуют процессы пролиферации и бласттрансформации.

Распределение весовых параметров железы Гардера в исследованной выборке утят ограничено интервалом 720–1120 мг. При этом и варьирование массы данного органа коэффициентом вариации характеризуется как низкое: $7,1 \pm 0,5 \%$. Очевидно, что ограниченность объёма параорбиты лимитирует размах (σ , %) при увеличении массы и объёма железы третьего века.

Железа Гардера разобщена на дольки, разделённые тонкими прослойками соединительной ткани. Дольки образованы концевыми отделами трубчатых разветвлённых желёз. В железе Гардера различимы зоны, характеризующиеся неодинаковым строением. В частности, это зоны с голокриновым типом секреции (рис. 1, В) и с апокриновым типом секреции (рис. 1, Г). При незначительном изменении объёма железы происходит значительная перестройка региона с апокриновым типом секреции в период онтогенеза, когда завершается инволюция клоакальной сумки.

Ведущим феноменом такой перестройки является резкое увеличение объёмной плотности лимфоидной ткани в железе Гардера (рис. 1, *Е*). Так, в одной и той же группе уток при задержке инволюции бурсы в железе третьего века скопления лимфоцитов занимают относительный объём $9,2 \pm 0,4 \%$ ($n_{\alpha} = 6525$). Инфункциональной сумке соответствует интенсивное заселение стромы гардеровой железы иммуноцитами. В этом случае, объёмная плотность лимфоидной ткани составляет величину $16,4 \pm 0,5 \%$ ($n_{\alpha} = 6750$). Показанные уровни динамики лимфоидной ткани различаются достоверно: $t = 4,29 > t_{0,001} = 3,46$; $p \leq 0,001$.

Первые лимфоциты появляются под эпителием центрального протока. Постепенно процесс инфильтрации стромы интенсифицируется и иммуноциты проникают в строму глубоких долек. Заселению лимфоцитами стромы железы Гардера способствует высокая плотность сосудов микроциркуляторного русла (рис. 1, *Д*).

В популяции лимфоидных элементов, заселяющих железу третьего века, преобладают плазматические клетки. Увеличение объёма скоплений иммуноцитов в строме сопровождается десквамацией железистого эпителия (рис. 1, *Е*). Под отторгающимся железистым эпителием обнаруживаются недифференцированные эпителиоциты со слабой оксифилией цитоплазмы, большим ядерно-цитоплазматическим отношением, высоким уровнем эухроматина в ядре.

Такие клеточные элементы являются источником развития нежелезистого эпителия (тёмные эпителиоциты), разрастающегося по периферии регионов, заселённых лимфоцитами. Данный тип эпителия имеет другие тинкториальные свойства, не демонстрирует признаков секреторной активности, имеет меньшие размеры и центрально расположенное продолговатое ядро, ориентированное вдоль наиболее протяжённой оси клетки.

Заключение. Полученные в исследовании факты позволяют обобщить представление об адаптации железы Гардера к заселению иммуноцитами в период наступления половозрелости. Трансформация гистионного состава железы определяет новые структурные условия функциональной активности органа, переключение его иммунореспондентного статуса, повышение потенциала железы третьего века как имеющей значение иммунного органа.

Важнейшим фактором складывания В-инклюзивных гистионов является дифференцировка нежелезистого эпителия, замещающего железистый. Необходимость такой интеракции плазмоцитов и эпителиальных клеток в реализации локальных иммунных реакций в железе Гардера показана в литературе [12–13].

Очевидно, что трансформация эпителиев в железе Гардера после инволюции клоакальной сумки свидетельствует об изменении соотношения эпителиальных дифферонов с различным направлением дифференцировки клеточных элементов.

Таким образом, динамика системы «сумка Фабрициуса – селезёнка – железа Гардера» в онтогенезе зависит от уровня морфофункциональной активности клоакальной сумки [1, 11, 14–15]. Взаимоотношение органов в названной системе имеет реципрокный характер, при этом в постбурсальный период индивидуального развития особенности пространственной организации лимфоидной ткани модулируются становлением специальных структурных условий в железе Гардера,

что определено морфогенетическим потенциалом органа, реализация которого в необходимом диапазоне связана с закономерной реорганизацией лимфоидной ткани в период половозрелости.

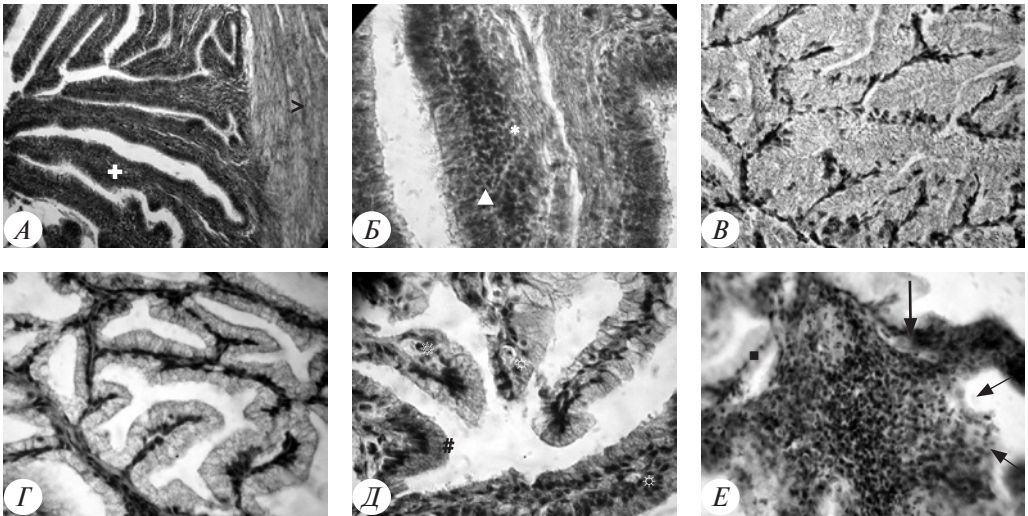


Рис. 1. Инволюция сумки Фабрициуса (ФБ) и строение железы Гардера (ЖГ) домашней утки. А (ув. 100×) – Б (ув. 400×) – ФБ; В–Г – регионы с голокриновым и апокриновым типом секреции в ЖГ (ув. 400×); Д–Е – нежелезистый эпителий (н/ж-э) и скопления эпителиоцитов в ЖГ (ув. 400×)

+ – складки слизистой оболочки бursы при завершённой инволюции; > – фиброзное кольцо; ▲ – псевдомногослойный эпителий свободной поверхности складки; * – подэпителиальное скопление лимфоцитов в складке; # – н/ж-э в ЖГ; ** – сосуды микроциркуляции; ■ – отторжение железистого эпителия в ЖГ; → – недифференцированные эпителиоциты в ЖГ

ЛИТЕРАТУРА

1. Abbate F., Pfarrer C., Jones C. J. P., Ciriaco E., Germana G., Leiser R. Age-dependent changes in the pigeon bursa of Fabricius vasculature: a comparative study using light microscopy and scanning electron microscopy of vessel casts // *Journal of Anatomy*. 2007. Vol. 211. P. 387–398.
2. Arakawa H., Buerstedde J.-M. Immunoglobulin Gene Conversion: Insights from Bursal B Cells and the DT40 Cell Line // *Developmental Dynamics*. 2004. Vol. 229. № 3. P. 458–464.
3. *Avian Immunology* / Edited by F. Devison, B. Caspers, K. A. Schat. London: ELSEVIER, 2008.
4. Burns A. B., Maxwell M. H. The structure of the Harderian gland and lacrimal gland ducts of the turkey, fowl and duck. A light microscope study // *Journal of Anatomy*. 1979. Vol. 128. № 2. P. 285–292.
5. Chen N. H., Wu S. J. Analysis on the characteristics of histological location of bursin in immune organ of chicken and duck // *Journal of Experimental Biology*. 2003. № 2(36). P. 155–162.

6. Cui J., Sofer L., Cloud S. S., Burnside J. P. Patterns of Gene Expression in the Developing Chick Thymus // *Developmental Dynamics*. 2004. Vol. 229. № 3. P. 480–488.
7. Dimitrov D. S., Nikiforov I. P. Histological and Histochemical studies of Harderian gland, lacrimal gland and bursa of Fabricius in mulard ducks (*Anas sterilis*) with chlamydial infection // *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine*. 2005. № 2. P. 119–127.
8. Kowalski W. J., Malkinson M., Leslie G. A., Small P. A. The secretory immunological system of the fowl. VI. The Effect of chemical bursectomy on immunoglobulin concentration in tears // *Immunology*. 1978. Vol. 34. P. 664–667.
9. Kozlu T., Bozkurt Y. A., Altunay H., Sari E. K. Histological and Histochemical Studies on the Harderian gland of the Osprey (*Pandion haliaetus*) // *Journal of Animal and Veterinary Advances*. 2010. № 9(13). P. 1875–1879.
10. Mobini B. Histological and histochemical studies on the Harderian gland in native chickens // *Veterinary Medicine*. 2012. Vol 57. № 8. P. 404–409.
11. Nagy N., Olah I. Experimental evidence for the ectodermal origin of the epithelial anlage of the chicken bursa of Fabricius // *Development*. 2010. Vol. 137. P. 3019–3023.
12. Oliveira C. A., Telles L. F., Oliveira A. G., Kalapothakis E., Gonçalves-Dornelas H., Mahecha G. A. B. Expression of different classes of immunoglobulin in intraepithelial plasma cells of the Harderian gland of domestic ducks *Anas platyrhynchos* // *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 2006. Vol. 113. № 3–4. P. 257–266.
13. Payne A. P. The harderian gland. A tercentennial review // *Journal of anatomy*. 1994. Vol. 185. P. 1–49.
14. Rodriguez-Mendez A. J., Luna-Acosta J. L., Carranza M., Harvey S., Aramburo C., Luna M. Growth hormone expression in stromal and non-stromal cells in the bursa of Fabricius during bursal development and involution: Causal relationships? // *Gen. Comp. Endocrinology*. 2010. Vol. 167. № 2. P. 297–307.
15. Williams S. M., Fitzgerald S. D., Reed W. M., Lee L. F., Fadly A. M. Tissue Tropism and Bursal Transformation Ability of Subgroup J avian leucosis virus in white Leghorn Chickens // *Avian Diseases*. 2004. Vol. 48. P. 921–927.

Боков Д. А., Обидченко М. П., Семёнова М. В., Шевлюк Н. Н.

СРАВНИТЕЛЬНО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ПРОБЛЕМЫ ОРГАНОТИПИЧЕСКОЙ РЕГЕНЕРАЦИИ СЕМЕННИКОВ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

*Кафедра гистологии (заведующий – проф. А. А. Стадников)
Оренбургской государственной медицинской академии, Оренбург,
e-mail: cells-tissue.bokov2012@yandex.ru*

Введение. Участие самцов в размножении (вовлечение или элиминация в (из) состав(а) поддерживающих воспроизводство) – сложное условие приспособления популяционной динамики, необходимо контролирующее репро-