

О.В. Сомова

ассистент

Ф.Д. Гуков

к. вет. н.

Витебская ордена “Знак Почета”

Государственная академия ветеринарной медицины

**ДИНАМИКА КАЧЕСТВЕННЫХ И КОЛИЧЕСТВЕННЫХ ИЗМЕНЕНИЙ
АКТИВНОСТИ КИСЛОЙ И ЩЕЛОЧНОЙ ФОСФАТАЗ
В СТРУКТУРАХ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ КУР**

Выявили наличие закономерности в концентрации и локализации кислой и щелочной фосфатаз секреторных клеток поджелудочной железы, которая отражает уровни функциональной активности органа у кур на разных этапах постнатального онтогенеза.

Постановка проблемы

Необходимость интенсификации промышленного птицеводства требует постоянного углубления знаний о закономерностях морфологической организации систем организма птиц и гистохимических процессах в клетках органов, обеспечивающих основные жизненные явления.

© О.В. Сомова, Ф.Д. Гуков

Гистохимическая статистика поджелудочной железы у продуктивной птицы до сих пор рассматривается вне связи с конкретными микроструктурами, в которых синтезируются и локализуются белки, нуклеиновые кислоты и различные ферменты. Единичны и сведения о возрастной динамике ферментов в основных структурах органа. Вместе с тем гистохимические изменения в железистых клетках, обнаруживаемые у кур разных возрастных групп, свидетельствуют об активизации синтетической функции железы, направленной на повышение уровня ее секреторной и инкреторной деятельности.

Цель исследования. Наши исследования были направлены на изучение динамики качественных и количественных изменений активности кислой и щелочной фосфатаз в структурах поджелудочной железы клинически здоровых кур.

Объекты и методика исследований

Работа проведена на материале от кур разного возраста: 1, 10, 20, 30, 60 и 120 суток и 1 и 2 года с тем, чтобы проследить динамику возрастных изменений гистохимических показателей кислой и щелочной фосфатаз гистоструктуры поджелудочной железы кур. Для этого были изготовлены срезы толщиной 10–15 мкм на замораживающем микротоме из тканей, предварительно зафиксированных в охлажденном 10%-м растворе формалина [1, 2]. Для определения кислой и щелочной фосфатаз использовали метод Гомори [3].

Для определения количественных показателей активности кислой и щелочной фосфатаз мы использовали способ подсчета при помощи программы «Image Score M» на базе микроскопа «Olympus BX-41». В программе «Image Score M» заложена опция «Яркость средняя (B_{avg})», обозначающая среднюю яркость пикселей объекта. Максимальное значение этого признака (255) мы принимали за 100%. Коэффициент пропускания также выражали в процентах. Между активностью ферментов в клетках и интенсивностью окраски гистосрезов существует прямая зависимость, а между интенсивностью окраски и коэффициентом пропускания – обратная, поэтому для количественного определения этих показателей использовали формулу:

$$X = 100\% - \frac{K \times 100}{255}$$

где: X – искомый показатель,

K – коэффициент пропускания.

Результаты исследований

У суточных цыплят в секреторных клетках обнаруживается перинуклеарная локализация кислой фосфатазы в виде светло-коричневых гранул. У базального полюса выявляется незначительное количество фермента. В апикальной части клетки имеются более крупные и интенсивнее окрашенные единичные гранулы энзима. В ациноцитах наблюдаются надядерные скопления кислой фосфатазы. Ядра клеток хорошо выражены. Активность

фермента составляет 23,19%.

Щелочная фосфатаза выявляется в виде мелкой пылевидной зернистости преимущественно в цитоплазме базальной части клетки, под плазмалеммой, занимая краевое положение, а также перинуклеарно, формируя околядерный ободок. Над ядром обнаруживаются единичные гранулы фермента. В эндотелии кровеносных сосудов щелочная фосфатаза выражена слабо. Количество энзима составляет 22,9%.

У 10-суточных цыплят выявляется диффузное распределение светлокоричневой зернистости кислой фосфатазы на апикальном полюсе glanduloцитов. По сравнению с суточными цыплятами зернистость крупнее, более интенсивно окрашена. Также большое количество гранул фермента выявляется в перинуклеарной зоне клеток. Активность энзима в данный период увеличивается на 6% и составляет 29,18%.

Содержание щелочной фосфатазы несколько выше, чем в предыдущий возрастной период. В клетке обнаруживается мелкая пылевидная темно-серая зернистость, расположенная главным образом вокруг ядра и в примембранной части ациноцитов. В эндотелии кровеносных сосудов щелочная фосфатаза выражена лучше, чем в суточном возрасте. Содержание фермента увеличивается на 7,16% и составляет 30,06%.

В 20-суточном возрасте активность кислой фосфатазы на 8,17% выше, чем в предыдущий возрастной период, а именно – 37,35%. На апикальном полюсе гранулы фермента располагаются более густо. На базальном полюсе обнаруживаются лишь единичные зерна энзима.

Гранулы щелочной фосфатазы располагаются более равномерно в цитоплазме ациноцитов, с некоторым уплотнением на базальном полюсе и под плазмалеммой, формируя тонкие темные полосы по краям клеток. Количественный показатель активности фермента увеличивается на 4,88% и составляет 34,94%.

Также обнаруживается неравномерное распределение кислой и щелочной фосфатаз в паренхиме органа: в ацинусах подкапсулярной зоны выявляется слабая активность ферментов, центральной – более высокая.

У 30-суточных цыплят распределение фермента в цитоплазме клеток становится более равномерным и гранулы кислой фосфатазы увеличиваются в размере. Однако наблюдается сгущение энзима на апикальном полюсе и в околядерной зоне. Количественный показатель содержания фермента составляет 40,07%, что выше предыдущего показателя на 2,72%.

Активность щелочной фосфатазы несколько возрастает (на 2,22%) и составляет 37,16%. Гранулы распределяются равномерно в цитоплазме с уплотнением под плазмалеммой и на базальном полюсе клетки.

В 60-дневном возрасте в ациноцитах выявляется большее количество фермента. Зерна увеличиваются в размере и окрашиваются в темно-коричневый цвет. В цитоплазме glanduloцитов наблюдается значительное количество мелких диффузно расположенных гранул, на фоне которых обнаруживаются крупные, четко очерченные глыбки, количество которых на апикальном полюсе несколько больше, чем на базальном. Также наблюдается

сгущение фермента вокруг ядра. Показатель активности энзима увеличивается на 7,71% и составляет 47,78%.

Щелочная фосфатаза в цитоплазме ациноцитов формирует на базальном полюсе и под плазмалеммой узкие полоски темно-серого цвета. Обнаруживаются мелкие гранулы серого цвета над ядром. Более крупная зернистость темно-серого цвета выявляется в базальной части клеток. В эндотелии кровеносных сосудов наблюдается высокий уровень активности щелочной фосфатазы. Количество фермента увеличивается на 8% и составляет 45,17%.

К 120 дням в цитоплазме секреторных клеток обнаруживается много крупных, глыбчатых, четко очерченных гранул кислой фосфатазы темно-коричневого цвета. Зернистость распределяется относительно равномерно по цитоплазме всей клетки с некоторым увеличением на апикальном полюсе и в околоядерной зоне. Показатель активности фермента составляет в данный период 59,69%, что выше предыдущего показателя на 11,91%.

Локализация щелочной фосфатазы в возрасте 120 дней и 1 года существенно не меняется. Фермент распределяется по всей клетке с уплотнением на базальном полюсе. Содержание энзима в данные возрастные периоды составляет 53,9 и 57,45% соответственно.

В годовалом возрасте выявляется локализация кислой фосфатазы преимущественно вокруг ядра. Активность фермента несколько ниже, чем в 120-дневном возрасте, и составляет 56,86%.

К 2-летнему возрасту в цитоплазме ациноцитов обнаруживаются мелкие коричневые гранулы кислой фосфатазы, сосредоточенные в надядерной зоне. Общее количество зерен энзима становится меньше. Показатель активности фермента уменьшается на 15% по сравнению с годовалым возрастом и составляет 41,85% (таб.).

Таблица. Количественные показатели кислой и щелочной фосфатаз в поджелудочной железе кур

Возраст	Кислая фосфатаза, %	Щелочная фосфатаза, %
1 сутки	23,19 ± 0,7	22,90 ± 0,4
10 суток	29,18 ± 0,9	30,06 ± 0,5
20 суток	37,35 ± 0,8	34,94 ± 0,4
30 суток	40,07 ± 0,7	37,16 ± 0,7
60 суток	47,78 ± 0,9	45,17 ± 0,6
120 суток	59,69 ± 0,8	53,90 ± 0,4
1 год	56,86 ± 0,9	57,45 ± 0,4
2 года	41,85 ± 0,6	39,44 ± 0,4

Активность щелочной фосфатазы в секреторных клетках также снижается (на 18%). Выявляется мелкая зернистость в цитоплазме базального полюса и под плазмалеммой ациноцитов.

Анализ полученных результатов позволяет выявить определенную

закономерность компартментной локализации и концентрации основных энзимов, отражающих функциональную активность секреторных клеток поджелудочной железы у кур на разных этапах постнатального периода онтогенеза.

Так, количество кислой фосфатазы характеризуется относительно равномерным увеличением с 1 до 120 суток, а именно повышение показателя составляет в среднем 8% относительно каждой последующей возрастной группы (за исключением периода 20–30 суток). К годовалому возрасту концентрация и место локализации кислой фосфатазы не претерпевает существенных изменений, а в 2-летнем возрасте количество фермента значительно снижается.

Несколько иная картина наблюдается при исследовании активности щелочной фосфатазы. Выявляется увеличение количества фермента до годовалого возраста, что указывает на развитость митохондриального аппарата и высокий уровень активности окислительно-восстановительных процессов и клеточного дыхания. В 2 года регистрируется существенное снижение уровня активного фермента.

Тенденция изменения цитоплазменной локализации и количественная оценка выше упомянутых энзимов в полной мере коррелируют с уровнем морфофункционального напряжения поджелудочной железы.

Выводы

1. Полученные результаты существенно дополняют сведения о гистофизиологии поджелудочной железы птиц в различные периоды постнатального онтогенеза.

2. Выявленные закономерности возрастных изменений железы расширяют сложившиеся представления об особенностях ее роста и развития у птиц в онтогенезе, указывают на наличие тесной взаимосвязи ростовых и дифференцировочных процессов в основных структурных компонентах органа с периодами бурного роста тканей организма, его подготовкой и функционированием в репродуктивную фазу жизни.

Перспективы дальнейших исследований

Использование результатов возможно при изучении патогенеза заболеваний поджелудочной железы, болезней обмена веществ, а также при разработке теоретических основ лечения и профилактики заболеваний.

Литература

1. Александровская О.В., Радостина Т.Н., Козлов Н.А. Цитология, гистология и эмбриология – Москва: Агропромиздат, 1987. – С. 384–385.
2. Артишевский А.А., Леонтьев А.С., Слуква Б.А. Гистология с техникой гистологических исследований. – Минск: Вышэйшая школа, 1999. – С. 208–212.

Вісник
ДАЕУ

Гістохімія та біохімія
у морфологічних дослідженнях

№ 1 (21)
т. 1
2008

3. *Луппа Х.* Основы гистохимии. – Москва: Издательство «Мир», 1980. – С. 177–182.
4. *Меркулов Г.А.* Курс патологогистологической техники. – Ленинград: Медицина, 1969. – 432 с.