

FIZJOLOGIA ZWIERZĄT

TADEUSZ ROTKIEWICZ, JOZEF SZAREK

Badania histochemiczne tarczyc różnych ras świń

Z Zakładu Anatomii Patologicznej Instytutu Chorób Zakaźnych i Inwazyjnych AR-T w Olsztynie

W badaniach czynnościowych tarczycy powszechnie stosowane są metody radiologiczne, a w badaniach pośmiertnych histopatologiczne. Badania histochemiczne są szczególnie przydatne do wykrywania w tym gruczole komórek C, które wykazują dużą argyrofilność, dodatnią reakcję na esterazy niespecyficzne i cholinesterazę. Komórki C w barwieniu metodą p.a.s. wg Mac Manusa pozbawione są ziarnistości p.a.s. dodatnich (14, 15, 16, 17).

W pracy niniejszej w oparciu o wybrane metody histochemiczne i morfologiczne postanowiono prześledzić morfologię tarczyc u czterech różnych ras świń.

Materiał i metody

Doświadczenie przeprowadzono na 36 sztukach świń podzielonych na cztery grupy, po 9 sztuk w każdej w zależności od rasy zwierząt: I grupa świni rasy Piétrain (4 samce i 5 samic), II świni rasy wielkiej białej polskiej (4 samce i 5 samic), III świni rasy polskiej białej zwiśłouchiej (4 samce i 5 samic), IV grupa świni rasy złotnickiej pstrej (4 samce i 5 samic). Zwierzęta pochodziły z tej samej chlewni. Do doświadczenia wybrano losowo prosięta w równym wieku (urodzone tego samego tygodnia), żywione jednakowymi rodzajami paszy, a po osiągnięciu wagi ok. 115 kg poddano je ubojowi w rzeźni, po czym bezpośrednio pobierano wycinki tarczyc, które utrwalone w obojętnej 10% formalinie, płynie Bouena i absolutnym alkoholem etylowym. Skrawki histologiczne parafinowe barwiono rutynowo hematoksyliną i eozyną oraz p.a.s. wg Mac Manusa, srebrzono wg met. Gomoriego i Grime-liusa (6) oraz wg met. Des Marais i La Hama (2).

Pomiary mikrometryczne objętości 100 kolejnych pęcherzyków tarczycy w jednym preparacie przeprowadzano przy pomocy okularu mikrometrycznego OK 15KM produkcji PZO Warszawa, w powiększeniu 200x.

Objętość pęcherzyka obliczano wg wzoru $V = \frac{\pi \cdot LB^2}{6}$ gdzie L stanowi wymiar większy pęcherzyka, B wymiar mniejszy (10). Przy powiększeniu 600x mierzono wysokość nabłonka 50 kolejnych pęcherzyków w jednym preparacie i obliczano średnią arytmetyczną (10).

Wyniki badań

W wyniku przeprowadzonych badań tarczyc świń grupy I obserwuje się przewagę pęcherzyków o bardzo małej (poniżej 0,0001 mm³) i małej (0,0001—0,001 mm³) objętości, stanowiących średnio 49,8% ogólnej liczby pęcherzyków. Koloid w nich wybarwia się eozyną na kolor jasnoróżowy. Nabłonek wyścielający zbudowany jest z komórek kostkowych i walcowatych. Pęcherzyków o średniej objętości (0,001—0,005 mm³) obserwuje się 38,9%. Koloid w większości tych pęcherzyków zawiera przy nabłonku drobne wodniczki brzeżne i zbudowany jest z komórek kostkowych. Pęcherzyków o dużej (0,005—0,01 mm³) i bardzo dużej (ponad 0,01

mm³) objętości stwierdza się w 11,3%, są one wysłane nabłonkiem płaskim. U 4 świń (1 samiec i 3 samice) tej grupy nie stwierdzono pęcherzyków o dużej i bardzo dużej objętości, natomiast tarczycy zbudowane były z pęcherzyków małych i średnich. U wszystkich świń tkanka łączna międzypęcherzykowa jest skąpo wyrażona, a przebiegające w niej naczynia krwionośne są wypełnione licznymi krwinkami. Pośród opisanych pęcherzyków występują liczne ogniska, wskazujące na tworzenie się nowych, małych pęcherzyków.

U wszystkich świń grupy I stwierdza się obecność licznych komórek C, u 7 zwierząt w komórkach tych występują liczne ziarna argyrofilne (ryc. 1), a u pozostałych dwóch świń ziarnistości tych jest niewiele (ryc. 2). Stosując



Ryc. 1. Komórki C z licznymi ziarnami argyrofilnymi w tarczycy świni rasy Piétrain. Srebrzenie wg Grime-liusa, pow. 400x



Ryc. 2. Komórki C z niewielką ilością ziaren argyrofilnych w tarczycy świni rasy Piétrain. Srebrzenie wg Grime-liusa, pow. ok. 400x

barwienie wg met. Des Marais i La Hama obserwowano 45,2% pęcherzyków zawierających koloid żółty (ubogi w jod), 41,8 pęcherzyków posiadających koloid intensywnie niebieski (bogaty w jod), a w 15% pęcherzyków koloid był mieszany.

W grupie II obserwuje się 48% pęcherzyków o małej objętości, wypełnionych koloidem wybarwiającym się eozyną na kolor jasnorożowy i wysłanych wysokim nabłonkiem wałeczkowatym. Pęcherzyków o średniej objętości jest 39,6%, koloid na obrzeżu zawiera liczne wodniczki. Pęcherzyki o dużej i bardzo dużej objętości występują w 12,4%, wysłane niskim nabłonkiem. Tkanka łączna otaczająca pęcherzyki jest miernie rozwinięta, naczynia krwionośne są obficie wypełnione krwinkami.

W grupie tej 45,88% pęcherzyków posiada koloid o dużej zawartości jodu, 44,01% zawiera go mało, a 10,11% — to pęcherzyki z koloidem mieszanym. Komórki C u 6 zwierząt zawierają bardzo liczne ziarnistości argyrofilne, a u pozostałych 3 zwierząt jest ich mniej.

ras świń (tab. 1) hodowanych w tych samych warunkach oraz określić rodzaj koloidu i komórek C. Tarczycy świń rasy Piétrain i wielkiej białej polskiej cechują się obecnością pęcherzyków o małej i średniej objętości, wysłanych nabłonkiem dość wysokim i obecnością koloidu bogatego w jod. U świń rasy polskiej białej zwisłouchej i złotnickiej pstrej tarczycy posiadają pęcherzyki duże, wysłane nabłonkiem płaskim, wypełnionych koloidem ubogim w jod.

Komórki C wykrywane srebrzeniem wg met. Grimeliusa, zawierają różne ilości ziaren argyrofilnych, których najwięcej stwierdza się u świń rasy Piétrain i wielkiej białej polskiej, natomiast u świń rasy polskiej białej zwisłouchej i złotnickiej pstrej jest ich mało.

Badania przeprowadzone przez innych autorów (7) potwierdzają ścisłą współzależność między aktywnością hormonalną tarczycy, a obrazem morfologicznym. Wykazano także wpływ różnych zestawów pokarmowych i środków hamujących aktywność hormonalną tarczycy na budowę morfologiczną tego gruczołu (1, 4, 5, 8,

Tab. 1. Zestawienie cech morfologicznych i histochemicznych tarczyc badanych ras świń

Rasa świń	Średnia objętość pęcherzyków w mm ³	Procentowa liczba pęcherzyków w tarczycy:				Średnia arytmetyczna wysokości nabłonka w pęcherzykach (w mm)	Procentowa liczba pęcherzyków w tarczycy:		
		małych do 0,001 mm ³	średnich do 0,005 mm ³	dużych do 0,01 mm ³	bardzo dużych ponad 0,01 mm ³		z małą zawartością jodu	ze średnią zawartością jodu	z dużą zawartością jodu
Piétrain	0,0012	49,8	38,9	6,2	5,1	0,0044	45,2	15,0	41,8
wbp	0,0014	48,0	39,6	8,8	3,6	0,0047	44,01	10,11	45,88
pbz	0,0030	39,0	39,7	13,0	8,3	0,0048	69,01	20,33	10,66
Złotn. pstra	0,0048	32,6	38,0	15,1	14,3	0,0058	67,0	32,0	1,0

W grupie III występuje 39,7% pęcherzyków średnich, 39% o małej objętości oraz 21,3% dużych i bardzo dużych. Wakuole brzeżne obecne są tylko w nielicznych pęcherzykach. W 69,01% koloid jest ubogi w jod, 10,66% bogaty i 20,33% mieszanym. Nabłonek pęcherzyków jest niski, tkanka łączna szerokim pasem otacza pęcherzyki. Komórki C występują dość licznie, u trzech świń zawierają liczne ziarna argyrofilne.

W grupie IV stwierdza się 38% pęcherzyków średnich, 32,6% małych i 29,4% pęcherzyków dużych i bardzo dużych. Koloid w 67% pęcherzyków jest ubogi w jod, 32% jest mieszany i tylko w 1% bogaty w jod. Nabłonek pęcherzyków małych i średnich jest cylindryczny, w dużych niski i płaski. Tkanka łączna szerokimi pasmami otacza grupy pęcherzyków. Komórki C w IV grupie są liczne, różnokształtne i zawierają małe ilości ziarenek argyrofilnych.

Omówienie wyników

Zastosowane metody histopatologiczne, histochemiczne i morfometryczne pozwoliły porównać objętość pęcherzyków tarczyc u różnych

9, 13). Obraz morfologiczny tarczycy u świń ulega zmianom pod wpływem niskich temperatur, a na obwodzie zwiększa się liczba ognisk odnowy (12). Na budowę morfologiczną tarczyc u świń wpływają również przebyte choroby zakaźne, szczególnie kolienterotoksemie i inne (11).

W oparciu o przeprowadzone badania można stwierdzić, że tarczycy świń rasy Piétrain i wielkiej białej polskiej wykazują większą liczbę pęcherzyków małych z dużą zawartością jodu w koloidzie oraz zwiększoną liczbę komórek C niż tarczycy świń rasy polskiej białej zwisłouchej i złotnickiej pstrej.

Piśmiennictwo

1. Ciba T., Dubiel J.: Pat. Pol. 1, 153, 1968.

2. Des Marais A., La Ham Q. N.: Can. J. Biochem. Physiol 40, 227, 1962.

3. Doniach J., Swettenham K. V.: J. Endocr. 1, 71, 1971.

4. Fitko R.: Medycyna Wet. 19, 709, 1963.

5. Gabe M., Agid R., Martoja M., Saint Girons M. C., Saint Girons H.: Arch. Biol. 5, 75, 1964.

6. Grimelius L.: Acta Soc. Med. Upsal 73, 243, 1968.

7. Ingram D. L., Stebodziński A.: Res. vet. Sci. 6, 522, 1965.

8. Januszewski J., Kozielec T.: Pat. Pol. 1, 75, 1975.

9. Jastrzębski M.: Roczn. nauk Zoot. 1, 67, 1974.

10. Khmelnitsky O. K., Katinas G. S., Bykov V. L.: Arch. pat. 7, 71, 1975.

11. Kaszubkiewicz Cz.: Medycyna Wet. 21, 668, 1965.
12. Kaszubkiewicz Cz.: Medycyna Wet. 20, 16, 1964.
13. Mach Z.: Roczn. nauk Zoot. 1, 25, 1974.
14. Michalska Z., Michalski Z.: Biuletyn V Zjazdu PTNW Olsztyn 1974, 346.
15. Stachura J.: Pat. Pol. 2, 277, 1971.
16. Stachura J., Pearse A. G. E.: Virchows Arch. 5, 173, 1970.
17. Szuperski T.: Medycyna Wet. 32, 364, 1976.

Adres autora: dr Tadeusz Rotkiewicz, ul. M. Gotowca 41/4, 10-001 Olsztyn.

Роткевич Т., Шапек Ю. — Гистохимические исследования щитовидных желез различных пород свиней.

Микроскопические исследования касались щитовидных желез свиней пород: пьетрен, крупной белой польской, польской белой длинноухой и злотницкой пестрой, весом 115 кг, кормленных одинаковыми видами корма и пребывающих в тех самых условиях содержания.

Обнаружили, что щитовидные железы свиней пород пьетрен, крупной белой польской отличаются наличием пузырьков малого объема и со средне высоким эпителием, а также наличием коллоида, богатого иодом, щитовидные же железы свиней пород

польской белой длинноухой и злотницкой пестрой обладают многочисленными пузырьками крупного объема и с коллоидом, бедным иодом.

Клетки С у свиней породы пьетрен и крупной белой польской, обнаруживаемые методом серебрения по Примелиусу, обладают многими аргирофильными грануляциями.

Rotkiewicz T., Szarek J. — Histochemical examinations of the thyroidea of pigs of different breeds.

Microscopic examinations concerned the thyroids derived from pigs of Pietrain, Large-White Polish, Polish-White and Złotnicka Spotted breeds, 115 kg of body weight, fed the same kinds of fodder and maintained under similar condition. It was found that the thyroids of Pietrain and Large-White Polish breeds possessed the vesicles of small volume, an average height of the epithelium and the colloid with a lot of iodine. Instead the thyroids of Polish-White breed and Złotnicka Spotted breed had many large vesicles with the colloid of poor concentration of iodine. C cells of Pietrain and Polish-Large-White breed had many argyrophilic granules revealed by means of Grimelius' staining technique.

PRAKTYKA LABORATORYJNA

MAREK NIEMIAŁTOWSKI

Zastosowanie techniki przechowywania hodowli komórkowych i tkankowych w stanie zamrożenia

Z Zakładu Wirusologii Instytutu Chorób Zakaźnych i Infekcyjnych Wydziału Weterynaryjnego SGGW-AR w Warszawie

W wielu dyscyplinach biologicznych i medycznych istotne znaczenie odgrywają techniki, polegające na zastosowaniu bardzo niskich temperatur oraz przechowywaniu materiału biologicznego w stanie zamrożenia.

Zagadnieniami naukowego zastosowania niskich temperatur zajmują się:

1) kriogenika, tj. technika wytwarzania i utrzymywania bardzo niskich temperatur,

2) kriobiologia, tj. nauka zajmująca się przechowywaniem żywego materiału komórkowego w niskich temperaturach, co powstrzymuje jego starzenie się i hamuje procesy życiowe komórek, z możliwością przywrócenia im pełnej żywotności w stosunkowo krótkim czasie.

Stosowanie technik mrozeniowych posiada szczególne znaczenie w laboratoriach wirusologicznych, w których podstawowa praca oparta jest na namnażaniu wirusów w hodowlach komórkowych i tkankowych. Możliwość przypadkowych zakażeń laboratoryjnych oraz występowanie mutacji genetycznych związanych ze stałym pasażowaniem komórek *in vitro*, stwarza konieczność posiadania w laboratorium własnego banku tkanek, który umożliwia w dowolnym czasie odtworzenie utraconej hodowli.

W niniejszej pracy szczególny nacisk położono na przedstawienie techniki zamrażania hodowli komórkowych i tkankowych. Opanowanie wymienionej techniki, jak również posiadanie odpowiedniej jakości pojemników do transportu i przechowywania ciekłych gazów oraz zamrażania w nich hodowli, stanowi podstawę do założenia własnego banku tkanek.

Niskie temperatury stosowane do przechowywania hodowli komórkowych i tkankowych otrzymuje się przez użycie ciekłego azotu (punkt wrzenia = $-195,8^{\circ}\text{C}$; punkt topnienia = -210°C). Ciekły azot jest płynem bezbarwnym, bezwonny, nietoksycznym i niepalnym. Należy do najczęściej stosowanych kriogenów i służy nie tylko do zamrażania hodowli, ale i innych materiałów biologicznych (1, 6, 7, 11, 12, 16).

Zamrażanie i odmrażanie hodowli komórkowych i tkankowych może doprowadzić do uszkodzeń komórek zamrażanych hodowli. Niepożądanym efektem zamrażania i odmrażania hodowli można zapobiec lub znacznie je zmniejszyć, dzięki zastosowaniu dobranych drogą doświadczalną, najlepszych dla danej hodowli czynników ochraniających komórki przed skutkami zamrożenia (10). Obniżenie temperatury powoduje podwyższenie stężenia wewnątrz — komórkowych elektrolitów, co wpływa niszczaco na RNA, DNA oraz denaturuje białka i polipeptydy.

Czynniki ochraniające obniżają stężenie elektrolitów, zmniejszają odwodnienie komórek, zapobiegając tworzeniu się kryształów lodu, jak również stabilizują makrocząsteczki, przede wszystkim w błonie komórkowej. Dzielą się one na wnikaące i nie wnikaące