

УДК 619:612.359:636.934.57

## МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПЕЧЕНИ НОВОРОЖДЕННЫХ НОРЧАТ РАЗЛИЧНЫХ ОКРАСОЧНЫХ ГЕНОТИПОВ В НОРМЕ И ПОД ВЛИЯНИЕМ БИОСТИЛА

М. Б. Исакова, аспирант

О. В. Распутина, доктор ветеринарных наук, профессор

И. В. Наумкин, кандидат биологических наук

Новосибирский государственный аграрный университет

E-mail: marka\_701@mail.ru

**Ключевые слова:** норка американская, окрасочные генотипы, гепатоциты, желчный проток, пролиферация, клетки крови, биостил

**Реферат.** Проведены исследования по морфологическим особенностям строения печени у новорожденных норчат американской норки окрасочных генотипов *Standard* (+/+ +/+), *Sapphire* (a/a p/p), *Lavender* (a/a m/m) в норме и под влиянием биологически активного препарата биостил. Исследуемое поголовье норчат было сгруппировано в опытные и контрольные группы трех окрасочных генотипов. Опытные норчата были получены от родителей, получавших биостил за неделю до гона в течение 5 дней и в период гона в течение трех дней с перерывом один день в дозе 0,05 мл/кг массы тела. Родителям норчат контрольной группы препарат не применяли. При исследовании акцентировали внимание на анатомо-топографических особенностях печени, гистологическом строении, наличии кроветворных клеток, определяли морфометрические показатели гепатоцитов, ядерно-цитоплазматическое отношение. В результате исследований было установлено, что у норчат в возрасте 1 сутки печень сохраняет функцию кроветворения, в ней отмечается высокая интенсивность пластических и регенераторных процессов, которые выражаются активной пролиферацией в структурах печени (желчном протоке, периваскулярном и подкапсульном пространстве), высоким значением ядерно-цитоплазматического отношения. Отмечено, что этот показатель может иметь вариативные значения в зависимости от видовой и генотипической принадлежности животного.

Печень является центральным органом гомеостаза; это самая крупная полифункциональная застенная железа пищеварительного тракта, необходимая для поддержания полноценного функционирования организма. Функции печени чрезвычайно разнообразны: она принимает участие в процессах пищеварения, секретирует желчь, синтезирует белки плазмы крови, образует и накапливает гликоген, участвует в обмене холестерина, витаминов, гормонов и ферментов, является депо ряда микроэлементов. У новорожденных животных печень выполняет функцию кроветворения. Кроме того, печень защищает организм от патологических микроорганизмов и чужеродных веществ, поступающих из кишечника в кровь, обезвреживает многие вредные продукты промежуточного и конечного обмена веществ, инактивирует гормоны, биогенные амины, лекарственные препараты [1–4].

В связи с многочисленными функциями печени и особенностями ее расположения относительно других органов она чаще подвергается негативному влиянию различных факторов, что

приводит к развитию патологических процессов и метаболическим нарушениям в организме [2].

Одним из факторов, препятствующих максимальному проявлению генетически обусловленной плодовитости зверей, является нарушение функциональной деятельности печени и общего обмена веществ. Причиной этого является скормливание недоброкачественных кормов, несоответствующий уровень кормления, нарушение белково-липидного соотношения, дефицит витаминов и источников полноценного белка, что ведет к нарушению процесса мехообразования, снижению качества меха и недополучению пушнины [5].

Перспективным способом повышения ценности и безопасности кормов, нормализации обмена веществ пушных зверей в условиях недостаточности кормовой базы и лекарственных средств является использование специальных биологически активных добавок в рационах кормления пушных зверей [5, 6].

Различные окрасочные генотипы норок, полученные в ходе промышленной domestikации, не только характеризуются большим разнообразием

окрасок меха, но и различаются между собой по ряду морфологических и физиологических признаков [7].

Поэтому необходимы знания закономерностей структурной организации печени у новорожденных норчат различных окрасочных генотипов, что будет способствовать выяснению механизмов, обеспечивающих прогрессивное и регрессивное развитие печени [8].

В связи с этим является актуальным изучение особенностей морфологии печени американской норки различных генотипов в процессе постэмбрионального онтогенеза в норме и при воздействии биологически активного препарата биостил [9].

Цель исследования – изучить морфологические особенности печени американской норки генотипов Standard (+/+ +/+), Sapphire (a/a p/p), Lavender (a/a m/m) в возрасте 1 сутки в норме и при воздействии биостила.

## ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Объектом исследования являлись норчата в возрасте 1 сутки генотипов Standard (+/+ +/+), Sapphire (a/a p/p), Lavender (a/a m/m), которые были поделены на опытные и контрольные группы (табл. 1). Исследование проводилось на экспериментальной звероферме Института цитологии и генетики СО РАН (ЦКП Генофонды пушных и сельскохозяйственных животных), кафедре акушерства, анатомии и гистологии ФГБОУ ВО Новосибирский ГАУ.

Таблица 1

Количество животных в группах

| Генотип            | Опытная группа | Контрольная группа |
|--------------------|----------------|--------------------|
| Standard (+/+ +/+) | 67             | 58                 |
| Sapphire (a/a p/p) | 52             | 85                 |
| Lavender (a/a m/m) | 28             | 81                 |

Родители особей опытной группы в период гона получали биостил с кормом в дозе 0,05 мл/кг массы тела в течение 5 дней трехкратно через день. Родители животных контрольной группы препарат не получали.

Для изучения морфологических особенностей печени новорожденных норчат проводили эвтаназию (по 3 головы из каждой группы) с соблюдением правил «Европейской Конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях» (Страсбург, 18 марта 1986 г.). Остальные животные использовались

в последующих опытах для изучения особенностей морфогенеза печени американской норки в различные периоды постнатального онтогенеза.

При препарировании обращали внимание на топографию печени, определяли её абсолютную и относительную массу.

Материал обрабатывали методом классической гистологии. Парафиновые блоки нарезали на санном микротоме. Срезы окрашивали гематоксилин-эозином. Гистологическое строение печени изучали при помощи микроскопа Carl Zeiss Primo Star. Морфометрические исследования проводили в программе Zeiss Efficient Navigation (ZEN). Определяли площадь гепатоцита, площадь ядра, ядерно-цитоплазматическое соотношение (Я/Ц); подсчитывали клетки крови в 10 полях зрения при увеличении объектива 40x10.

Обработку цифрового материала осуществляли методом вариационной статистики с использованием стандартной программы Microsoft Excel. Достоверность различий сравниваемых величин определяли по t-критерию Стьюдента.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Печень у норок расположена в брюшной полости позади диафрагмы. На поверхности долей имеются вдавливания, образованные под действием прилегания органов брюшной полости. Печень состоит из пяти долей: левая латеральная и медиальная, хвостовая, квадратная, правая латеральная и медиальная. На висцеральной поверхности выделяются воротная вена и желчный пузырь. Печеночные вырезки глубокие и доходят до входа в ворота печени (рис. 1).

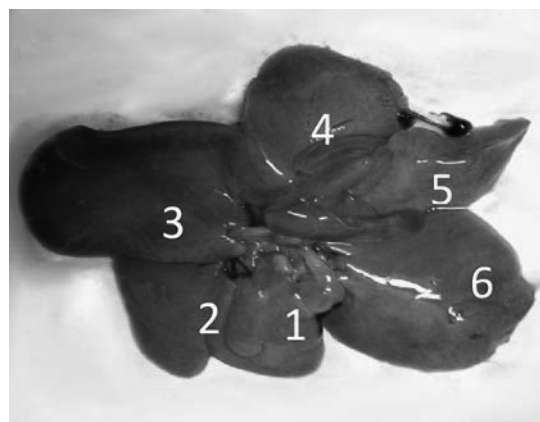


Рис. 1. Внешний вид печени:

1 – квадратная доля; 2 – левая медиальная; 3 – левая латеральная; 4 – правая латеральная; 5 – хвостовая; 6 – правая медиальная доля

Определена абсолютная и относительная масса печени новорожденных норчат (табл. 2).

Таблица 2

**Абсолютная и относительная масса печени**

| Генотип            | Масса тела, г                        | Абсолютная масса печени, г             | Относительная масса печени, %          |
|--------------------|--------------------------------------|----------------------------------------|----------------------------------------|
| Standart (+/+ +/+) | $10,43 \pm 1,40$<br>$8,76 \pm 1,19$  | $0,64 \pm 0,05^*$<br>$0,38 \pm 0,08^*$ | $6,48 \pm 1,02$<br>$4,28 \pm 0,03$     |
| Sapphire (a/a p/p) | $9,65 \pm 0,50$<br>$9,36 \pm 0,31$   | $0,46 \pm 0,03^*$<br>$0,34 \pm 0,03^*$ | $4,74 \pm 0,05^*$<br>$3,66 \pm 0,20^*$ |
| Lavender (a/a m/m) | $11,20 \pm 0,20$<br>$11,94 \pm 0,17$ | $0,71 \pm 0,04$<br>$0,61 \pm 0,01$     | $6,30 \pm 0,44$<br>$5,11 \pm 0,07$     |

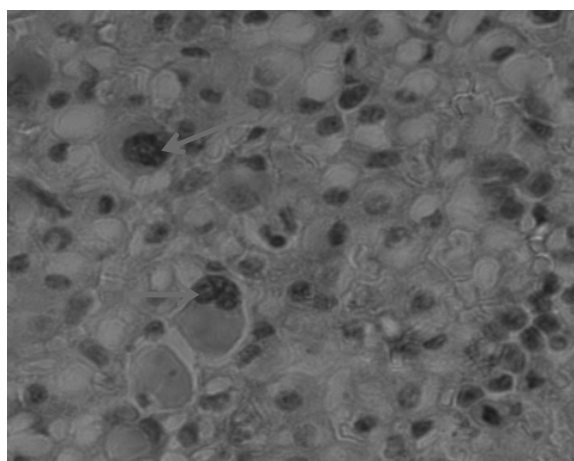
Примечание. Здесь и далее: в числителе – контрольная группа, в знаменателе – опытная; \*  $P < 0,05$ .

Абсолютная масса печени по отношению к массе тела у новорожденных норчат контрольной группы была больше, чем у особей опытной.

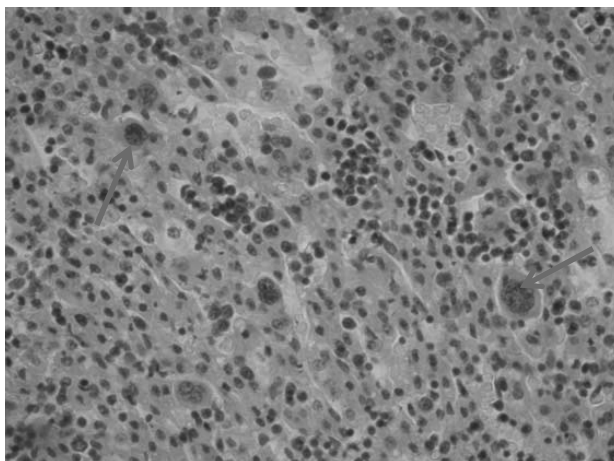
При гистологическом исследовании печени новорожденных норчат контрольной группы установлено, что рисунок дольчатого строения не выражен, балочного строения – сглажен. Хорошо просматриваются синусоиды, клетки Купфера.

В опытной группе также просматриваются синусоиды, клетки Купфера, хорошо выражено балочное строение.

В синусоидах опытной и контрольной групп обнаруживаются кроветворные клетки (мегакарициты (предшественники тромбоцитов) и эозинофильные нормобласты (предшественники эритроцитов) (рис. 2).



а



б

Рис. 2. Печень новорожденных норчат:

а – контрольной группы; б – опытной. Окраска гематоксилин-эозином. х 400. Генотип Lavender. Кроветворные клетки

С целью оценки степени кроветворной функции у особей исследуемых групп подсчитывали количество кроветворных клеток в 10 полях зрения при увеличении объектива 40х10 (табл. 3). Установлено, что процесс кроветворения более активен у щенков генотипа Lavender (a/a m/m).

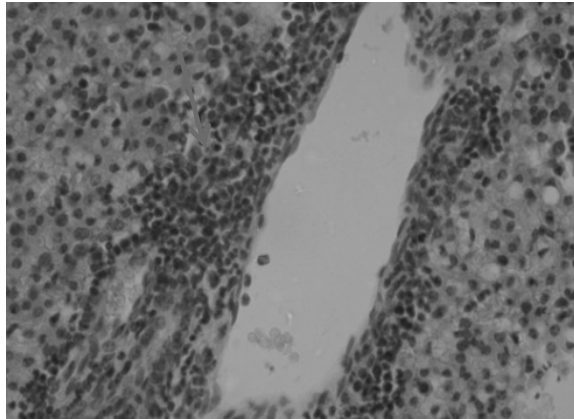
Таблица 3

**Количество кроветворных клеток на единицу площади**

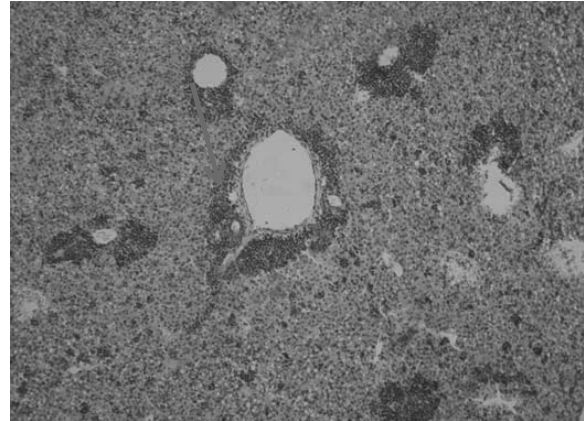
| Генотип            | Количество кроветворных клеток в 10 полях зрения, шт. |                    |
|--------------------|-------------------------------------------------------|--------------------|
|                    | опытная группа                                        | контрольная группа |
| Standart (+/+ +/+) | $1,10 \pm 0,19$                                       | $1,10 \pm 0,22$    |
| Sapphire (a/a p/p) | $0,90 \pm 0,17^*$                                     | $1,03 \pm 0,16$    |
| Lavender (a/a m/m) | $1,70 \pm 0,20^*$                                     | $1,60 \pm 0,28$    |

У особей контрольной и опытной групп выявляются очаги миелоидного роста. Данные по особенностям кроветворения у норчат в доступной литературе мы не обнаружили. В медицинских источниках (справочники, учебные пособия, учебники, научные статьи) указывается, что с 30–36-й недели внутриутробного развития кроветворение осуществляется преимущественно в костном мозге, а гемопоэз в печени резко снижается. Однако несколько участков кроветворной ткани в печени остается в течение 1–2 недель после рождения. Гемопоэз в печени может быть выражен у недоношенных детей.

Под капсулой, в периваскулярном пространстве, в области триад имеются мононуклеарные инфильтраты (рис. 3).



а



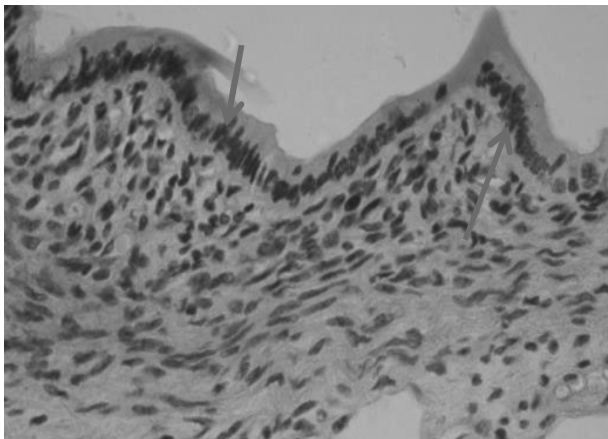
б

Рис. 3. Печень новорожденных норок:

а – контрольная группа; б – опытная. Генотип Standart. Окраска гематоксин-эозином. x100. Периваскулярные инфильтраты

Клетки эпителиального покрова слизистой оболочки желчных протоков цилиндрической формы, ядра расположены базально, имеется большое количество фигур митоза (рис. 4).

Гепатоциты у норок изучаемых генотипов многоугольной формы, преимущественно одноядерные (рис. 5). У норок опытной группы более выражено балочное строение (рис. 6).



а

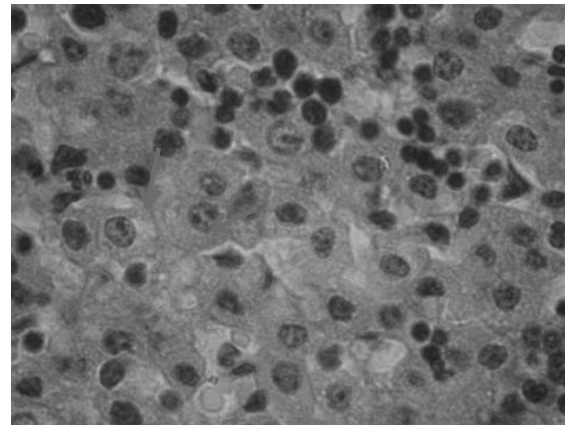
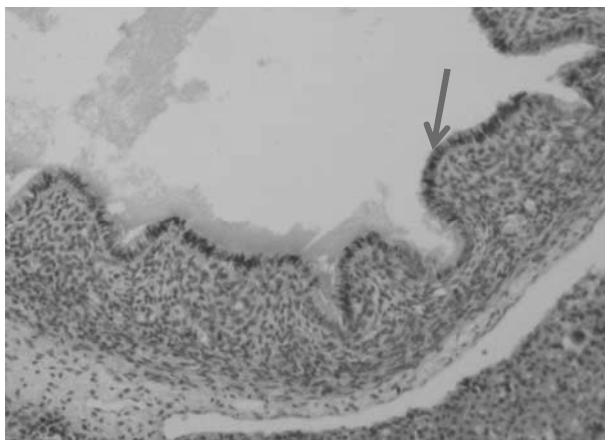


Рис. 5. Печень новорожденных норок контрольной группы. Генотип Lavender. Гепатоциты. Окраска гематоксин-эозином. x1000



б

Рис. 4. Печень новорожденных норок:

а – контрольная группа; б – опытная. Генотип Sapphire. Проплиферация эпителия желчного протока. Окраска гематоксин-эозином. x100

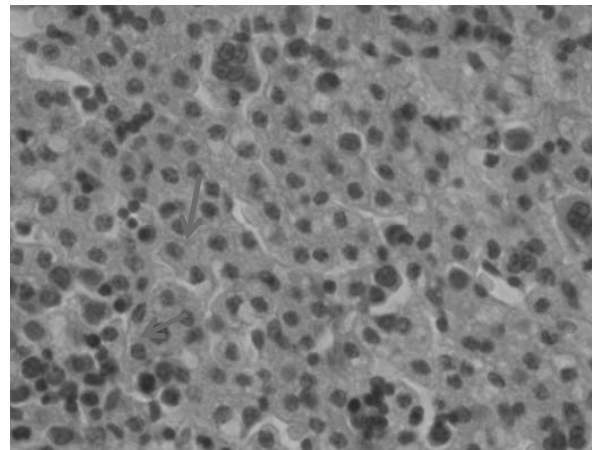


Рис. 6. Печень новорожденных норок опытной группы. Гепатоциты. Генотип Standart. Окраска гематоксин-эозином. x400

Морфометрические показатели гепатоцитов у новорожденных опытной и контрольной групп отличались. У особей контрольной группы разных генотипов площадь гепатоцита имела сходные значения и не превышала 47,

ядра – 16, цитоплазмы – 32 мкм<sup>2</sup>. В опытной группе показатели варьировали и достоверно превышали значения контрольной группы: – 55; 14 и 40 мкм<sup>2</sup> соответственно (P<0,05) (табл. 4).

Таблица 4

Морфометрические показатели гепатоцитов

| Генотип            | Площадь ядра, мкм <sup>2</sup> | Площадь гепатоцита, мкм <sup>2</sup> | Площадь цитоплазмы, мкм <sup>2</sup> | Я/Ц                          |
|--------------------|--------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|------------------------------|
| Standart (+/+ +/+) | 14,71±0,08<br>14,99±0,20       | 45,75±0,51*<br>50,44±0,74*           | 31,38±0,29*<br>35,47±0,62*           | 0,470±0,005*<br>0,430±0,006* |
| Sapphire (a/a p/p) | 14,73±0,05<br>14,77±0,17       | 46,63±0,20*<br>48,75±0,52*           | 31,95±0,57*<br>33,98±0,41*           | 0,460±0,003*<br>0,440±0,005* |
| Lavender (a/a m/m) | 15,28±0,20<br>14,69±0,23       | 46,36±0,70*<br>55,21±1,27*           | 31,06±0,57*<br>40,03±1,13*           | 0,490±0,010*<br>0,380±0,010* |

Отмечено, что площадь гепатоцита, площадь его цитоплазмы достоверно выше у особей опытной группы генотипа Lavender в сравнении с другими генотипами. Соответственно Я/Ц уменьшено.

Ядерно-цитоплазматическое соотношение позволяет оценить функциональное состояние клеток, тканей, органов в процессе онтогенеза. У новорожденных норков исследуемых окрасочных генотипов, по данным табл. 4, Я/Ц составляет в среднем 0,5 и указывает на достаточно большие размеры ядра гепатоцитов в данном возрасте у данного вида. Кроме того, величина Я/Ц варьирует в зависимости от генотипической принадлежности особей.

Во многих литературных источниках указывается на изменение Я/Ц в зависимости от возраста. Так, у новорожденных ягнят (1–3 дня) оно составляет 0,23, у баранчиков 4–5-месячного возраста – 0,17, баранов 3–5-летних – 0,14 [10].

## ВЫВОДЫ

1. Для новорожденных норчат характерно наличие в паренхиме печени мегакариоцитов и нрмобластов, а также медуллярных очагов кроветворения. Это говорит о том, что процессы кроветворения в печени норков в суточном возрасте не заканчиваются.

2. Остаточные очаги кроветворения наиболее выражены в печени норчат генотипа Lavender (a/a m/m).

3. Наличие пролиферативных процессов в структурах печени (желчном протоке, периваскулярном и подкапсульном пространстве), высокое значение Я/Ц указывает на высокую интенсивность пластических и регенераторных процессов в печени новорожденных норков.

4. Показатель Я/Ц зависит от многих факторов и, очевидно, может иметь вариативные значения в зависимости от видовой и генотипической принадлежности животного.

## БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Андреева С.Д., Шестакова А.Н., Сапожников А.Ф. Анатомо-физиологическая характеристика и методы исследования печени у животных. – Киров, 2012. – 112 с.
2. Шавырин Д.И. Функционально-морфологические изменения в печени плотоядных животных при нарушении обмена веществ: автореф. дис. ... канд. вет. наук. – М., 2009. – 23 с.
3. Курилкин В.В. Морфофункциональные показатели печени кур в постэмбриональном онтогенезе: автореф. дис. ... канд. биол. наук. – М., 2011. – 16 с.
4. Тяпкина Е.В., Фомин О.А. Влияние биологически активных соединений на метаболические функции печени // Молодой ученый. – 2015. – № 7 (87). – С. 1048–1051.
5. Валиуллина Д.А., Михайлова Р.И. Комплексный препарат Микробонд в кормлении норков // Уч. зап. Казан. гос. акад. вет. медицины им. Н.Э. Баумана. – 2011. – № 205. – С. 31–36.
6. Зотова А.С. Динамика морфофункциональных изменений в печени в норме и при гепатозе норков: автореф. дис. ... канд. вет. наук. – Иваново, 2006. – 17 с.

7. Трапезов О.В. Регуляторные эффекты генов поведения и управление окрасочным формообразованием у американских норок (*Mustela vison* Schreber, 1777) // Информ. вестн. ВОГиС. – 2008. – Т. 12, № 1/2. – С. 63–82.
  8. Ткачев Д.А. Постнатальный морфогенез кур кросса «Иза-Браун»: автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Ставрополь, 2007. – 21 с.
  9. Распутина О.В., Земляницкая Е.И., Наумкин И.В. Использование биостила в системе органического сельского хозяйства // Материалы междунар. науч.-практ. конф. «Агротуризм в России». – Улан-Удэ, 2014. – С. 103–108.
  10. Убашеев О.И. Анатомо-гистологическая характеристика печени бурятской грубошерстной овцы: автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Улан-Удэ, 2003. – 23 с.
1. Andreeva S.D., Shestakova A.N., Sapozhnikov A.F. *Anatomo-fiziologicheskaya kharakteristika i metody issledovaniya pecheni u zhivotnykh* [Anatomical and physiological characteristics and methods of the study of the liver in animals]. Kirov, 2012. 112 p.
  2. Shavyrin D.I. *Funktsional'no-morfologicheskie izmeneniya v pecheni plotoyadnykh zhivotnykh pri narushenii obmena veshchestv* [Abstract of dissertation]. Moscow, 2009. 23 p.
  3. Kurilkin V.V. *Morfofunktsional'nye pokazateli pecheni kur v postembrional'nom ontogeneze* [Abstract of dissertation]. Moscow, 2011. 16 p.
  4. Tyapkina E.V., Fomin O.A. *Molodoy uchenyy*, no.7 (87) (2015): 1048–1051.
  5. Valiullina D.A., Mikhaylova R.I. *Uchenye zapiski Kazanskoy gosudarstvennoy akademii veterinarnoy meditsiny im. N.E. Baumana*, no. 205 (2011): 31–36.
  6. Zotova A.S. *Dinamika morfofunktsional'nykh izmeneniy v pecheni v norme i pri gepatoze norok* [Abstract of dissertation]. Ivanovo, 2006. 17 p.
  7. Trapezov O.V. *Informatsionnyy vestnik VOGiS* [Vavilov Journal of Genetics and Breeding], T. 12, № 1/2 (2008): 63–82.
  8. Tkachev D.A. *Postnatal'nyy morfogenez kur krossa «Iza-Braun»* [Abstract of dissertation]. Stavropol', 2007. 21 p.
  9. Rasputina O.V., Zemlyanitskaya E.I., Naumkin I.V. *Ispol'zovanie biostila v sisteme organicheskogo sel'skogo khozyaystva* [Materials of conference]. Ulan-Ude, 2014. pp. 103–108.
  10. Ubasheev O.I. *Anatomo-gistologicheskaya kharakteristika pecheni buryatskoy grubosherstnoy ovtsy* [Abstract of dissertation]. Ulan-Ude, 2003. 23 p.

# **MORPHOLOGICAL PARAMETERS OF NEWLY BORN MINKS' LIVER OF DIFFERENT MARKING IN THE CONTROL GROUP AND IN THE EXPERIMENTAL ONE INFLUENCED BIOSTEEL**

**Isakova M.B., Rasputina O.V., Naumkin I.B.**

*Key words:* American mink (*Mustela vison*), marking genotype, hepatocyte, gall duct, proliferation, blood cells, biosteel

*Abstract.* The article explores the morphological features of liver structure of newly born American minks with Standard (+/+ +/+) marking, Sapphire (a/a p/p) marking and Lavender (a/a m/m) one in the standard variant and enhanced by biologically active specimen Biosteel. The investigated minks were divided into experimental and control groups of three marking genotypes. The minks from experimental group were bred from the parents fed with Biosteel a week before estrus during 5 days and during estrus 3 days dosed 0.05 ml/kg of body weight. The researchers didn't feed the parents of experimental minks with Biosteel. The authors focused on anatomical and topographical parameters of liver, histological structure, the number of hemopoietic cells, morphometric parameters of hepatocytes and nucleoplasmic ratio. The authors found out that liver of minks aged 1 day is blood-forming; the authors observed the liver and noted intensive plastic and regeneration processes with intensive proliferation in the liver structure (gall duct, perivascular and subcapsule space) and high nucleoplasmic ratio. This parameter can have variations according to animal species and genotype.