

УДК 619:611.36.018:636.934.57

ГИСТОЛОГИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА ПЕЧЕНИ АМЕРИКАНСКОЙ НОРКИ РАЗЛИЧНЫХ ОКРАСОЧНЫХ ГЕНОТИПОВ В ПЕРИОД ПОСТНАТАЛЬНОГО ОНТОГЕНЕЗА

М. Б. Исакова, аспирант

О. В. Распутина, доктор ветеринарных наук, профессор

И. В. Наумкин, кандидат биологических наук

Новосибирский государственный аграрный
университет, Новосибирск, Россия

E-mail: marka_701@mail.ru

Ключевые слова: печень, гепатоцит, норка американская, Я/Ц, генотип, триада, балки, синусоиды, желчный проток

Реферат. Изучены анатомо-гистологические и морфометрические показатели печени у самцов и самок американской норки в возрасте 3 месяцев окрасочных генотипов *Standard* (+/+ +/+), *Sapphire* (a/a p/p), *Lavender* (a/a m/m). При исследованиях акцентировали внимание на выраженности дольчатого строения, сформированности триад, радиальности балочного строения, форме и морфометрических показателях гепатоцитов, ядерно-цитоплазматическом индексе гепатоцитов. В результате исследования было установлено, что гистологическая структура печени у американских норок генотипов *Standart*, *Sapphire* и *Lavender* в 3-месячном возрасте характеризуется слабым развитием междольковой соединительной ткани; сформированностью портальных трактов; междольковые артерии мышечно-эластического типа с хорошо развитой эластической мембраной; междольковые желчные протоки разветвленные, выстланы кубическим и цилиндрическим эпителием с микроворсинками на апикальном полюсе; балочное расположение гепатоцитов ярко проявляется в гистоструктуре печени американской норки генотипа *Lavender*. Гепатоциты имеют характерную многоугольную форму, содержат одно ядро округлой или овальной формы, плотно прилегают друг к другу и имеют четкие границы, в цитоплазме содержится гликоген. Площадь гепатоцита у самок различных окрасочных генотипов колеблется от $71,33 \pm 0,50$ до $77,78 \pm 0,35$, у самцов – от $74,79 \pm 0,51$ до $77,25 \pm 0,31$ мкм. Площадь гепатоцита, цитоплазмы у самок и самцов генотипа *Lavender*, а также площадь ядра у самок данного генотипа значительно меньше в сравнении с особями других генотипов. Морфометрические показатели гепатоцитов у американской норки имеют некоторые генотипические особенности, наиболее выраженные у самок и самцов генотипа *Lavender*.

HYSTOLOGICAL STRUCTURE OF THE LIVER OF AMERICAN MINK OF DIFFERENT COLOUR GENOTYPES IN THE PERIOD OF POSTNATAL ONTOGENESIS

Isakova M.B., PhD-student

Rasputina O.V., Dr. of Veterinary Sc., Professor

Naumkin I.V., Candidate of Biology

Novosibirsk State Agrarian University, Novosibirsk, Russia

Key words: liver, hepatocyte, American mink, nuclear cytoplasm, genotype, triad, balks, sinusoidal capillary, biliary passage.

Abstract. The paper explores anatomic and hystological and morphometric parameters of liver of American mink he-males and she-males aged 3 months. The authors explored the minks of colour genotypes *Standard* (+/+ +/+), *Sapphire* (a/a p/p) and *Lavender* (a/a m/m). The researchers focused on the intensity of lobulation, triad formation, radiality of balk structure, shape and morphometric parameters of hepatocytes, nucleocytoplasmic index of hepatocytes. The research results in conclusion that histological structure of the liver of *Standart*, *Sapphire* and *Lavender* American minks aged 3 months is characterized by slight development of interlobular connective tissue; formedness of portal triads; interlobular elastic-muscular arteries with well-

developed elastic membrane; brachiate interlobular biliary passages that and covered by cubic and cylinder epithelium with microvillus on the apical pole; balk position of hepatocytes revealed greatly in hystostructure of the liver of Lavender American mink. Hepatocytes have typical polyangular shape, contain an oval or round nuclear, fit each other and have strict borders; their cytoplasm contains glycogen. The square of hepatocyte of the she-males varies from 71.33 ± 0.50 to 77.78 ± 0.35 ; he-males - from 74.79 ± 0.51 to 77.25 ± 0.31 mkm. The square of cytoplasmic hepatocytes of Lavender she-males and he-males and the square of nuclear is rather less in comparison with the minks of other genotypes. Morphometric parameters of hepatocytes of American mink have some specific genotype features that are mostly expressed in Lavender he-males and she-males.

Печень представляет собой центральный орган гомеостаза и крупнейшую застенную железу. Морфофункциональные исследования печени необходимы, так как она выполняет детоксикационную функцию, играет важную роль в обмене веществ, синтезе белков и липопротеидов плазмы крови, конъюгации билирубина и образовании желчи и др. [1–8].

Выполнение этих сложных и разнообразных функций обеспечивается работой клеточных элементов ее паренхимы – гепатоцитов [9].

Одни функции печень выполняет путем обмена веществ с кровью, а другие – выделяя вырабатываемые ею продукты в кишечный канал. Необходимо отметить, что большинство указанных функций выполняется одними и теми же клетками – гепатоцитами, из которых построена паренхима печени. Поэтому каждая клетка имеет связь как с кровеносными сосудами, так и с выводными протоками. Это определяет гистологическое строение печени, совсем не похожее на строение какой-либо другой железы, и характерное расположение кровеносных сосудов, желчных протоков и рядов клеток в виде сетей. Печень является компактным органом. Ее строма формирует соединительнотканную капсулу, которая снаружи покрыта серозной оболочкой. В области ворот печени соединительная ткань капсулы проникает внутрь органа, разветвляется и делит его на доли. В соединительной междольковой ткани расположены артерия, вена и желчный проток, которые формируют триады. Междольковая соединительная ткань у большинства животных слабо выражена, за исключением свиней, у которых печеночные доли хорошо видны невооруженным глазом. При некоторых патологических состояниях междольковая соединительная ткань может выявляться вследствие активной пролиферации её фибробластических структур [9, 10].

Морфологической и функциональной единицей печени является печеночная доля. В центре доли размещена центральная вена. Частица построена из гепатоцитов, которые формируют печеночные балки. Балки имеют радиальное направление. Каждая печеночная балка состоит из

двух рядов печеночных клеток, между которыми формируются желобки, так называемые внутридольковые желчные капилляры, которые не имеют собственных стенок. Их стенками является плазмолемма двух соседних гепатоцитов [9].

Печень – один из немногих органов животного организма, для которых характерна полиплоидия как способ увеличения жизнеспособности, энергии, функциональной активности, уровня синтетических процессов. Она выражается в многоядерности и укрупнении ядер. Степень полиплоидии увеличивается с возрастом [9].

Важным фактором для создания алиментарного статуса организма является сбалансированное кормление. Несбалансированный и плохого качества рацион вызывает стойкие нарушения метаболизма, вследствие чего возникают хронические заболевания различных систем организма, включая гепатобилиарную [11].

Одной из составляющих улучшения качества рациона и нормализации метаболических процессов у пушных зверей в условиях недостаточности кормовой базы и лекарственных средств является использование специальных биологически активных добавок [12, 13]. Важной задачей при этом является не только улучшение качества рациона и обменных процессов при помощи БАВ, но и изучение динамики влияния этих веществ на организм животных.

В звероводческих хозяйствах в процессе промышленной domestikации норки были выведены их различные окрасочные генотипы, которые имеют не только вариации окрасок меха, но и отличаются между собой по ряду морфологических и других признаков [14, 15].

В связи с этим является актуальным изучение сравнительных морфометрических показателей печени у норок различных окрасочных генотипов в половом и возрастном аспектах, а также изменений ее гистоструктуры, возникающих при воздействии тех или иных факторов.

Цель исследования – изучить морфологические особенности печени самцов и самок американской норки генотипов Standard (+/+ +/+), Sapphire (a/a p/p), Lavender (a/a m/m) в возрасте 3 месяца.

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

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.

В опыте использовали самцов и самок клинически здоровых норок в возрасте 3 месяцев генотипов Standard (+/+ +/+), Sapphire (a/a p/p), Lavender (a/a m/m).

Для изучения морфологических особенностей печени проводили эвтаназию животных (по 6 голов каждого генотипа). Гистологические исследования проводили общепринятыми методами. Кусочки материала фиксировали в 10%-м водном растворе нейтрального формалина. Парафиновые блоки нарезали на санном микротоме. Срезы окрашивали гематоксилин-эозином по Ван Гизону. Гликоген определяли с помощью Шик-реакции (PAS). Наряду с общими гистологическими и гистохимическими исследованиями проводили морфометрические исследования гепатоцитов в программе Zeiss Efficient Navigation (ZEN). Определяли площадь гепатоцита, площадь ядра, ядерно-цитоплазматическое соотношение (Я/Ц). В работе использовали микроскоп Carl Zeiss Primo Star.

Обработку цифрового материала осуществляли методом вариационной статистики с использованием стандартной программы Microsoft Excel. При этом определяли среднюю арифметическую (M), статистическую ошибку средней арифметической (m). Достоверность различий сравниваемых величин определяли по t-критерию Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Структурно-функциональной единицей печени являются печеночные дольки, которые образуют ее паренхиму. У норок 3-месячного возраста границы долек не выражены в результате слабого развития соединительной междольковой ткани. На периферии долек, в междольковой соединительной ткани, находятся сосуды воротной вены, печеночной артерии и желчные протоки, которые образуют триады.

У норок изучаемых генотипов в данном возрасте триады хорошо выражены (рис. 1, 2). Структурные элементы оболочки междольковой

артерии, вены и желчного протока сформированы. Междольковая артерия – мышечно-эластического типа, с развитой эластической мембраной (рис. 3).

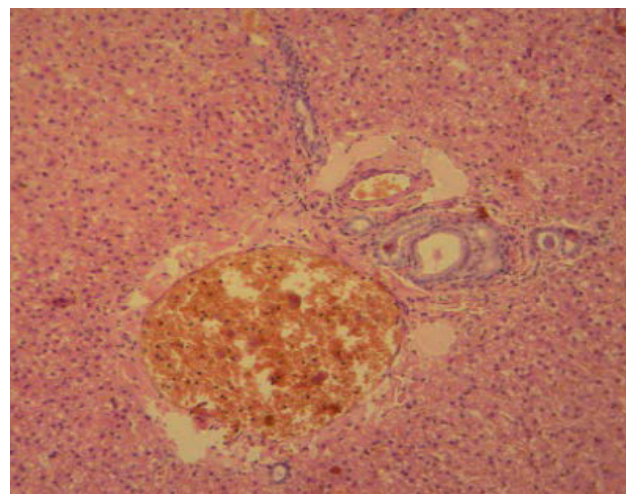


Рис. 1. Печень 3-месячных норок. Генотип Sapphire.
Окраска гематоксилин-эозином.
× 400. Триада
Liver of 3 months aged minks of Sapphire genotype.
Hematoxylin and eosin staining.
× 400. Triad

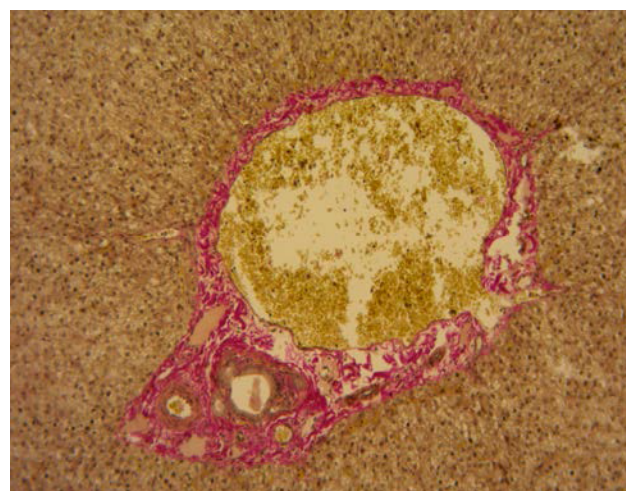


Рис. 2. Печень 3-месячных норок. Генотип Lavender.
Окраска по Ван-Гизону.
× 400. Триада. Коллагеновые волокна
Liver of 3 months aged minks of Lavender genotype.
Van Gieson's stain.
× 400. Triad. Collagen fiber

Междольковый желчный проток, в большинстве случаев разветвленный, выстлан однослойным кубическим или цилиндрическим эпителием, окружен оболочкой из эластических и коллагеновых элементов. На апикальном полюсе эпителиоцитов расположены микроворсинки (см. рис. 2, 3).

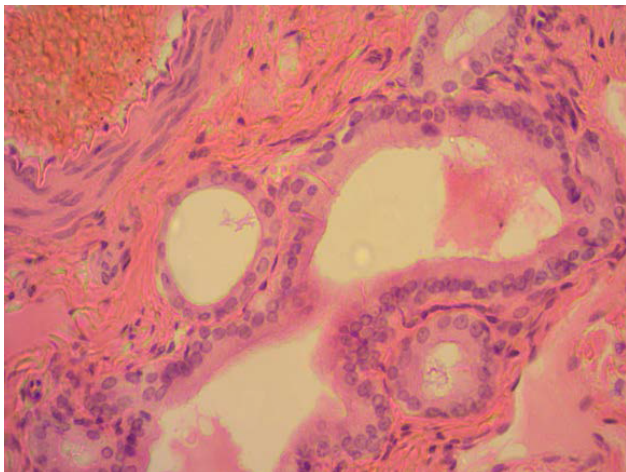
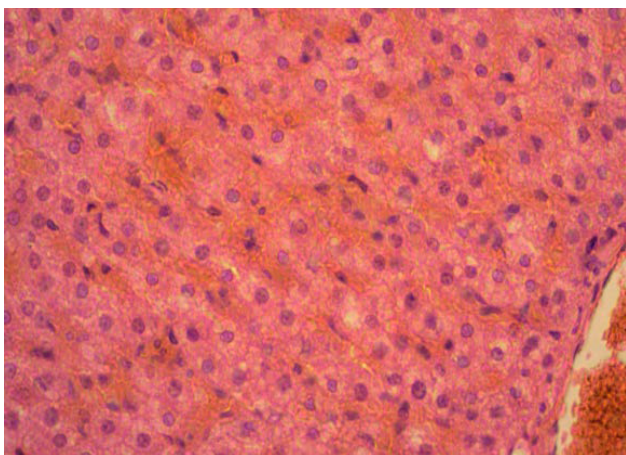
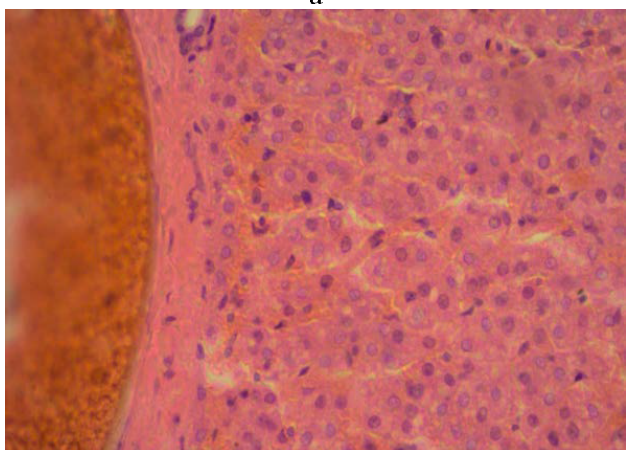


Рис. 3. Печень 3-месячных норок. Генотип Lavender. Окраска гематоксилин-эозином. $\times 400$.
Разветвленный желчный проток в триаде
Liver of 3 months aged minks of Lavender genotype. Hematoxylin and eosin staining. $\times 400$. Brachiate biliary passage in triad



а



б

Рис. 4. Печень 3-месячных норок: а – генотип Lavender; б – генотип Standard. Балочное строение. Окраска гематоксилин-эозином. $\times 400$
Liver of 3 months aged minks: а –Lavender genotype, б –Standard genotype. Balk structure. Hematoxylin and eosin staining. $\times 400$

Центральные вены расширены, кровенаполнены, мышечная оболочка дифференцируется. Дольки печени представлены печеночными балками, между которыми находятся синусоиды. Радиальное направление печеночных балок в дольках характерно для особей всех изучаемых генотипов, но более выражено у норок генотипа лаванда (рис. 4). Гепатоциты имеют многоугольную форму, содержат одно ядро округлой или овальной формы, плотно прилегают друг к другу и имеют четкие границы, в цитоплазме содержится гликоген (рис. 5, 6). В некоторых участках на периферии долек гепатоциты находятся в стадии вакуольной или зернистой дистрофии.

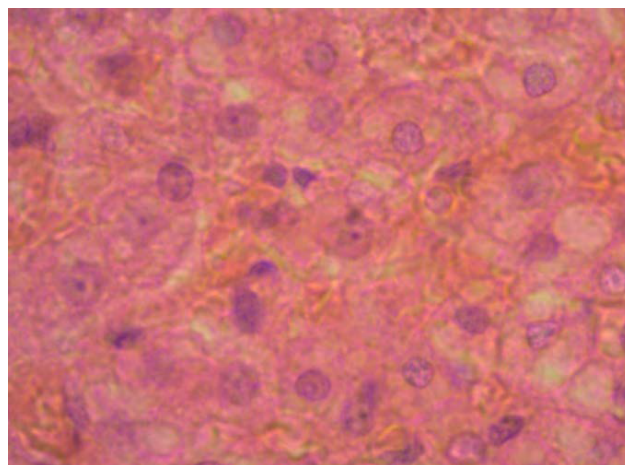


Рис. 5. Печень 3-месячных норок. Генотип Lavender. Гепатоциты.

Окраска гематоксилин-эозином. $\times 400$
Liver of 3 months aged minks of Lavender genotype. Hepatocytes. Hematoxylin and eosin staining. $\times 400$

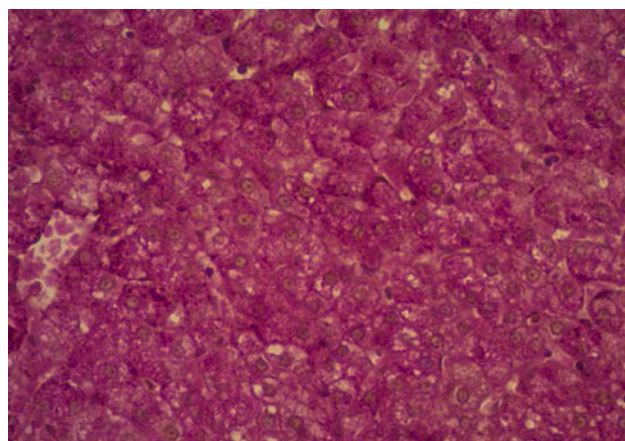


Рис. 6. Печень норок генотипа Lavender. Гликоген в цитоплазме гепатоцитов.

Шик-реакция. $\times 400$
Liver of Lavender genotype minks. Glycogen in cytoplasm of hepatocytes. Periodic acid Schiff reaction $\times 400$

Морфометрическая характеристика гепатоцитов у самцов и самок исследуемых генотипов представлена в таблице.

Морфометрические показатели гепатоцитов у американской норки в возрасте 3 месяца
Morphometric parameters of hepatocytes of American mink aged 3 months.

Генотип	Площадь гепатоцита, мкм ²	Площадь цитоплазмы, мкм ²	Площадь ядра, мкм ²	Я/Ц
Standart (+/+ +/+)	<u>76,66±0,32</u> 77,25±0,31	<u>50,79±0,34</u> 51,85±0,28	<u>25,88±0,30</u> 25,45±0,33	<u>0,51±0,01</u> 0,49±0,01
Sapphire (a/a p/p)	<u>77,78±0,35</u> 76,69±0,36	<u>53,52±0,35*</u> 50,95±0,32	<u>24,27±0,48</u> 25,74±0,37	<u>0,45±0,01*</u> 0,50±0,01
Lavender (a/a m/m)	<u>71,33±0,50*</u> 74,79±0,51	<u>48,36±0,34</u> 48,83±0,29	<u>22,99±0,39*</u> 25,97±0,42	<u>0,48±0,01*</u> 0,53±0,01

Примечание. В числителе – самки, в знаменателе – самцы. Достоверность различий между показателями у самцов и самок: * $P < 0,05$.

Площадь гепатоцита у самок различных генотипов колеблется от 71,33±0,50 до 77,78±0,35, у самцов – от 74,79±0,51 до 77,25±0,31 мкм. Обращают на себя внимание значительно меньшие размеры гепатоцитов и составляющих их структур у норок генотипа Lavender. Площадь гепатоцита, цитоплазмы у самок и самцов, а также площадь ядра у самок данного генотипа значительно меньше в сравнении с особями других генотипов ($P \leq 0,05$; $P \leq 0,01$).

Самое крупное ядро имеют гепатоциты самок генотипа Standart ($P \leq 0,05$), а увеличенные размеры цитоплазмы гепатоцитов – самки генотипа Sapphire ($P \leq 0,01$).

Наиболее высоким показателем соотношения между площадью ядра и цитоплазмы (Я/Ц) характеризуются гепатоциты самок Standart в сравнении с показателем в группе самок генотипа Sapphire и самцов Lavender в сравнении с аналогичной группой особей генотипа Standart ($P \leq 0,05$).

Выраженные отличия показателей между группами самцов и самок отмечены в пределах генотипа Lavender: у самок значения изучаемых показателей значительно ниже. Достоверных отличий показателей между группами самцов и самок генотипа Standart не выявлено.

ВЫВОДЫ

1. Гистологическая структура печени у американских норок генотипов Standart, Sapphire и Lavender в 3-месячном возрасте характеризуется следующими особенностями:

– междольковая соединительная ткань слабо развита;

– портальные тракты, триады сформированы;

– междольковые артерии мышечно-эластического типа с хорошо развитой эластической мембраной;

– междольковые желчные протоки разветвленные, выстланы кубическим и цилиндрическим эпителием с микроворсинками на апикальном полюсе;

– балочное расположение гепатоцитов ярко проявляется в гистоструктуре печени норок генотипа Lavender.

2. Гепатоциты имеют характерную многоугольную форму, содержат одно ядро округлой или овальной формы, плотно прилегают друг к другу и имеют четкие границы, в цитоплазме содержится гликоген.

3. Морфометрические показатели гепатоцитов у американской норки имеют некоторые генотипические особенности, наиболее выраженные у самок и самцов генотипа Lavender.

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. Курилкин В.В., Никитченко В.Е. Морфологическое строение печени кур // Вестн. РУДН. Сер. Агрономия и животноводство. – 2011. – № 4. – С. 77–87.

5. Тяпкина Е.В., Фомин О.А. Влияние биологически активных соединений на метаболические функции печени // Молодой ученый. – 2015. – № 7 (87). – С. 1048–1051.
6. Азизова М.А. Морфология и некоторые морфометрические параметры печени лабораторных животных с различным характером питания // Наука молодых. – 2016. – № 2. – С. 6–13.
7. Азизова М.А. Изучение морфологии и некоторых морфометрических показателей у травоядных, плотоядных и всеядных лабораторных животных // Вестн. Совета молодых учёных и специалистов Челябинской области. – 2015. – Т. 1, № 4 (11). – С. 3–9.
8. Антопольская Е.В., Швейнов И.А. Морфометрические показатели состояния ткани печени при полиорганной недостаточности на фоне острой патологии органов брюшной полости // Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». – 2009. – № 4. – С. 76–80.
9. Гуральская С.В., Горальский Л.П. Гистоморфология и морфометрические параметры печени домашних животных // Уч. зап. УО ВГАВМ. – 2014. – № 2. – С. 144–148.
10. Лебедева Л.И. Морфометрические показатели гепатоцитов белых крыс и человека при токсическом циррозе печени // Universum: Медицина и фармакология: электрон. научн. журн. – 2015. – № 7–8 (19).
11. Бивалькевич Н.В., Караман Ю.А., Гвозденко Т.А. Характеристика плоидности гепатоцитов крыс в условиях высокожирового рациона // Бюл. СО РАМН. – 2012. – № 2. – С. 23–28.
12. Валиуллина Д.А., Михайлова Р.И. Комплексный препарат Микробонд в кормлении норок // Уч. зап. Казан. гос. акад. вет. медицины им. Н.Э. Баумана. – 2011. – № 205. – С. 31–36.
13. Зотова А.С. Динамика морфологических изменений печени в норме и при гепатозе норок: автореф. дис. ... канд. вет. наук. – Иваново, 2006. – 17 с.
14. Особенности структуры лейкоцитов крови норок различных генотипов (*Mustela vison* Scheber, 1777) / Л.Б. Узенбаева, А.Г. Голубева, В.А. Илюха, Н.Н. Тютюнник // Вестн. ВОГиК. – 2007. – № 1. – С. 155–161.
15. Трапезов О.В. Регуляторные эффекты генов и управление окрасочным формообразованием у американских норок (*Mustela vison* Scheber, 1777) // Информ. вестн. ВОГиС. – 2008. – Т. 12, № 1/2. – С. 63–82.

REFERENCES

1. Andreeva S.D., Shestakova A.N., Sapozhnikov A.F. *Anatomo-fiziologicheskaja harakteristika i metody issledovaniya pecheni u zhivotnyh* [Anatomico-physiological characteristics and methods of investigation of the liver in animals]. Kirov, 2012. 112 p. (In Russ.).
2. Shavyrin D.I. *Funkcional'no-morfologicheskie izmeneniya v pecheni plotojadnyh zhivotnyh pri narushenii obmena veshhestv* [Functional-morphological changes in the liver of carnivorous animals with metabolic disorders]. Moscow, 2009. 23 p. (In Russ.).
3. Kurilkin V.V. *Morfofunkcional'nye pokazateli pecheni kur v postjembrional'nom ontogeneze* [Morphofunctional parameters of chicken liver in postembryonic ontogenesis]. Moscow, 2011. 16 p. (In Russ.).
4. Kurilkin V.V., Nikitchenko V.E. *Vestnik RUDN, serija Agronomija i zhivotnovodstvo*, no. 4 (2011): 77–87. (In Russ.).
5. Tjapkina E.V., Fomin O.A. *Molodoj uchenyj*, no. 7 (87) (2015): 1048–1051. (In Russ.).
6. Azizova M.A. *Nauka molodyh*, no. 2 (2016): 6–13. (In Russ.).
7. Azizova M.A. *Vestnik Soveta molodyh uchjonyh i specialistov Cheljabinskoj oblasti*, T.1, no. 4 (11) (2015): 3–9. (In Russ.).
8. Antopol'skaja E.V., Shvejnov I.A. *Kurskij nauchno-prakticheskij vestnik «Chelovek i ego zdorov'e»*, no. 4 (2009): 76–80. (In Russ.).
9. Gural'skaja S.V., Goral'skij L.P. *Uchenye Zapiski UO VGAVM*, no. 2 (2014): 144–148. (In Russ.).
10. Lebedeva L.I. *Universum: Medicina i farmakologija: jelektron. nauchn. zhurnal*, no. 7–8 (19) (2015). (In Russ.).
11. Bival'kevich N.V., Karaman Ju.A., Gvozdenko T.A. *Bjulleten» SO RAMN*, no. 2 (2012): 23–28. (In Russ.).
12. Valiullina D.A., Mihajlova R.I. *Uchenye zapiski Kazanskoj gosudarstvennoj akademii veterinarnoj mediciny im. N. Je. Baumana*, no. 205 (2011): 31–36. (In Russ.).
13. Zotova A.S. *Dinamika morfofunkcional'nyh pecheni v norme i pri gepatoze norok* [Dynamics of morphofunctional liver in norm and in hepatosis of mink]. Ivanovo, 2006. 17 p. (In Russ.).
14. Uzenbaeva L.B., Golubeva A.G., Iljuha V.A., Tjutjunnik N.N. *Vestnik VOGiK*, no. 1 (2007): 155–161. (In Russ.).
15. Trapezov O.V. *Informatsionnyy vestnik VOGiS*, T. 12, no. 1/2 (2008): 63–82. (In Russ.).