

Морфологическая характеристика печени оленей ненецкой породы при применении различных типов кормления

Г.В. Новак, аспирант, Л.Ф. Бодрова, д.в.н.,
ФГОУ ВПО Омский ГАУ

Основной биологической особенностью северных оленей является способность приспосабливаться к резким сезонным климатическим и кормовым колебаниям Крайнего Севера [1, 2]. В летний период основу питания животных составляет зелёная растительность, в зимний и ранневесенний период существенную долю рациона занимают лишайники, которые олени вынуждены добывать из-под снега [3, 7]. Несмотря на свою кормовую значимость в рационе, лишайники крайне бедны белками, минеральными веществами и витаминами [4]. Сезонный недостаток поступления в организм питательных веществ при одновременном их интенсивном расходе находит своё отражение в физиологии животных, и конечно, в постоянно меняющейся морфологической структуре отдельных органов [8–10].

Печень, являясь ключевым звеном поддержания гомеостаза организма, чётко реагирует на изменения условий внешней среды, что является причиной изменения структуры и функциональной способности последней [10]. Следует отметить, что данных по сравнительной оценке структуры печени домашних северных оленей в зависимости от особенностей питания в условиях зимних пастбищ крайне мало, хотя результаты комплексных исследований могут способствовать изысканию более эффективных способов содержания и кормления животных.

Цель исследования — изучить влияние различных типов кормления северных оленей в зимний период на морфологическую структуру печени животных.

Материалы и методы исследования. Экспериментальный опыт проведён в зимний период в оленеводческом хозяйстве ОАО «Салехардагро» Ямало-Ненецкого автономного округа (2012–2013 гг.). Объектом исследования были одомашненные северные олени ненецкой породы (*Rangifer tarandus* L.) при стадной системе выпаса животных. Из групп животных-аналогов в возрасте 2,5 года были сформированы контрольная и опытная группы (по 60 гол.). Северным оленям в течение 60 сут. изменялись различные типы кормления.

Олени опытной группы находились на пастбищно-концентратном типе кормления, а животные контрольной группы — на пастбищном типе кормления. Олени контрольной группы получали подснежный пастбищный корм с ОЭ 10,7 мДж/кг (2555 ккал/кг), сырого протеина 14,11%, сырой клетчатки — 17,51%. Олени опытной группы помимо подснежного пастбищного корма получали комбинированный корм с ОЭ 10,35 мДж/кг (2472 ккал/кг), сырого протеина 15,06%, сырой клетчатки — 8,14%.

Дача комбинированного корма животным опытной группы осуществлялась постепенно и дробно. В первые 10 сут. экспериментального опыта суточная норма составляла 60 г/гол. При отсутствии диареи, атонии, гипотонии и тимпании преджелудков количество комбинированного корма увеличили до 260 г/гол. В последние 10 сут. при отсутствии признаков расстройства со стороны пищеварительной системы животные получали комбинированный корм в количестве до 1,1 кг/гол в сутки. По истечении подготовительного периода олени принимали комбинированный корм до 2,1 кг/гол до окончания экспериментального опыта.

Для изучения структуры печени в возрасте 2,7 года у северных оленей контрольной и опытной групп после убоя был взят материал (кусочки печени), который фиксировали в 4-процентном нейтральном растворе формальдегида. Уплотнение материала проводили заливкой в парафин. Для приготовления срезов (толщина 5–7 мкм) использовали санный микротом МС-2. Структуру печени изучали с помощью окраски гематоксилином и эозином. Полихромный метод окраски был применён для выявления общей гистоструктуры органов [5, 6]. Эластические волокна определяли по Вейгерту, коллагеновые — по Маллори, волокнистую соединительную ткань — по Ван-Гизону. Для гистохимических исследований использовали окраску по Микель-Кальво, с помощью которой выявляли основные и кислые белки. Дифференциацию углеводов проводили ШИК-реакцией по Шабадашу, по методу Г.И. Роскина. Для контроля использовали препараты, обработанные амилазой слюны. Сульфатированные и карбоксилированные гликозаминогликаны выявляли по Сиддмену и Шубичу. Нуклеиновые кислоты выявляли по Эйнарсону, для их дифференциации применили окраску по Браше. Для обнаружения нейтрального жира и липопротеидов срезы готовили на замораживающем столике ТОС-2 (толщина 15–20 мкм). Срезы окрашивали суданом III и IV по Лилли с докраской гематоксилином [8]. Площади ядра клеток печени и гепатоцитов измеряли с помощью окуляр-микрометра МОВ 1–15*. Полученный цифровой материал статистически анализировали с применением стандартных методик по Стьюденту.

Результаты исследования. Печень представляет собой плоский и вытянутый орган бурокрасноватого цвета. Расположена в правом подреберье. Краниальная её поверхность гладкая и выпуклая, а каудальная — вогнутая и имеет слабо выраженную дольчатость. Вентральный край органа тонкий. На середине каудальной поверхности является углубление (ворота печени), через которое

входят воротная печень, печеночная артерия, нервы и выходит печёночный проток. Снаружи орган покрыт серозной оболочкой, которая и образует связки печени. Длина печени колеблется от 24 до 32, а её ширина — от 11 до 13 см. Масса органа исследуемых животных 1520–1660 г.

У оленей в возрасте 2,5 года (начало опыта) гистологическая и гистохимическая характеристика капсулы, паренхимы органа, печёночных триад, а также эпителия желчных протоков соответствует характеристике здорового органа. Венозные сосуды наполнены умеренно. Ширина гепатоцитов 25–27 мкм, высота 30–35 мкм, ЯЦО $0,63 \pm 1,09$ мкм.

Серозная оболочка печени животных контрольной группы в возрасте 2,5 года прилегает к капсуле плотно. На одних участках она ровная, а на других — складчатая. Капсула тонкая и представлена волокнистой соединительной тканью. Мелкие кровеносные и лимфатические сосуды встречаются под капсулой редко. Паренхима печени имеет слабовыраженную дольчатость. Печёночные балки определяются с помощью синусоидных капилляров, которые заполнены кровью. Более крупные кровеносные сосуды имеют разную степень наполнения. У центральных вен печёночные балки располагаются радиально. Цитоплазма гепатоцитов в пределах печёночной балки может окрашиваться либо интенсивно, либо неравномерно, либо равномерно. При интенсивном окрашивании цитоплазмы гепатоцитов зернистости не определяется, но при равномерной окраске выявляется базофильная зернистость. У животных контрольной группы (2,7 года) ширина гепатоцитов 50–42 мкм, высота — 40–55 мкм, ЯЦО $0,64 \pm 0,25$ мкм.

Ядра в гепатоцитах круглые, и структура в них различима. Цитоплазма базофильная. В составе печёночных триад определяются вена, артерия и желчный проток. В них чётко выявляется апикальная поверхность эпителия этих протоков. Для печени северных оленей контрольной группы (2,7 года) характерна особенность, которая проявляется в том, что вблизи междольковой вены обнаружен один участок, на котором границы гепатоцитов плохо различимы. Цитоплазма имеет мелкую ацидофильную зернистость. Ядра определяются с трудом и в форме фона. Балочная структура в этом участке нарушена (рис. 1).

Нечёткие волокна волокнистой соединительной ткани выявляются в капсуле, желчных протоках и стенке кровеносных сосудов. Локализация волокон в них рыхлая.

В стенке центральных вен обнаруживаются тонкие, интенсивно окрашенные коллагеновые волокна. Вокруг печёночных балок имеются коллагеновые волокна с менее интенсивной окраской. Эластические волокна выявляются в капсуле печени, под эндотелием центральных и некрупных междольковых вен. Архитектоника эластических волокон различная, они имеют вид длинных, ко-

ротких и зигзагообразных линий. В стенке артерий и вен с большим диаметром эластические волокна окрашиваются менее интенсивно и выявляются в виде рыхлой ячеистой сети.

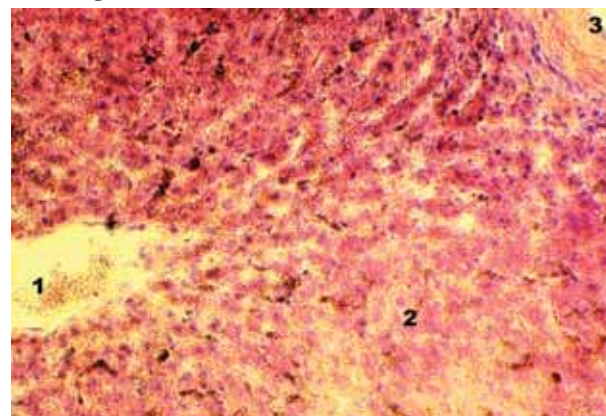


Рис. 1 – Печень северного оленя контрольной группы. Зернистая дистрофия. Окраска гематоксилином и эозином (x200). 1 – вена; 2 – участок органа с зернистой дистрофией; 3 – артерия

Карбоксилированные гликозаминогликаны в виде фона выявляются в цитоплазме и на поверхности эпителиоцитов желчных протоков. В участках здорового органа при большом увеличении в гепатоцитах определяется зернистость, которая интенсивно окрашена фуксином. В цитоплазме гепатоцитов ЩИК-позитивные вещества создают однородный тон. В артериях и венах, в которых имеется кровь, содержатся кислые белки. В участке печени северных оленей контрольной группы, где выявлена белковая дистрофия, имеются и основные, и кислые белки, но основные белки преобладают.

В ядрах гепатоцитов количество ДНК различное, и поэтому на фоне ДНК кариоплазмы отчётливо определяются ядрышки РНК. Обычно определяются два-три ядрышка. Количество РНК в гепатоцитах одной дольки разное, и фон окраски мало интенсивный. Максимальное количество РНК имеется в цитоплазме эритроцитов, которые обнаруживаются в просвете артерий. В ядрах эритроцитов, которые имеются в просвете вен, выявляются лишь ДНК. Нейтральный жир в паренхиме печени у оленей в начале опыта контрольной группы (2,7 года) не выявляется.

У животных опытной группы (2,7 года) капсула печени ровная. Фон окраски слабо базофильный. От капсулы в глубь органа отходят соединительнотканые перегородки, лежащие на границе соседних долек. Щелевидные лимфатические сосуды и кровеносные капилляры выявляются между паренхимой и капсулой. В дольках гепатоциты распределяются в виде пластинок. Ядра округлые, ядрышки определяются. Ширина клеток 47–59 мкм, высота — 44–62 мкм, ЯЦО $0,68 \pm 1,53$ мкм. Цитоплазма гепатоцитов имеет базофильную зернистость, и интенсивность окраски в дольках разная. Окраска кариоплазмы различной интенсивности.

Синусоидные капилляры располагаются между печёночными пластинками и выстланы плоскими эндотелиоцитами. Эти капилляры узкие и лучше определяются в центральной части долек. Границы долек различаются. Радиальная локализация печёночных балок выявляется вблизи центральных вен. Лимфоидные клетки в паренхиме органа обнаруживаются не часто. Просвет междольковых вен больше, в отличие от центральных вен, и имеет округлый контур. Междольковые вены характеризуются большей толщиной стенки, чем центральные вены, но всегда стенка тонкая. Центральные вены имеют округлую либо овальную форму сечения. Степень наполнения вен различная. Встречаются артерии разного диаметра, у них стенка всегда толстая, просвет артерий округлый. Выявляются артерии и с малой степенью кровенаполнения, и запустевшие. Желчные протоки выстланы эпителием кубической формы, цитоплазма в них базофильна, ядра, кариоплазма и кариолемма достаточно хорошо определяются.

В капсуле печени, а также в стенке вен большого диаметра и артериях выявляется волокнистая соединительная ткань. Коллагеновые тонкие волокна имеются в капсуле органа, адвентиции вен, артерий и по периферии печёночных балок. Стенка вен содержит коллагеновых волокон меньше, чем стенка артерий. В стенке артерий этих волокон много, и они имеют штриховой рисунок. Коллагеновые волокна выявляются в виде волнистого рисунка под эпителием желчных протоков. Здесь они тонкие, зигзагообразные и чёткие. Эластические волокна обнаруживаются в стенке артерий, вен и в капсуле печени. Обычно эти волокна короткие или длинные и с пониженной чёткостью.

Фон некоторых эпителиоцитов желчных протоков представляют карбоксилированные гликозаминогликаны. В цитоплазме гепатоцитов имеются ШИК-позитивные вещества, которые определяются в виде пылевидной зернистости. В периферийной части долек в цитоплазме гепатоцитов обнаруживаются основные белки, в центральной части долек гепатоциты обычно содержат и основные, и кислые белки. В малом количестве кислые белки имеются в стенке артерий и в цитоплазме эритроцитов. В ядрах эритроцитов, лейкоцитов, соединительнотканых клетках выявляются в максимальном количестве нуклеиновые кислоты (рис. 2). В цитоплазме гепатоцитов в виде фона определяется РНК, а кариолемма содержит ДНК. Нейтральный жир в печени не обнаруживается.

Выводы. Резюмируя полученные результаты, можно заключить, что в начале опыта у оленей (2,5 года) контрольной группы, находящихся на зимнем пастбищном типе кормления (ОЭ 10,7 мДж/кг (2555 ккал/кг), сырой протеин – 14,11%, сырая клетчатка – 17,5%) и оленей опытной группы (2,7 года), чей рацион помимо подснежного пастбищного корма включал комбинированный

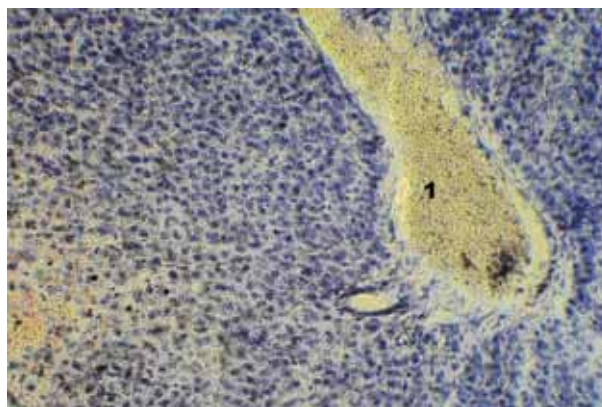


Рис.2 – Печень северного оленя опытной группы. Локализация нуклеиновых кислот. Окраска по Эйнарсону (x400): 1 – вена

корм с ОЭ 10,35 мДж/кг (ОЭ 2472 ккал/кг), сырой протеин – 15,06% и сырую клетчатку – 8,14%, структура печени соответствует здоровому органу. Выявленные у животных контрольной группы изменения в структуре органа в виде зернистой дистрофии, по нашему мнению, связаны с недостаточностью зимнего пастбищного рациона в белке. Эти изменения в органе носят обратимый характер и отражают приспособительную реакцию организма животных на отрицательный энергетический баланс рациона. Следует подчеркнуть, что у животных опытной группы (2,7 года) структурных изменений в печени не выявлено. Исследуемый тип кормления способствует повышению живой массы оленей опытной группы на 8,5% по отношению к показателям контроля. Живая масса, физиологический статус оленей опытной группы, отсутствие изменений в структуре печени позволяют рекомендовать пастбищно-концентратный тип кормления к использованию в оленеводстве в зимний период в условиях Ямала.

Литература

1. Бердюгин К.И., Большаков В.Н., Балахонов В.С. и др. Млекопитающие Полярного Урала. Екатеринбург, 2007. 384 с.
2. Бороздин Э.К., Востряков П.Н., Дьяченко Н.О. Разведение северных оленей. Красноярск: Красноярское книжн. изд.-во, 1977. С. 223.
3. Подкорытов Ф.М. Оленеводство Ямала. Л.: Типография ЛАЭС, 1995. 274 с.
4. Сыроечковский Е.Е. Северный олень. М.: Агропромиздат, 1986. С. 256.
5. Пат. 2357249 Российская Федерация. Способ полихромной окраски для выявления общей гистоструктуры органов / Л. Ф. Бодрова, Г. А. Хонин, В. А. Шестаков; заявитель и патентообладатель Ом. гос. аграр. ун-т. № 2007 149472115; заявл. 27.12.2007. Бюл. № 21. 4 с.
6. Семченко В.В., Барашкова С.А., Артемьев В.Н. Гистологическая техника: учеб. пособие. 2-е изд., стер. Омск: Изд-во ОГМА, 2003. 152 с.
7. Nieminen M., Heiskari U. Diets of freely grazing and captive reindeer during summer and winter // Rangifer, 1989. Vol. 9. P. 17–34.
8. McEwan E.H., Whitehead P.E. Seasonal changes in the energy and nitrogen intake in reindeer and caribou // Canadian journal of zoology, 1970. Vol. 48. P. 905–913.
9. Soveri T. Liver histology of reindeer calves during the winter season // Anat. Histol. Embryol., 1993. Vol. 22. P. 313–318.
10. Soveri T. Ultrastructure of the liver of reindeer calves under different nutritional conditions / T. Soveri, A. Sukura, M. Nieminen, L.-A. Lindberg // Anat. Histol. Embryol., 1995. Vol. 24. P. 91–95.