

Гистологическая и гистохимическая характеристика селезёнки северных оленей при применении пастбищно-концентратного типа кормления

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

Одной из основных задач интенсификации северного оленеводства Ямала является изыскание эффективных способов повышения уровня содержания и кормления животных. Общеизвестно, что олень в течение всего года находится на подножном корме, питательная ценность которого по сезонам года резко меняется [1]. В летний период основу рациона северного оленя составляют зелёные корма, богатые протеином, минеральными веществами и витаминами, зимой – лишайники, бедные этими веществами, но богатые углеводами [2].

Недостаток в кормовом балансе протеина и минеральных веществ в зимне-весенний период замедляет развитие и резко снижает продуктивность животных. Потери в живой массе в период зимовки у большинства оленей могут составлять от 20 до 30% [3]. На поддержание жизни олени вынуждены расходовать запасы питательных веществ, отложенных в организме летом и ранней осенью [4]. При этом среди животных, значительно утративших живую массу, нередко случаи заболеваний, падежа и яловости.

Из всех факторов внешней среды наиболее сильное воздействие на процесс кроветворения и гематологические показатели животных оказывает полноценность кормления [11, 12]. Селезёнка играет большую роль в обмене веществ, фильтрации и депонировании крови в организме [5, 6]. Запас депонированной в селезёнке крови составляет одну пятую всей крови, находящейся в организме северного оленя [4]. Именно поэтому изучение гистологической и гистохимической структуры селезёнки в условиях различного уровня кормовых ресурсов представляет определённый научный интерес. Между тем в источниках литературы встречаются фрагментарные сведения, касающиеся структуры кроветворных органов в зависимости от особенностей питания животных в условиях зимних пастбищ Ямала.

Цель исследования – изучение влияния различных типов кормления на гистологическую и гистохимическую структуру селезёнки северных оленей в условиях Ямало-Ненецкого автономного округа.

Материалы и методы исследования. Опыт проведён в зимний период в оленеводческом хозяйстве ОАО «Салехардагро» Ямало-Ненецкого автономного округа. Исследования проведены на одомашненных северных оленях ненецкой породы (*Rangifer tarandus*) при вольной стадной системе выпаса животных. Из животных-аналогов по зоо-

техническим показателям в возрасте 2,5 года были сформированы контрольная и опытная группы по 60 гол. в каждой. Северным оленям в течение наиболее сложных зимних месяцев (декабрь, январь) применялись различные типы кормления.

Оленей опытной гр. содержали на пастбищно-концентратном типе кормления, а животных контрольной гр. – на пастбищном типе кормления. Олени контрольной гр. получали подснежный пастбищный корм с ОЭ 10,7 мДж/кг (2555 ккал/кг), сырой протеин составлял 14,11%, сырая клетчатка – 17,51%. Олени опытной гр. кроме подснежного пастбищного корма получали комбинированный корм с ОЭ 10,35 мДж/кг (2472 ккал/кг), сырой протеин составлял 15,06%, сырая клетчатка – 8,14%.

Комбинированный корм животным опытной гр. давали постепенно и дробно. В первые 10 дней опыта суточная норма составляла 60 г/гол. При отсутствии диареи, атонии, гипотонии и тимпании преджелудков количество корма было увеличено до 260 г/гол. При отсутствии в течение последующих 10 дней признаков расстройства со стороны пищеварительной системы норма комбинированного корма была доведена до 1,1 кг/гол в сут. Впоследствии по истечении 10-дневного подготовительного периода животные получали до 2,1 кг/гол до окончания экспериментального опыта.

Для изучения гистологической и гистохимической характеристики селезёнки у северных оленей в возрасте 2,7 года контрольной и опытной групп после убоя был взят материал (кусочки селезёнки), который для гистологического исследования фиксировали в 4-процентном нейтральном растворе формальдегида. Для проведения гистохимических исследований материал фиксировали в жидкости Карнуа. Уплотнение материала проводили заливкой в парафин. Для изготовления срезов (толщина 5–7 мкм) использовали санный микротом МС-2. Структуру селезёнки изучали с помощью окраски гематоксилином и эозином. Полихромный метод окраски был применён для выявления общей гистоструктуры органов [7, 8]. Волокнистую соединительную ткань обнаруживали по Ван-Гизону, эластические волокна – по Вейгерту, коллагеновые волокна выявляли по Маллори. Для гистохимических исследований использовали окраску по Микель-Кальво, с помощью которой выявляли кислые и основные белки. Дифференциацию углеводов проводили ШИК-реакцией по Шабадашу. Сульфатированные и карбоксилированные гликозаминогликаны выявляли по Шубичу и Сидмену, нуклеиновые кислоты – по Эйнарсону. Нуклеиновые кислоты дифференциро-

вали окраской по Браше, при этом контрольные препараты обрабатывали амилазой слюны [9, 10]. Для обнаружения нейтрального жира и липопротеидов срезы готовили на замораживающем столике ТОС-2 (толщина среза 15–20 мкм). Окраску срезов проводили суданом III и IV по Лилли с докраской гематоксилином [8–10]. Площадь белой пульпы органа измеряли с помощью окуляр-микрометра МОВ 1-15*. Статистическую обработку полученного цифрового материала анализировали с применением стандартных методик по Стьюденту.

Результаты исследования. Селезёнка имеет вишнёво-коричневый цвет, форма напоминает равнобедренный треугольник, края которого закруглены. В краниальном направлении её край более толстый и тупой. Ближе к краниальному краю органа в дорзальном направлении определяется ямка – ворота селезёнки, в неё входят селезёночная артерия, вена и нервы. Здесь орган имеет наибольшую толщину. В каудальной части ширина селезёнки колеблется в пределах 14–15 см и имеет тонкий, ровный край, в краниальной части ширина селезёнки составляет 9–11 см. Располагается селезёнка слева от рубца и каудально доходит до поперечного отростка 2–4-го поясничного позвонка. Масса органа колеблется от 112 до 270 г.

У северных оленей контрольной гр. селезёнка покрыта серозной оболочкой, которая плотно соединяется с капсулой. Капсула органа ровная, и её толщина колеблется от 330 до 400 мкм. Капсула интенсивно окрашивается фоновым красителем. От паренхимы капсула не отслоена. В ней имеется гладкая мышечная и соединительная ткань. Мышечный слой представлен гладкими миоцитами вытянутой, овальной, округлой формы, и располагаются они вдоль капсулы. Чётко определяются ядра клеток, которые идут параллельно к поверхности капсулы селезёнки. В них кариоплазма окрашивается с заметным зернистым фоном. В гладкой мышечной и соединительной ткани ядра вытянутой либо округлой формы и расположены вдоль поверхно-

сти органа. Интенсивность окраски кариоплазмы указывает на то, что это фибробласты либо фиброциты. В капсуле обнаруживаются лимфатические сосуды малого диаметра. На отдельных участках органа, под капсулой, выявляются лимфатические сосуды, которые имеют щелевидную форму. В них может быть мутное содержимое, иногда встречаются лимфоциты или эритроциты. От капсулы внутрь органа отходят трабекулы, которые формируют своеобразный каркас (рис. 1). Форма трабекул может быть вытянутой, округлой, треугольной, спиралевидной либо удлинённо-овальной. Размеры трабекул разные, и их высота колеблется от 80 до 350 мкм. В трабекулах селезёнки встречаются и кровеносные сосуды. Иногда трабекулы отходят от капсулы внутрь органа либо располагаются в пульпе. В капсуле и трабекулах имеется гладкая мышечная, плотная волокнистая ткань и эластические волокна.

Паренхима селезёнки состоит из белой и красной пульпы. Белая пульпа представлена селезёночными тельцами либо округло-овальной, либо вытянутой формы с большим скоплением лимфоидной ткани. Белая пульпа выявляется по цвету. Форма фолликулов округло-овальная, границы чёткие. Лимфоциты в фолликулах белой пульпы располагаются близко друг к другу. В некоторых случаях клетки лимфоцитарного ряда обнаруживаются по ходу центральных артериол. В белой пульпе выявляется малое количество кровеносных сосудов. В ней же выявляются лимфатические сосуды, форма которых узкая. В центральной части фолликула чётко определяются реактивные центры. Цвет светлого центра лимфатического фолликула менее интенсивный, а по периферии цвет более насыщенный. Центральная часть фолликулов характеризуется рыхлым расположением клеток и прозрачными ядрами клеток. Морфометрические исследования выявили, что средняя площадь фолликула белой пульпы селезёнки у оленей контрольной группы колеблется от 339987 до 426400 мкм².

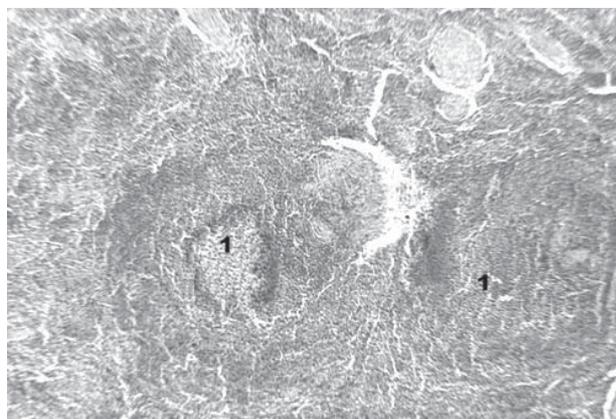


Рис. 1 – Селезёнка оленей опытной группы. Структура органа. Окраска гематоксилином и эозином (×100):
1 – фолликулы белой пульпы

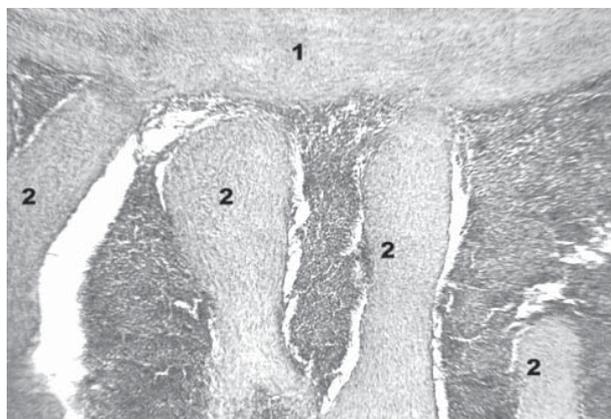


Рис. 2 – Селезёнка оленей опытной группы. Локализация эластических волокон. Окраска по Вейгерту (×200):
1 – трабекулы; 2 – артерия

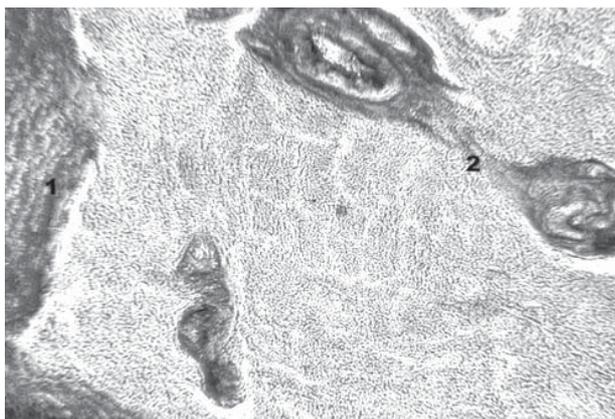


Рис. 3 – Селезёнка оленей контрольной группы. Структура органа. Окраска гематоксилином и эозином ($\times 100$):
1 – капсула; 2 – трабекулы

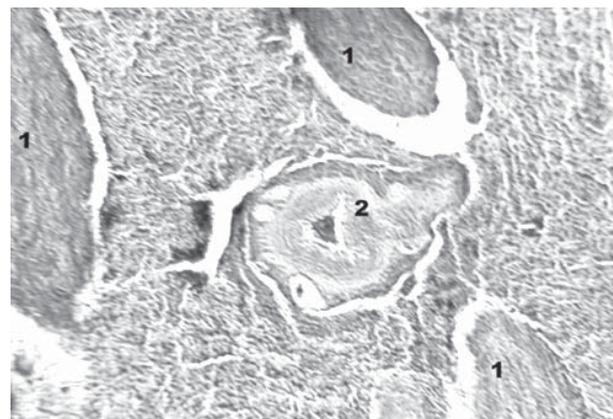


Рис. 4 – Селезёнка оленей опытной группы. Локализация белка в структуре органа. Окраска по Микель-Кальво ($\times 100$):
1 – трабекулы; 2 – артерия

Красная пульпа в органе занимает большую площадь, и в ней выявляются ретикулярные клетки и эластические волокна. Полиморфноядерные клетки, которые формируют синусы, обычно заполнены эритроцитами, плазматическими клетками и макрофагами. Фоновым красителем красная пульпа окрашивается интенсивно. Встречаются артериальные сосуды, стенка которых толстая, есть и мелкие кровеносные сосуды. В красной пульпе обнаруживаются венозные синусы, в которых находятся разнообразные клеточные элементы.

В адвентиции крупных артерий и капсуле выявляются чёткие коллагеновые волокна. В капсуле селезёнки и трабекулах имеются эластические волокна и их локализация, архитектоника разная. Количество и выраженность эластических волокон в кровеносных сосудах зависит обычно от диаметра артерий.

ШИК-позитивные вещества обнаруживаются в малом количестве как в красной, так и в белой пульпе, а также в капсуле. В стенке трабекулярных артерий ШИК-позитивных веществ максимальное количество. Карбоксилированные гликозаминогликаны выявляются в малом количестве в фолликулах белой пульпы.

Основные белки обнаруживаются в капсуле, трабекулах и в стенке кровеносных сосудов. В красной пульпе имеются основные и кислые белки, а в белой пульпе преобладают кислые белки.

Максимальное количество нуклеиновых кислот обнаружено в капсуле, трабекулах и в фолликулах белой пульпы. Нуклеиновых кислот мало в ядрах клеток, которые формируют стенку кровеносных сосудов. РНК определяется в эритроцитах. В очень малом количестве в виде фона нейтральный жир имеется вблизи артерий.

Ширина капсулы селезёнки у оленей опытной гр. колеблется от 280 до 375 мкм. От капсулы внутрь органа идут трабекулы. Форма их различная, и длина колеблется от 180 до 400 мкм. Встречаются

трабекулы округло-овальной либо округлой формы, которые располагаются в паренхиме органа самостоятельно. Структура белой пульпы представлена фолликулами, которые имеют разный размер. В фолликулах обнаруживаются реактивные центры (рис. 2). Некоторые лимфатические фолликулы имеют светлый центр. Его окраска менее интенсивная. Однако по периферии цвет этих фолликулов более интенсивной окраски. В центральной части фолликулов выявляется рыхлое расположение клеток. Ядра клеток в них прозрачные. Средняя площадь фолликула белой пульпы селезёнки у оленей опытной гр. колеблется от 337597 до 379700 мкм². В фолликулах лимфоциты располагаются плотно, и выявляется это по периферии белой пульпы. Ядра лимфоцитов и в периферийной, и в центральной части имеют разную форму и размер. Узкие капилляры выявляются в центре фолликула. В красной пульпе структурных изменений не выявлено, и она, так же как и белая пульпа, соответствует структуре здорового органа.

Коллагеновые волокна выявляются в белой пульпе. Много эластических волокон в капсуле, стенке артерий и трабекулах (рис. 3). В стенке лимфатических сосудов имеются ШИК-позитивные вещества, однако их количество невелико.

В капсуле органа, под ней и трабекулах выявляются основные белки (рис. 4). В стенке артерий, красной пульпе и в некоторых фолликулах обнаруживаются и основные, и кислые белки. Есть участки в селезёнке, где выявляются либо основные, либо кислые белки.

В капсуле, трабекулах и паренхиме селезёнки содержится большое количество нуклеиновых кислот. Однако по периферии артерий малого диаметра имеются клетки, в которых содержание нуклеиновых кислот выявляется в минимальном количестве. РНК обнаруживается в ядрышках некоторых клеток в виде фона. Нейтральный жир выявляется в виде следов около артерий большого и среднего диаметра.

Выводы. Полученные результаты гистологического, гистохимического и морфометрического исследования позволяют сделать вывод, что у животных контрольной гр., которые находились на пастбищном типе кормления (подснежный пастбищный корм с ОЭ 10,7 мДж/кг (2555 ккал/кг), сырой протеин 14,11%, сырая клетчатка 17,5%) на отдельных участках селезёнки выявлена гипертрофия белой пульпы, что подтверждено морфометрическими методами исследования. Отмечается увеличение площади белой пульпы на 1,07% относительно показателей опытной группы. Происходящие изменения в селезёнке оленей контрольной гр. являются результатом приспособительной реакции и указывают на адаптацию органа и организма в целом. Однако у оленей опытной гр., которые находились на пастбищно-концентратном типе кормления (подснежный пастбищный и комбинированный корм с ОЭ 10,35 мДж/кг (2472 ккал/кг), сырого протеина 15,06%, сырой клетчатки 8,14%), в селезёнке структура соответствует здоровому органу. Следует отметить, что живая масса поголовья в опытной гр. была выше на 8,59%, чем у животных контрольной гр. Это позволяет нам сделать вывод о целесообразности использования пастбищно-концентратного типа кормления в наиболее сложных зимних погодных условиях Ямала.

Литература

1. Романенко Т.М., Забродин В.А., Митюков А.С. и др. Кормовая добавка для подкормки северных оленей // Известия Санкт-Петербургского государственного аграрного университета. 2012. № 27. С. 107–111.
2. Дьяченко Н.О. Эффективность подкормки северных оленей карбамидно-минеральной смесью // Повышение продуктивности северного оленеводства. М.: Колос, 1976. С. 140–147.
3. Лайшев К.А., Самандас А.М., Прокудин А.В. и др. Ветеринарные и зоотехнические проблемы воспроизводства в северном оленеводстве и пути их решения // Достижения науки и техники АПК. 2013. № 11. С. 42–45.
4. Друри И.В., Митюшев П.В. Оленеводство. М.-Л.: Сельхозиздат, 1963. 244 с.
5. Бобровский А.Я., Лебедева Н.А., Писменская В.Н. Анатомия и физиология сельскохозяйственных животных. М.: Колос, 1992. 207 с.
6. Лебедева Н.А., Бобровский А.Я., Писменская В.Н. и др. Анатомия и гистология мясопромышленных животных. М.: Агропромиздат, 1985. 368 с.
7. 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.
8. Семченко В.В., Барашкова С.А., Артемьев В.Н. Гистологическая техника: учеб. пособие / Ом. гос. мед. акад. 2-е изд., стер. Омск: Изд-во ОГМА, 2003. 152 с.
9. Меркулов Г.А. Курс патологической техники. Л.: Медгиз, 1969. 423 с.
10. Пирс Э. Гистохимия теоретическая и прикладная. М.: Мир, 1962. 79 с.
11. Pösö A.R. Muscle fibre growth in undernourished reindeer calves (*Rangifer tarandus tarandus* L) during winter / A.R. Pösö, U. Heiskari, M. Lindström, M. Nieminen, T. Soveri // Comparative Biochemistry and Physiology. 2001. Vol. 129. P. 495–500.
12. Säkkinen H. Variation of plasma protein parameters in four tree-ranging reindeer herds and in captive reindeer under defined feeding conditions / H. Säkkinen, A. Tverdal, E. Eloranta, E. Dahl, O. Holand, S. Saarela, E. Ropstad // Comparative Biochemistry and Physiology. 2005. Vol. 142. P. 503–511.