

На правах рукописи

Ван Бэнь

**МОРФОЛОГИЯ ПЕЧЕНИ ОВЕЦ ТУВИНСКОЙ
КОРОТКОЖИРНОХВОСТОЙ ПОРОДЫ В ПОСТНАТАЛЬНОМ
ОНТОГЕНЕЗЕ**

Специальность: 06.02.01 – диагностика болезней и терапия животных,
патология, онкология и морфология животных

Автореферат

диссертации на соискание ученой
степени кандидата ветеринарных наук

Москва 2016

Работа выполнена на кафедре анатомии, патологической анатомии и хирургии
ФГБОУ ВО «Красноярский государственный аграрный университет»

Научный руководитель: **Донкова Наталья Владимировна**, доктор ветеринарных наук, профессор, заведующая кафедрой анатомии, патологической анатомии и хирургии ФГБОУ ВО «Красноярский государственный аграрный университет» (г. Красноярск)

Официальные оппоненты: **Байматов Валерий Нурмухаметович**, доктор ветеринарных наук, профессор ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии им. К.И. Скрябина» (г. Москва)

Пронин Валерий Васильевич, доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой морфологии, физиологии и ветеринарно-санитарной экспертизы ФГБОУ ВО «Ивановская государственная сельскохозяйственная академия им. Д.К. Беляева» (г. Иваново)

Ведущая организация:
ФГБОУ ВО «Бурятская государственная сельскохозяйственная академия им. В.Р. Филиппова»
(г. Улан-Удэ)

Защита состоится 21 апреля 2016 г. в 12-00 часов на заседании диссертационного совета Д 212.203.32 при ФГБОУ ВО «Российский университет дружбы народов» по адресу: 117198, Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 8/2.

С диссертацией можно ознакомиться в Учебно-научном информационно- библиографическом центре Российского университета дружбы народов по адресу: 117198, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 6.

Автореферат диссертации размещен на сайтах: www.rudn.ru, <http://vak.ed.gov.ru>.

Автореферат диссертации разослан 21 марта 2016 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета
кандидат биологических наук, доцент

Куликов Евгений Владимирович

1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Овцеводство – одна из основных отраслей сельского хозяйства, играющая важную роль в обеспечении потребности в специфических видах сырья (шерсть) и продуктах питания (баранина). Для получения баранины в Республиках Тыва, Хакасия и на юге Красноярского края в настоящее время разводят овец тувинской короткожирнохвостой породы, особенностью которой является выносливость и неприхотливость к условиям содержания (Ерохин А.И., 2004; Лущенко А.Е., 2005; Амерханов Х.А. и др., 2010; Донгак М.И., 2011).

Однако, развитие овцеводства в регионах сдерживается различными паразитарными болезнями, зараженность овец гельминтами в различных хозяйствах составляет от 33 до 100% (Зиборов Н.А., 1996; Марченко В.А., 2012), что наносит значительный экономический ущерб животноводству.

Печень, как центральный орган метаболизма наиболее часто подвергается патологическому воздействию токсинов гельминтов и самих гельминтов, при этом, нарушается структура и функция органа, что приводит к снижению продуктивности, и получению продукции низкого качества. Поэтому, знания закономерностей постнатального развития печени, как органа, выполняющего основную функцию детоксикации чужеродных веществ являются актуальными (Уша Б.В., 1979, 2004; Байматов В.Н., 2007; Твердохлеб И.В., 2013).

Степень разработанности темы. Морфология органов, обеспечивающих адаптационно-приспособительные реакции и гомеостатические функции, в частности печень, у овец изучены недостаточно (Байматов В.Н., 1991; Кутова Л.Н., 2005). Онтогенез печени у овец бурятской грубошерстной породы исследован О.И. Убашеевым (2000), у романовской породы Е.А. Карасевым (2002), у породы авасси – Седер Нур Хадер Абдель (2011).

В научной литературе отсутствуют сведения о структуре печени овец тувинской короткожирнохвостой породы в постнатальном онтогенезе, а данные о воздействии паразитов на структуру печени овец фрагментарны (Дегтяревская Т.Ю., 2008; Кошеваров Н.И., 2010; Perez J., et al. 2002; Radfar M.H., 2012).

Цель исследования – изучить морфологические особенности печени овец тувинской короткожирнохвостой породы на этапах постнатального онтогенеза и при инвазиях.

Задачи исследования:

1. Изучить динамику роста абсолютной и относительной массы печени, линейных размеров ее долей, определить интенсивность роста органа в различные возрастные периоды.

2. Выявить анатомо-топографические, гистологические и гистохимические особенности печени овец тувинской короткожирнохвостой породы в постнатальном онтогенезе.

3. Установить морфометрические особенности печени овец тувинской короткожирнохвостой породы в возрастном аспекте.

4. Выявить гистологические и гистохимические особенности печени овец тувинской короткожирнохвостой породы при инвазиях.

Научная новизна. В работе впервые дана анатомо-гистологическая, гистохимическая и морфометрическая характеристика печени овец тувинской короткожирнохвостой породы на

разных этапах постнатального онтогенеза. Определен период завершения морфогенеза органа на микроструктурном уровне. Установлена локализация гранул гликогена в перивенулярной, интермедиальной и перипортальной зонах печеночной доли в различные возрастные периоды. Проведен морфометрический анализ печеночных долек, центральных вен и гепатоцитов в постнатальном онтогенезе. Установлены гистологические и гистохимические изменения печени овец при наиболее распространенных инвазиях (эхинококкозе, дикроцелиозе и стронгилятозе).

Теоретическая и практическая значимость. Полученные результаты исследований по анатомо-топографической, гистологической, гистохимической и морфометрической характеристике печени овец тувинской короткожирнохвостой породы расширяют сведения по морфологии системы органов пищеварения у овец.

Знание закономерностей роста и развития печени в постнатальном онтогенезе даёт научную основу для разработки лечебно-профилактических мероприятий и улучшения продуктивных качеств овец тувинской короткожирнохвостой породы.

Полученные данные могут быть использованы для формирования общей картины особенностей постнатального развития печени овец мясо-сальных пород, специфике проявления патологических процессов в печени при инвазиях мелкого рогатого скота, а также для организации рационального кормления овец тувинской короткожирнохвостой породы.

Методология и методы исследования. Методологической основой исследования явилось изучение породных особенностей роста и развития печени овец тувинской короткожирнохвостой породы в постнатальном онтогенезе и при воздействии паразитов на структуру печени. В работе использован комплексный подход, включающий гистологические, гистохимические, морфометрические методы исследования и статистическую обработку полученных результатов.

Основные положения диссертации, выносимые на защиту:

1. Анатомо-гистологические, морфометрические и гистохимические особенности печени овец тувинской короткожирнохвостой породы.

2. Закономерности роста и развития печени овец тувинской короткожирнохвостой породы в постнатальном онтогенезе.

3. Возрастные гистохимические преобразования в гепатоцитах, обусловленные увеличением количества гликогена и липидов, и их перераспределение в различных зонах печеночной доли.

4. Микроструктура печени овец при инвазиях характеризуется дистрофическими и некробиотическими изменениями гепатоцитов и межлочечковой ткани; снижением гликогенсинтезирующей функции печени и нарушением жирового обмена.

Внедрение результатов исследований. Полученные сведения по анатомии, гистологии и гистохимии печени тувинской короткожирнохвостой породы овец в постнатальном онтогенезе и при инвазиях, используются в учебном процессе при чтении лекций и проведении лабораторных занятий у студентов специальности 36.05.01 «Ветеринария» и направления подготовки 36.03.01 «Ветеринарно-санитарная экспертиза», а так же в научно-исследовательской работе кафедры анатомии, патологической анатомии и хирургии Института прикладной биотехнологии и ветеринарной медицины Красноярского государственного аграрного университета; в ФГБНУ «Красноярский научно-исследовательский институт животноводства».

Апробация работы. Основные результаты диссертационной работы докладывались и обсуждались на Международной научно-практической конференции «Проблемы развития АПК Саяно-Алтая» (Абакан, 2013, 2014); на VII Международная научно-практической конференции молодых ученых «Инновационные тенденции развития Российской науки» (Красноярск, 2014); на Всероссийской научно-практической конференции «Современные научно-практические достижения в ветеринарии» (Киров, 2014); на Международной научно-практической конференции «Наука и образование: опыт, проблемы, перспективы развития» (Красноярск, 2014, 2015); на VIII Международной научно-практической конференции молодых ученых «Инновационные тенденции развития Российской науки» (Красноярск, 2015), на Международной заочной научной конференции «Проблемы современной аграрной науки» (Красноярск, 2015).

Личный вклад автора. Представленные в диссертационной работе экспериментальные исследования по изучению морфологии печени овец, теоретический и практический анализ полученных результатов проведены автором самостоятельно.

Публикации. По результатам научных исследований опубликовано девять печатных работ, в том числе три – в ведущих научных журналах, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки РФ: «Актуальные вопросы ветеринарной биологии» и «Вестник КрасГАУ».

Структура и объём диссертации. Диссертация изложена на 124 страницах печатного текста и состоит из разделов: общая характеристика работы, обзор литературы, собственные исследования, обсуждение полученных результатов, выводы, практические предложения и список литературы, который включает в себя 172 источника, в том числе 40 иностранных. Работа содержит 6 диаграмм, 8 таблиц, 3 макрофотографии, 49 микрофотографий и 1 схему.

2. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Материалы и методы исследований

2.1.1 Объект исследований. Экспериментальные исследования и обработка полученного материала проведены в течение 2013 – 2015 гг. на кафедре «Анатомия, патологическая анатомия и хирургия» Института прикладной биотехнологии и ветеринарной медицины Красноярского государственного аграрного университета а так же в условиях Аскизской ветеринарной станции Аскизского района Республики Хакасия.

Объектом исследования являлись овцы тувинской короткожирнохвостой породы разных возрастных групп, разводимые в условиях Аскизского района Республики Хакасия. Условия содержания и кормления овец соответствовали зоотехническим нормам, предъявляемым к данному виду животных в условиях промышленного разведения.

Материал для исследования: печень овец тувинской короткожирнохвостой породы.

Исследования микроструктурных особенностей печени овец тувинской короткожирнохвостой породы в онтогенезе проводили на материале шести возрастных групп: новорожденные ягнята (3 и 5 суток); овцы в возрасте пяти; 6,5; восьми месяцев и взрослые овцы (2-года). Общее количество проведенных исследований представлено в табл. 1.

Таблица 1 – Общее количество исследований

Возраст	Кол-во, голов	Гистологические исследования	Гистохимические исследования	Морфометрия
3 сут.	6	21	14	12
5 сут.	4	24	18	14
5 мес.	10	18	10	13
6,5 мес.	24	54	34	28
8 мес.	12	15	12	10
2 года	14	45	26	22
Итого: 70		177	114	99
		Всего: 591		

2.1.2 Методы исследований. Основные методы исследования: гистологические, гистохимические и морфометрические. Общая структура исследований представлена на схеме 1. Отбор печени производили после убоя и обескровливания животных. Изучали топографию печени, оценивали ее внешний вид с поверхности и на разрезе. Абсолютную массу печени определяли взвешиванием на весах с точностью до 0,1 г; размеры долей и отростков – при помощи штангенциркуля. Относительную массу печени определяли как отношение массы печени к массе тела животного в процентах. Проводили фотографирование органа с диафрагмальной и висцеральной поверхностей.

Гистологические и гистохимические методы. Для гистологических исследований производили отбор кусочков печени размерами 0,5 × 0,5 см, фиксировали в растворе 10%-го нейтрального формалина, затем промывали под проточной водой, обезвоживали в спиртах возрастающей крепости и заливали в парафин (с добавлением 3-5% воска) согласно общепринятым методикам, описанным в руководствах по гистологии (Меркулов Г.А., 1969; Волкова О.В., Елецкий Ю.К., 1982; Донкова Н.В, Савельева А.Ю., 2013). Гистологические срезы изготавливали толщиной 6-10 мкм на санном микротоме с электроприводом и микропроцессорным управлением МЗП-01 «Техном».

Парафиновые срезы после депарафинизации и просветления окрашивали гематоксилином Эрлиха и водным раствором эозина. Соединительнотканые коллагеновые волокна выявляли по методу Ван-Гизон и по методу Маллори. Коллагеновые волокна, окрашенные по методу Ван-Гизон, приобретали красный цвет, клеточные ядра – темно-коричневый или фиолетово-черный, цитоплазма и мышечная ткань – темно-желтый цвет. Коллагеновые волокна, окрашенные по методу Маллори окрашивались в темно-синий цвет, слизь – в синий, а мышечная ткань – в ярко-оранжевый цвет.

Гликоген выявляли по методу А.Л. Шабаша реактивом Шиффа с предварительным окислением срезов периодатом калия, в сочетании с энзиматическим контролем – срезы выдерживали в растворе слюной амилазы в течение одного часа в термостате при t + 37°C (Кононский А.И., 1976). За гликоген принимали ШИК-позитивные вещества, ферментирующиеся амилазой слюны. ШИК-позитивный материал, устойчивый к ферментированию амилазой, относили к нейтральным гликопротеидам. Гранулы гликогена окрашивались в яркий фиолетово-вишневый, мукоиды и гликопротеиды – в красный цвет.

Липиды выявляли суданом черным В по методу Лизона, учитывая, что при данном методе окрашивания происходит растворение нейтральных несвязанных липидов. Структуры, окрашивающиеся от темно-синего до черного цвета принимали за связанные липиды.

Морфометрия. Скорость роста живой массы и печени овец определяли по абсолютной и относительной величине прироста. Относительный прирост, показывающий интенсивность роста, рассчитывали по формуле Броди:

$$R = \frac{V_2 - V_1}{0,5 \times (V_2 + V_1)} \times 100\%$$

где V_1 – масса в начале периода, г; V_2 – масса в конце периода, г.

Печень взвешивали на весах с точностью до 0,1 г; измеряли длину и ширину органа, его долей с помощью штангенциркуля. Морфометрию микроструктурных образований печени проводили на срезах, окрашенных гематоксилином Эрлиха и эозином, под световыми микроскопами марок МикМед-5, MS-100 (Austria), при увеличении в 40, 100, 400, 1000 раз. Микрофотографирование окрашенных препаратов проводили фотоаппаратом Canon A630, совмещенной с компьютером посредством кабеля USB. Полученные изображения обрабатывали с использованием программного обеспечения Bio Vision 2005.

Микроморфометрию проводили при помощи программного комплекса Biographica Cito 2.0. Измеряли длину и ширину печеночных долей, наружный и внутренний диаметр вен, артерий и желчных протоков, площадь центральных вен, площадь печеночных клеток и их ядер, вычисляли ядерно-цитоплазматическое отношение гепатоцитов. Измерения проводили не менее, чем на 6-10 произвольно отобранных срезах с различных стекол.

Площадь гепатоцитов и их ядер, площадь печеночных долей и центральных вен вычисляли по формуле вычисления площади эллипса:

$$S = \frac{\pi \times a \times b}{4}$$

где a – длина эллипса; b – ширина эллипса.

Используя полученные данные, определяли ядерно-цитоплазматическое отношение (ЯЦО); или по формуле вычисления площади круга: $S = \pi R^2$

где R – радиус сечения (круга), проведенного через центр сферы.

Биостатистические методы. Полученные цифровые данные подвергали статистической обработке с использованием компьютерной программы Statistica.

Оценку достоверности сравниваемых показателей проводили методом вариационной статистики с использованием t -критерия Стьюдента. Различия считали значимыми, если вероятность случайности не превышала 5% ($P < 0,05$).

Термины и обозначения даны в соответствии с Международной ветеринарной анатомической номенклатурой на латинском и русском языках (Nomina Anatomica Veterinaria, 2013).

МИКРОСТРУКТУРА ПЕЧЕНИ ОВЕЦ ТУВИНСКОЙ КОРОТКОЖИРНОХВОСТОЙ ПОРОДЫ

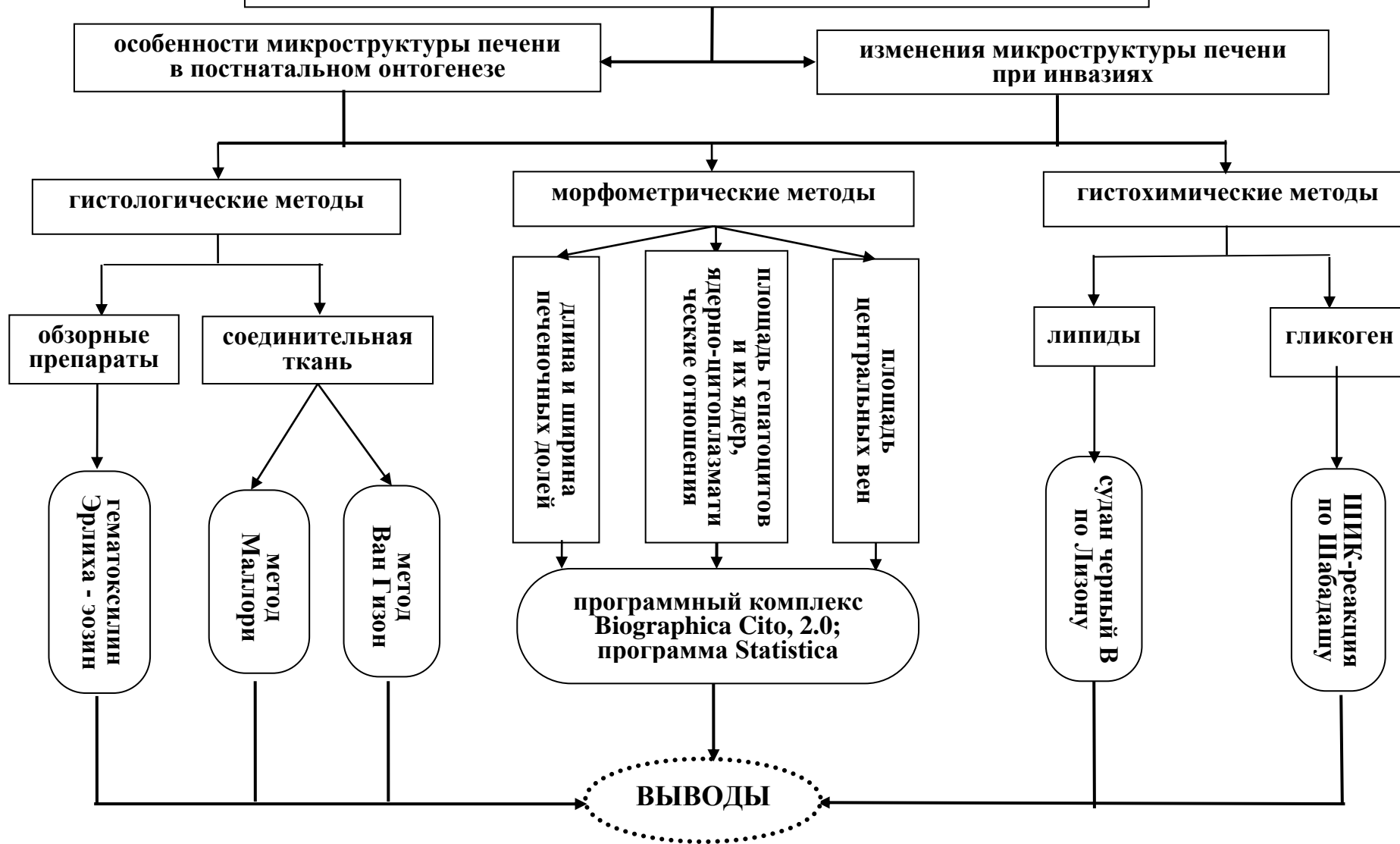


Схема 1 – Общая схема исследований

2.2 Результаты собственных исследований

2.2.1 Особенности морфологии печени овец тувинской короткожирнохвостой породы в постнатальном онтогенезе

2.2.1.1 Анатомо-топографические особенности печени овец

В ходе исследований установлено, что печень овец тувинской короткожирнохвостой породы располагается в передней части брюшной полости, в правом подреберье, примыкает к диафрагме и имеет в целом характерное для овец строение. Печень коричнево-красного цвета, гладкая, блестящая. Выпуклая диафрагмальная поверхность, обращена и прилежит к диафрагме (рисунок 1-А) и вогнутая висцеральная поверхность, обращена в сторону многокамерного желудка и петлям кишечника (рисунок 1-В).

Печень со стороны острого края вырезкой разделена на левую (меньшую) и правую (большую) доли. На правой доле с висцеральной поверхности располагаются хвостатая доля (с хвостатым и сосцевидным отростками) и квадратная доля. Характерным для печени овец является нависание сосцевидного отростка над воротами печени.

На рисунке 1-В в центре висцеральной поверхности отчетливо различимы ворота печени (а), представленные в виде короткого углубления. В области ворот печени различаются воротная вена (б), печеночная артерия и нервы, желчный проток и печеночные вены. Здесь же располагаются лимфатические узлы (от 1 до 3) серо-белого цвета, размерами до 1 см (в) и желчный пузырь (г), верхушка которого выступает за свободный край печени.

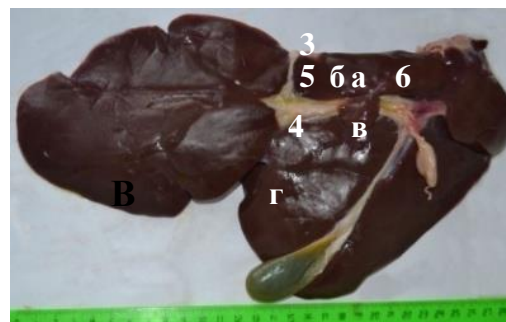


Рис. 1. Печень овцы. А – диафрагмальная поверхность; В – Висцеральная поверхность
1-левая доля; 2-правая доля; 3-хвостатая доля; 4-квадратная доля;
5-хвостатый отросток; 6-сосцевидный отросток;
а - ворота печени; б - воротная вена; в - лимфатический узел; г - желчный пузырь

2.2.1.2 Динамика роста абсолютной и относительной массы печени

За период постнатального развития новорожденный ягненок с живой массы $1,2 \pm 0,04$ кг за два года увеличивает живую массу более чем 40 раз (46,75 раза) и достигает $56,1 \pm 2,12$ кг ($P < 0,01$).

Максимальная скорость роста живой массы овец отмечается от рождения до 5-месячного возраста, за этот период она увеличивается в 27,5 раза ($P < 0,01$). После чего скорость роста живой массы замедляется и с 5-месячного до 6,5-месячного увеличивается только в 1,14 раза; с 6,5-месячного до 8-месячного – в 1,06 раза; с 8-месячного до 2 лет – в 1,41 раза ($P < 0,05$).

Абсолютная масса печени овец за весь период наблюдения (от трехсуточного возраста до двух лет) достоверно увеличивается в 16,56 раза ($P < 0,001$) с $43,0 \pm 9,03$ г до $712,1 \pm 8,45$ г (рисунок 2).

Относительная масса печени овец в трехсуточном возрасте составляет 3,58 %, к двухгодовалому возрасту происходит снижение этого показателя до 1,26 %, то есть в 2,8 раза ($P < 0,001$), за счет более интенсивного роста массы тела по сравнению с ростом массы печени (рисунок 3).

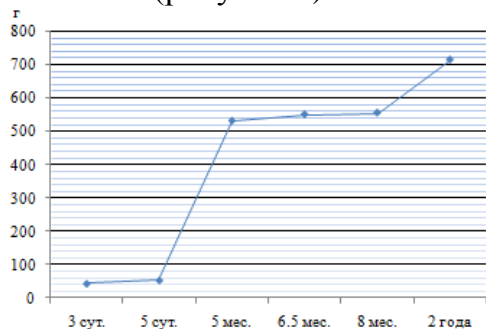


Рис. 2 – Динамика возрастных изменений абсолютной массы печени

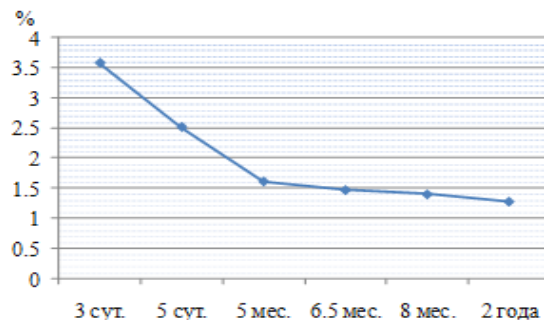


Рис. 3 – Динамика возрастных изменений относительной массы печени

Наиболее интенсивный рост печени отмечается в период от рождения до 5-месячного возраста, когда масса органа увеличивается в 10 раз (относительный прирост составляет 163,7%) ($P < 0,01$), за этот период живая масса овцы увеличивается в 27,5 раза ($P < 0,01$). Достоверное увеличение линейных размеров всех долей печени отмечается в период от новорожденности до 6,5 месячного возраста, за исключением длины сосцевидного отростка, в дальнейшем достоверно увеличивается длина только левой доли (табл. 2).

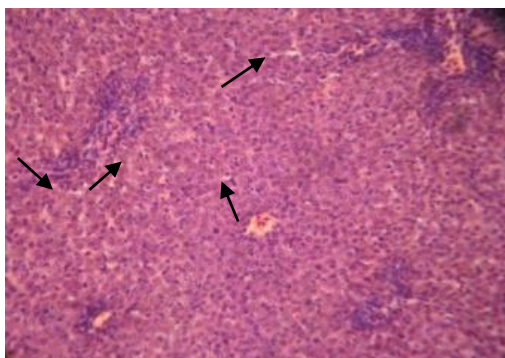
Таблица 2 – Линейные размеры долей печени овец тувинской короткожирнохвостой породы в постнатальном онтогенезе ($M \pm m$; $n = 8$), см

Показатели	Новорожденные		6,5 месяцев		2 года	
	длина	ширина	длина	ширина	длина	ширина
Левая доля	4.2±0.12	5.2±0.34	10,3±0,65**	12,6±0,27**	12,5±0,17*	13,3±0,21
Правая доля	5.9±0.21	5.7±0.16	13,0±0,31**	12,8±0,45**	14,4±0,62	13,7±0,13
Хвостатая доля	3.6±0.26	1.1±0.17	6,9±0,14**	3,3±0,35**	7,1±1,08	4,2±0,23
Квадратная доля	2.8±0.26	2.9±0.17	4,5±0,71*	6,7±0,52**	4,7±0,57	6,8±0,47
Хвостатый отросток	1.9±0.11	3.2±0.26	3,6±0,07**	7,8±0,35**	3,9±0,63	8,1±0,29
Сосцевидный отросток	0.9±0.12	0.9±0.21	1,1±0,85	2,2±0,70*	1,6±0,26	2,5±0,52

Примечание - уровень достоверности различий каждой возрастной группы по сравнению с предыдущей – * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$

2.2.1.3 Гистологические особенности печени овец на разных этапах постнатального онтогенеза

Гистологическое строение печени новорожденных ягнят. На препаратах печень имеет характерное строение: снаружи покрыта серозной оболочкой, под которой располагается капсула, представленная коллагеновыми волокнами. Толщина капсулы составляет $26,41 \pm 0,08$ мкм. Дольки имеют многоугольную форму, границы дольки слабо различимы. На границах долек хорошо различимы от 2 до 4 портальных трактов (рисунок 4). Внутренняя оболочка желчного капилляра триада выстлана кубическим эпителием, что позволяет его дифференцировать от артерии (рисунок 5).



*Рис.4 – Портальные тракты с триадами.
Окраска: гематоксилин и эозин. Об. 40х*

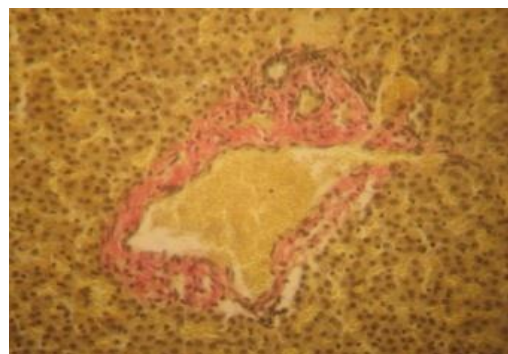
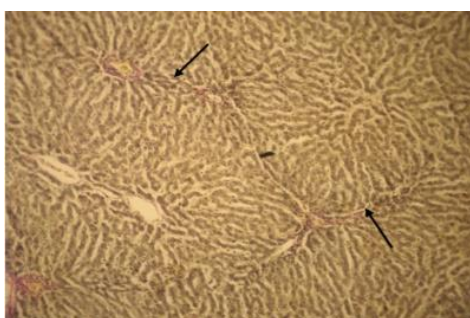


Рис.5 – Триада. Окраска: по методу Ван-Гизон. Об. 40х

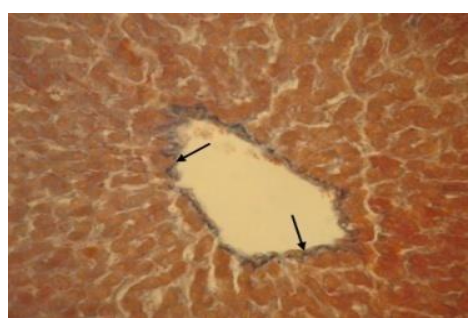
В печени новорожденных ягнят большинство гепатоцитов имеет одно округлой формы ядро, но встречаются гепатоциты с двумя ядрами. Фигуры митозов в гепатоцитах встречаются редко, чаще на границе долек, регистрируются amitotически делящиеся клетки с незавершенным карио- и цитокинезом, они имеют, как правило, большое ядро и небольшой объем цитоплазмы, что характеризует их как слабо-дифференцированные молодые клетки. К центру дольки клетки приобретают вид зрелых гепатоцитов, с большим объемом цитоплазмы вокруг ядра и характерной оксифилией. Наличие малодифференцированных клеток на границе долек свидетельствует о незавершенном гистогенезе печени у новорожденных ягнят. В цитоплазме некоторых гепатоцитов перивенулярной зоны встречались мелкие пылевидные включения, окрашиваемые суданом черным В.

Гистологическое строение печени взрослых овец в возрасте 6,5 месяцев.
Печень овец 6,5-месячного возраста покрыта соединительнотканной капсулой толщиной – $74,94 \pm 1,08$ мкм. Форма печеночных долек варьирует от овально-округлой до многоугольной. На границе долек выявляются соединительнотканнные перегородки, состоящие из единичных коллагеновых волокон красного цвета (рисунок 6).

Центральная вена печеночной дольки имеет округлую или овальную форму, просвет выражен, содержит коллагеновые волокна (рисунок 7).



*Рис. 6 – Печень овцы, 6,5 месяцев.
Коллагеновые волокна на границе долек.
Окраска: по методу Ван-Гизон. Об. 10х*



*Рис. 7 – Печень овцы, 6,5 месяцев.
Центральная вена.
Окраска: по методу Маллори. Об. 40х*

Гепатоциты имеют 4-5-угольную, иногда овальную вытянутую форму, их цитоплазма однородно-оксифильная. Ядро, расположенное, как правило, в центре клетки, имеет округлую или овальную форму, окрашено базофильно. Большинство гепатоцитов содержит одно ядро, но встречаются клетки и двуядерные клетки. В ядре на фоне слабо-базофильной кариоплазмы видны одно или два ядрышка. Кариоплазма

светлая. Хроматин сосредоточен преимущественно у кариолеммы. Цитоплазма гепатоцитов окрашивается оксифильно, в ней просматривается мелкая зернистость.

Цитолемма гепатоцитов ярко-оксифильна, четко ограничивает контуры клетки, что позволяет провести ее морфометрию. У взрослых особей, в отличие от новорожденных все гепатоциты имеют больший объем цитоплазмы по отношению к ядру, что свидетельствует о зрелости и завершенной дифференцировки клеток.

Соединительная ткань развита слабо, наибольшее количество выявляется на границе левой и правой долей и в районе ворот печени, где проходят крупные желчные протоки, вены и артерии (рисунок 8), а так же в области триады (рисунок 9), где коллагеновые волокна ярко-красного цвета контрастируют с паренхимой.

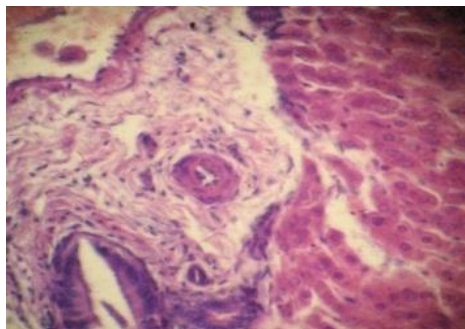


Рис. 8 – Граница долей печени

↑- соединительная ткань.

Окраска: гематоксилин и эозин. Об. 40х



Рис. 9 – Триада.

↑- коллагеновые волокна

Окраска: по методу Ван- Гизон. Об. 40х

Гистологическое строение печени взрослых овец в возрасте 2 лет. Печень 2-летних овец покрыта соединительнотканной оболочкой, состоящей из тонкой серозной оболочки и утолщенного слоя плотной волокнистой коллагеновой ткани, толщиной $128,15 \pm 0,23$ мкм. Прослойки волокнистой ткани выявляются на границах печеночных долек и между тяжами гепатоцитов. Полигональные гепатоциты содержат одно или два овальных ядра, встречаются гипертрофированные гепатоциты.

На границе долек располагаются портальные тракты, количество которых у 2-летних овец достигает 5-6. Центральные вены имеют значительные размеры и хорошо развитую соединительную ткань под эндотелием, по сравнению с таковыми в печени новорожденных ягнят.

Печень 2-летних овец на гистологическом уровне характеризуется сохранением основных признаков микроструктуры органа. Отличительными особенностями является незначительное увеличение волокнистой соединительной ткани в капсуле, междольковых перегородках, зоне портальных трактов и в стенке центральной вены; появление гипертрофированных клеток и клеток с гипертрофированными ядрами, а так же признаки дистрофических изменений.

2.2.1.4 Морфометрические особенности печени овец в возрастном аспекте

Возрастная динамика роста печеночных долек. От периода новорожденности до 6,5-месячного возраста площадь печеночных долек возрастает в три раза увеличиваясь с $0,22 \pm 0,04$ мм² до $0,66 \pm 0,03$ мм² ($P < 0,01$), в дальнейшем размер печеночных долек продолжает увеличиваться и к 2-летнему возрасту достигает около $1,0$ мм² ($1,03 \pm 0,09$ мм²), что уже в 4,7 раза больше площади печеночных долек у новорожденных ягнят (табл. 3).

Наибольшая скорость роста площади печеночных долек отмечается в ранний постнатальный период развития, затем скорость роста снижается и с 6,5-месячного до двухгодичного возраста размер долек увеличивается всего в 1,56 раза ($P < 0,01$).

Таблица 3 – Площадь печеночных долек, ($M \pm m$; $n=10$)

Возраст животных	Площадь дольки, мм^2
Новорожденные ягнята	$0,22 \pm 0,04^{**}$
Овцы, 6,5 месяцев	$0,66 \pm 0,03^{**}$
Овцы, 2 года	$1,03 \pm 0,09$

Примечание: здесь и далее – уровень достоверности отличий по сравнению с двухлетними овцами: * – $P < 0,05$; ** – $P < 0,01$

Динамика роста размеров гепатоцитов. Установлено, что площадь гепатоцитов с возрастом (от периода новорожденности до 2-летнего возраста) достоверно увеличиваются во всех зонах печеночной дольки: в перивенулярной зоне на 38,5% ($P < 0,01$), в интермедиальной зоне – на 38,1% ($P < 0,01$), а в перипортальной зоне – на 37,4% ($P < 0,01$) (табл. 4). Следует отметить, что своего дефинитивного развития гепатоциты достигают уже к 6,5-месячному возрасту, их размеры достигают в перивенулярной зоне – $140,44 \pm 6,24 \text{ мкм}^2$, в интермедиальной зоне – $142,38 \pm 3,55 \text{ мкм}^2$, в перипортальной зоне – $141,08 \pm 0,11 \text{ мкм}^2$, после этого размеры клеток изменяются незначительно ($P \geq 0,05$).

Таблица 4 – Площадь гепатоцитов в различных зонах печеночных долек ($M \pm m$; $n=30$), мкм^2

Возраст животных	Перивенулярные	Интермедиальные	Перипортальные
Новорожденные ягнята	$88,91 \pm 3,00^{**}$	$90,8 \pm 1,92^{**}$	$91,37 \pm 3,33^{**}$
Овцы, 6,5 месяцев	$140,44 \pm 6,24$	$142,38 \pm 3,55$	$141,08 \pm 0,11$
Овцы, 2 года	$143,77 \pm 8,46$	$146,86 \pm 5,61$	$145,97 \pm 2,09$

Динамика изменений ядерно-цитоплазматического отношения гепатоцитов печени овец. Наибольшее ядерно-цитоплазматическое отношение ($0,578 \pm 0,02$) определяется в гепатоцитах у новорожденных ягнят, что свойственно молодым, вновь образовавшимся клеткам. Наибольшее количество таких клеток располагается в перипортальной зоне, в интермедиальной и, особенно, в перивенулярной зонах располагаются клетки с меньшим ЯЦО.

С возрастом ЯЦО гепатоцитов снижается и к 6,5 месяцам становится вдвое меньше, достигая $0,283 \pm 0,01$ ($P < 0,01$), что свидетельствует о морфологической и функциональной зрелости. К 2-летнему возрасту ЯЦО составляет $0,255 \pm 0,01$, что на 9,8% меньше ($P < 0,05$), чем в 6,5 месяцев (табл. 5).

Таблица 5 – Ядерно-цитоплазматическое отношение в гепатоцитах, ($M \pm m$; $n=30$)

Группы животных	Ядерно-цитоплазматическое отношение
Новорожденные ягнята	$0,578 \pm 0,02^{**}$
Овцы, 6,5 месяцев	$0,283 \pm 0,01^*$
Овцы, 2 года	$0,255 \pm 0,01$

Динамика изменений размеров центральной вены печеночной долики.

Установлено, что с возрастом происходит достоверное увеличение периметра и диаметра центральной вены печеночной долики. Так, у новорожденных ягнят периметр вены составляет $199,80 \pm 22,49$ мкм, а к 6,5 месячному возрасту этот показатель возрастает в 2,26 раза ($P < 0,01$), достигая $452,54 \pm 24,47$ мкм, а к двухгодовалому возрасту увеличивается 2,52 раза ($P < 0,01$) по сравнению с периодом новорожденности и уже составляет $503,21 \pm 39,92$ мкм (табл. 6).

Таблица 6 – Периметр стенки центральной вены печеночных долек у овец тувинской короткожирнохвостой породы, мкм

Возраст животных	Периметра стенки центральных вен
Новорожденные ягнята	$199,80 \pm 22,49^{**}$
Овцы, 6,5 месяцев	$452,54 \pm 24,47$
Овцы, 2 года	$503,21 \pm 39,92$

Диаметр центральной вены от рождения до 6,5 месячного возраста увеличивается в 2,25 раза ($P < 0,01$) и достигает $136,76 \pm 11,34$ мкм, а к двухгодовалому возрасту – в 2,51 раза ($P < 0,01$) по сравнению с периодом новорожденности (табл. 7).

Таблица 7 – Диаметр просвета центральной вены печеночных долек у овец тувинской короткожирнохвостой породы ($M \pm m$; $n=30$), мкм

Возраст животных	Диаметра центральных вен
Новорожденные ягнята	$60,67 \pm 7,60^{**}$
Овцы, 6,5 месяцев	$136,76 \pm 11,34$
Овцы, 2 года	$152,75 \pm 16,05$

2.2.1.5 Гистохимические особенности печени овец в постнатальном онтогенезе

Исследования содержания гликогена в печени овец. Гистохимически у овец всех возрастных групп гликоген выявлялся в виде ярко-малиновых мелких овальных гранул, заполнявших гепатоциты. В клетках печени новорожденных ягнят гранулы гликогена немногочисленны, содержание их отмечается во всех зонах печеночных долек, но преимущественно в перивенулярной и интермедиальной зоне печеночной долики, то есть, там, где клетки достигали необходимого уровня дифференцировки (рис. 10). С возрастом количество гликогена в гепатоцитах возрастает. ШИК-позитивные мелкие красно-фиолетового цвета гранулы равномерно заполняют цитоплазму. Наибольшее количество гранул гликогена определяется в гепатоцитах перипортальной зоны, при этом гликоген выявляется в большинстве гепатоцитов печеночных пластинок.

Исследований содержания фосфолипидов в печени овец. Гистохимически у овец всех возрастных групп липиды выявляются в цитолемме и оболочке ядра гепатоцитов, при этом прокрашивается естественный билипидный слой, входящий в состав биологической мембраны цито- и кариолеммы. Поскольку кариолемма состоит из двойной биомембраны интенсивность ее окраски соответственно незначительно больше. В цитоплазме гепатоцитов у здоровых ягнят и овец 6,5-месячного возраста на микроструктурном уровне включения липидов не выявляли (рисунок 19).

У овец 2-летнего возраста в отдельных случаях обнаруживали жировые включения в гепатоцитах, как проявление жировой дистрофии печени. Форма

липидных включений чаще была овальная или округлая; размеры – от мелких до более крупных капель (рисунок 11). Жировая инфильтрация в цитоплазме гепатоцитов регистрировалась преимущественно в перипортальной зоне печеночной дольки.

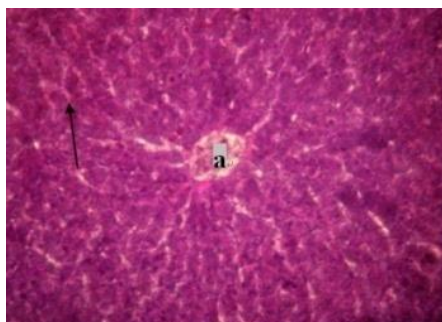


Рис. 10 – Печень новорожденного ягненка.
↑ – гликоген.
ШИК-реакция. Об. 40х

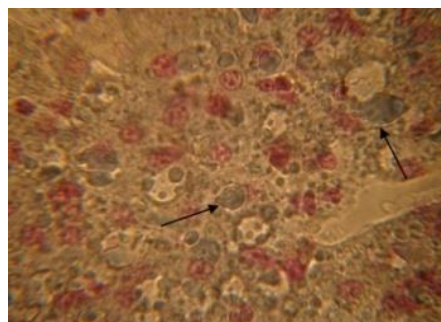


Рис. 11 – Печень овцы, 2 года.
Жировая инфильтрация.
Окраска: Судан черный В. Об. 100х

2.2.2 Изменения морфологии печени овец тувинской короткожирнохвостой породы при инвазиях.

2.2.2.1 Гистологические и гистохимические особенности печени овец при эхинококкозе. Эхинококковые кисты обнаруживали при послеубойном осмотре печени (рис. 12). Основные микроструктурные изменения обусловлены компрессией паренхимы печени, кровеносных сосудов и желчных ходов эхинококковым пузырем, с развитием дистрофических изменений и атрофией тканей печени. В паренхиме отмечали дисконфракцию печеночных балок, компрессию гепатоцитов, форма их становилась вытянутой, границы клеток окрашивались неотчетливо (рисунок 12, 13).

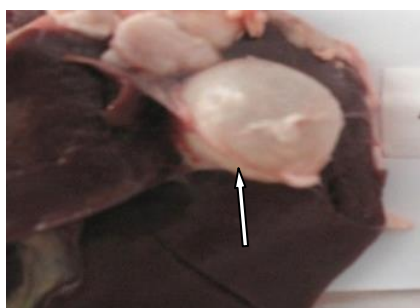


Рис. 12 – Эхинококковая киста в печени овцы

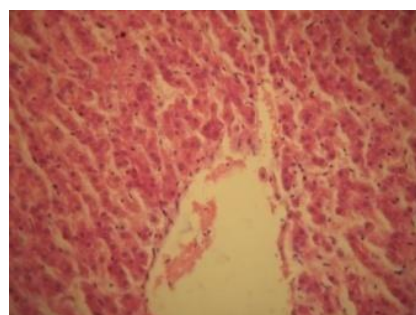


Рис. 13 – Компрессия гепатоцитов.
Окраска: гематоксилин и эозин. Об. 40х

2.2.2.2 Гистологические и гистохимические особенности печени овец при дикроцелиозе. В печени овец, у которых при копрологическом исследовании были выявлены яйца дикроцелий, отмечается значительное расширение синусоидных капилляров, эндотелий центральной вены печеночной дольки образует «частокол» – ядра эндотелиоцитов располагаются перпендикулярно оси клеток. Соединительная ткань вокруг желчных протоков сильно разрастается.

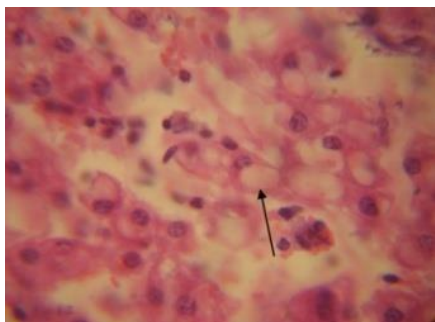
В паренхиме печени встречаются участки клеточного детрита (очаговый некроз) и разрастание лимфоидных элементов вокруг и по ходу сосудов. В клеточных инфильтратах преобладают лимфоциты, плазматические и гистиоцитарные клетки.

Количество гликогена в гепатоцитах снижено. Гранулы гликогена выявляются в некоторых клетках паренхимы печени, расположенные на границе печеночных долек,

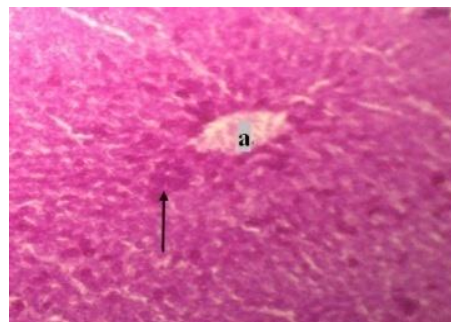
преимущественно вокруг артерий триады, иногда в гепатоцитах печеночных пластинок в центре дольки.

2.2.2.3 Гистологические и гистохимические особенности печени у овец при стронгилятозе. При гистологическом исследовании печени овец, у которых обнаружены яйца стронгилят, дольчатая структура органа слабо выражена, просветы центральных вен, артерий и вен триады содержат сгустки крови. Наблюдается дискомплексация печеночных балок. Гепатоциты перипортальной зоны окрашены неоднородно, ядро смещено на периферию, формируя так называемые «перстневидные клетки» (рисунок 14).

Основные изменения регистрируются в перипортальных зонах долек: гепатоциты гипертрофированы, набухшие, цитоплазма их просветлена, имеет ячеистую структуру, встречаются некрозы. Вокруг портальных трактов периваскулярная лимфоидно-гистиоцитарная инфильтрация. Количество гликогена в гепатоцитах перипортальной зоны снижено. Наибольшее количество гепатоцитов, содержащие гранулы гликогена, сосредоточены в перивенулярной зоне, вокруг центральной вены печеночной дольки (рисунок 15).



*Рис.14 – Перстневидные клетки.
Окраска: гематоксилин и эозин. Об.100х*



*Рис. 15– Перивенулярная зона.
a – центральная вена; ↑–гликоген;
ШИК-реакция. Об.10х*

ВЫВОДЫ

1. Печень у новорожденных ягнят тувинской короткожирнохвостой породы анатомически сформирована, а на микроструктурном уровне гистогенез незавершен. Постнатальное развитие органа обусловлено формированием печеночных долек и печеночных пластинок, за счет, преимущественно, amitotически делящихся клеток на границе печеночных долек, а так же увеличением их размеров.

2. Абсолютная масса печени овец от рождения до 2-летнего возраста увеличивается в 16,56 раза, а относительная масса печени, напротив, снижается с 3,58% до 1,26%. Наиболее интенсивный рост печени отмечается в период от рождения до 5-месячного возраста, когда масса органа увеличивается в 10 раз. Достоверное увеличение линейных размеров всех долей печени отмечается в период от новорожденности до 6,5 месячного возраста, за исключением длины сосцевидного отростка, в дальнейшем увеличивается лишь длина левой доли.

3. Наибольшая скорость роста структурно-функциональных единиц печени овец отмечается от рождения до 6,5-месячного возраста; за этот период размер печеночных долек увеличивается втрое, а гепатоцитов – в 1,5 раза, при этом их площадь в

перивенулярной, интермедиальной, перипортальной зонах печеночной дольки увеличивается пропорционально.

4. Гепатоциты у новорожденных ягнят имеют высокое ядерно-цитоплазматическое отношение ($0,578 \pm 0,02$), что свойственно молодым, малодифференцированным клеткам; к 6,5 месяцам ядерно-цитоплазматическое отношение гепатоцитов становится вдвое меньше, достигая $0,283 \pm 0,01$.

5. В постнатальном онтогенезе происходит достоверное увеличение периметра и диаметра центральной вены печеночной дольки. К 6,5 месячному возрасту периметр центральной вены увеличивается в 2,26 раза, и достигает $452,54 \pm 24,47$ мкм, а диаметр – в 2,25 раза, достигая $136,76 \pm 11,34$ мкм.

6. Печень 6,5-месячных овец представляет орган с завершенным морфогенезом, имеет классическое строение компактного паренхиматозного органа. Микроструктура печени характеризуется слабо выраженным дольчатым строением, на границах дольки при окраске срезов методами Маллори и Ван-Гизон выявляется незначительное количество коллагеновых волокон.

7. Отличительными особенностями печени 2-х годовалых овец является: незначительное увеличение волокнистой соединительной ткани в капсуле, междольковых перегородках, зоне портальных трактов и стенке центральной вены; в паренхиме печеночных долек появляются единичные гипертрофированные клетки, гепатоциты с гипертрофированными ядрами и признаками дистрофических изменений.

8. В постнатальном онтогенезе происходят гистохимические изменения в печени овец. У ягнят гликоген выявляется в хорошо дифференцированных клетках перивенулярной зоны, а у взрослых животных – в перипортальной зоне, что отражает разную функциональную активность различных зон печеночной дольки. Липиды в печени здоровых животных всех возрастных групп выявляются только в цитолемме и кариолемме гепатоцитов; редко мелкие жировые включения обнаруживаются в цитоплазме гепатоцитов 2-х годовалых овец.

9. При инвазиях овец происходят изменения микроструктуры печени, характеризующиеся дистрофическими и некробиотическими изменениями гепатоцитов и межуточной ткани; снижением гликогенсинтезирующей функции печени и нарушением жирового обмена. При эхинококкозе преимущественно отмечается компрессия гепатоцитов, воспалительные инфильтраты, дистрофические изменения и некрозы гепатоцитов; при дикроцилиозе – разrost соединительной ткани вокруг желчных протоков, очаговый некроз гепатоцитов, инфильтрация лимфоцитами, плазмоцитами и гистиоцитами перипортальных трактов; при стронгилятозе – жировая дистрофия гепатоцитов перипортальной зоны, периваскулярная лимфоидно-гистиоцитарная инфильтрация.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Результаты исследований морфологических особенностей печени овец тувинской короткожирнохвостой породы могут быть использованы:

– при написании соответствующих разделов учебных и справочных пособий и руководств по гистологии, патологической анатомии и паразитологии сельскохозяйственных животных;

– в учебном процессе на ветеринарных, зооинженерных и биологических факультетах высших и средних учебных заведений;

- в научно-исследовательских институтах, занимающихся выяснением видовых, породных и индивидуальных особенностей пищеварительных желез животных;
- для формирования общей картины развития и течения патологических процессов в печени при инвазиях мелкого рогатого скота.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

Статьи в ведущих научных журналах РФ, рекомендованных ВАК РФ:

1. **Ван Бэнь**, Донкова Н.В. Макро- и микроморфология печени овец тувинской короткожирнохвостой породы // Вестник КрасГАУ. – 2015. – № 2. – С. 185 – 189.
2. **Ван Бэнь**, Донкова Н.В. Гистологические и гистохимические особенности печени овец при инвазиях // Актуальные вопросы ветеринарной биологии. – 2015. – № 2. – С. 25 – 29.
3. **Ван Бэнь**. Динамика возрастных изменений печени овец тувинской короткожирнохвостой породы // Вестник КрасГАУ. – 2015. – № 6. – С. 204 – 209.

Статьи и тезисы докладов в других изданиях:

4. Н.В. Донкова, Д.В. Чертыгашев, С.В. Маслюкова, **Ван Бэнь**. Морфология печени, почек, селезенки у овец тувинской короткожирнохвостой породы // Проблемы развития АПК Саяно-Алтая: мат-лы междунар. науч.-практ. конф. – Абакан: ООО «Фирма- Март», 2013. – С. 259 – 261.
5. **Ван Бэнь**, Донкова Н.В. Микроструктура печени у овец короткожирнохвостой породы // Современные науч.-практ. достижения в ветеринарии: мат-лы Всерос. науч.-практ. конф. – Киров, 2014. – С. 16 – 18.
6. **Ван Бэнь**, Донкова Н.В. Гистологические особенности печени у овец короткожирнохвостой породы // Наука и образование: опыт, проблемы, перспективы развития Ч. 2: мат-лы XIII междунар. науч.-практ. конф. / Краснояр. гос. аграр. ун-т. – Красноярск, 2014. – С. 223 – 224.
7. **Ван Бэнь**, Донкова Н.В. Сравнительная характеристика морфометрии печени овец различных пород // Проблемы развития АПК Саяно-Алтая: мат-лы междунар. науч.-практ. конф. – Абакан, 2015. – С. 20 – 21.
8. **Ван Бэнь**, Донкова Н.В. Распределение гликогена в печени овец тувинской короткожирнохвостой породы при инвазиях // VIII междунар. науч.-практ. конф. молодых ученых. «Инновационные тенденции развития российской науки» / Краснояр. гос. аграр. ун-т. – Красноярск, 2015. – С. 103–108.
9. Донкова Н.В., **Ван Бэнь**, Лебедева Т.С. Тувинская короткожирнохвостая порода овец как источник получения высококачественной баранины // Проблемы современной аграрной науки: мат-лы междунар. заоч. Науч. конф. – Красноярск, 2015. – С. 41–43.

Ван Бэнь (Китай)

***Морфология печени овец тувинской короткожирнохвостой породы в
постнатальном онтогенезе***

В работе представлены результаты анатомо-гистологических, морфометрических и гистохимических исследований печени овец тувинской короткожирнохвостой породы. Установлены закономерности роста и развития печени овец на этапах постнатального развития. Представлены данные по морфометрии структурно-функциональных единиц печени овец тувинской короткожирнохвостой породы. Показаны особенности гистохимических преобразований в гепатоцитах в связи с возрастом. Установлен характер морфофункциональных изменений в печени овец при инвазиях.

Wang Ben (China)

***Morphology of a liver of sheep of the Tuva korotkozhirnokhvesty breed in post-natal
ontogenesis***

Results of anatomo-histologic, morphometric and histochemical researches of a liver of sheep of the Tuva korotkozhirnokhvesty breed are presented in thesis. Consistent patterns of growth and development of a liver of sheep at stages of post-natal development are determined. Data on a morphometry of structurally functional units of a liver of sheep of the Tuva korotkozhirnokhvesty breed are submitted. Features of histochemical transformations in hepatocytes in connection with age are shown. Character themorphological functional of changes in a liver of sheep at invasions is established.