

ИЗМЕНЕНИЕ СТРУКТУРЫ ПЕЧЕНИ ЦЫПЛЯТ ПОД ВЛИЯНИЕМ МИТОФЕНА И АНТИГЕННОГО ФАКТОРА

Д. О. ЖУРОВ

УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»,
г. Витебск, Республика Беларусь, 210026

(Поступила в редакцию 15.11.2021)

В статье приведены результаты исследований по изучению структуры печени цыплят при экспериментальном заражении патогенным штаммом вируса инфекционной бурсальной болезни (ИББ) и применении митофена. Установлено, что при экспериментальном заражении цыплят штаммом вируса ИББ в печени цыплят выявлялись патологические процессы, связанные с нарушением обмена веществ – зернистая, мелкокапельная жировая и вакуолярная дистрофия, а также отек клеток, деформация ядра, преобладание стромальных процессов над паренхиматозными.

При применении антиоксидантного препарата «Митофен» морфометрические показатели характеризовались нормализацией клеточных компонентов печени. При этом увеличился размер гепатоцитов, происходило увеличение количества двуядерных клеток, повышалась плотность содержания клеток печени на условную единицу площади. При иммуногистохимическом исследовании установлено наличие специфических фенотипов лимфоцитов в паренхиме печени, что свидетельствует об активации гуморального иммунитета.

Ключевые слова: патоморфологические изменения, печень, количественная морфометрия, цыплята, митофен, иммуногистохимия, вирус.

The article presents results of research into the structure of chicken liver with experimental infection with a pathogenic strain of virus of infectious bursal disease (IBD) and the use of mitofen. It was found that during the experimental infection of chickens with the IBD virus strain, pathological processes associated with metabolic disorders were revealed in the liver of chickens – granular, fine-droplet fatty and vacuolar degeneration, as well as cell edema, deformation of the nucleus, the predominance of stromal processes over parenchymal ones.

When the antioxidant preparation «Mitofen» was used, the morphometric parameters were characterized by the normalization of cellular components of the liver. At the same time, the size of hepatocytes increased, the number of binucleated cells increased, and the density of the content of liver cells per conventional unit of area increased. An immunohistochemical study revealed the presence of specific phenotypes of lymphocytes in the liver parenchyma, which indicates the activation of humoral immunity.

Key words: pathomorphological changes, liver, quantitative morphometry, chickens, mitofen, immunohistochemistry, virus.

Введение

В печени животных и птиц происходит ряд сложных процессов: образование и выведение желчи, участвующей в превращении жирных кислот в растворимые соединения, способные всасываться в желудочно-кишечном тракте. Здесь же происходит синтез и отложение гликогена, обратное превращение его в сахар и поступление в кровь по мере потребности организма [1–9]. Также печень птицы функционально тесно связана с формированием желтка в яйцеклетках яичника. Она участвует во всех обменах веществ, является депо витаминов, выполняет антиоксикационную функцию [10]. Кроме того, в инкубационный период печень является органом кроветворения. Столь многочисленные и важные функции печени определяют её значение для всего организма. Негативные факторы окружающей среды и микроклимата помещения, несбалансированное кормление животных, возбудители болезней оказывают влияние на количественные параметры печени, её анатомо-топографические характеристики и функциональную активность [11]. Изучение морфологической перестройки печени сельскохозяйственной птицы в норме и под влиянием антигенных нагрузок, применении различных лекарственных препаратов и кормовых добавок представляет интерес для ветеринарной медицины и птицеводства в целом.

Цель работы – установить макроскопические, морфометрические и иммуногистохимические изменения в печени цыплят при экспериментальном заражении вирулентным штаммом вируса ИББ на фоне применения митофена.

Основная часть

Исследования проводили на 120-ти СПФ-цыплятах (свободных от специфических антител к вирусу ИББ) 28-дневного возраста, разделенных на 3 группы по принципу аналогов по 40 голов в каждой. Цыплятам первых двух опытных групп интраназально вводили по 0,2 мл высоковирулентного штамма «52/70-М» вируса ИББ в дозе 3,5 Ig ЭИД₅₀/0,2 мл. Птице 1-й группы в течение всего опыта вместе с питьевой водой давали антиоксидант «Митофен» (50 мг/кг массы). Интактные цыплята 3-й группы служили контролем. Убой птицы всех групп осуществляли на 7-е сутки эксперимента [12]. Аутопсию трупов и извлечение внутренних органов осуществляли по общепризнанным методикам, описывая макроскопические изменения. Для проведения дальнейшего

морфологического исследования отбирались кусочки печени, которые фиксировались в 10 % растворе нейтрального формалина [13]. Этапы приготовления гистологических срезов (промывка, обезвоживание и уплотнение) проводили согласно методике лаборатории кафедры патологической анатомии и гистологии УО ВГАВМ. Для изучения общих структурных изменений срезы окрашивали гематоксилин-эозином. Для иммуногистохимического исследования срезы обрабатывали моноклональными антителами к CD8⁺ и CD79⁺ (производитель «Дасо») [14].

Гистологические исследования проводили с помощью светового микроскопа «Olympus BX51». Полученные данные документированы микрофотографированием с использованием цифровой системы считывания и ввода видеоизображения «ДСМ-510», а также программы «ScorePhoto» с соответствующими настройками для проведения морфологического анализа.

Цифровые данные были обработаны статистически с использованием программы Statistica 10.0 для программного продукта Windows. Критерии Стьюдента на достоверность различий сравниваемых показателей оценивали по трем порогам вероятности (уровням достоверности): * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ и *** $p < 0,001$.

При макроскопическом исследовании печень цыплят контрольной группы была не увеличена в размере, форма не изменена, цвет красно-коричневый, упругой консистенции, рисунок строения сохранен.

Печень цыплят 1-й группы во все сроки исследования была незначительно увеличена в размерах, форма не изменена, консистенция незначительно размягчена, цвет серо-коричневый, рисунок дольчатого строения просматривался нечетко.

Печень цыплят 2-й группы на всем протяжении опыта была увеличена в размере, форма не изменена, консистенция дряблая, цвет серо-коричневый, рисунок сохранен.

У цыплят контрольной группы печень состоит из стромы и паренхимы. Строма органа – капсула, покрывающая орган снаружи, и состоящая из плотной неоформленной соединительной ткани. Волокна в капсуле расположены рыхло, между ними находятся четко оформленные клеточные структуры. Размер капсулы печени у цыплят контрольной группы составлял $15,3 \pm 2,13$ мкм. От капсулы вглубь органа отходили соединительнотканые прослойки, состоящие из рыхлой волокнистой соединительной ткани.

Паренхима органа представлена печеночными дольками и системой выводных протоков (рис. 1). В центре каждой дольки располагалась центральная вена. От нее радиально отходят печеночные балки (трабекулы), сформированные клетками-гепатоцитами. Балки, анастомозируя между собой, образуют сеть. Между ними имеются щелевидные отверстия – синусоидные капилляры. Балочные структуры разделялись отчетливо. При этом границы классических печеночных долек не выявляются. Триады располагаются обычно и просветы просматриваются хорошо. В контрольной группе цыплят толщина трабекул составила $14,12 \pm 3,11$ мкм.

У цыплят контрольной группы гепатоциты были полиморфными, цитоплазма их окрашивается слабоокислительно, равномерно. Размеры гепатоцитов равновеликие. Ядра гепатоцитов имеют округло-овальную форму, располагаются в центральной части клетки. В клетках иногда визуализируются два ядра, что характеризует их высокую функциональную активность. Установлено, что большой размер ядра клеток печени цыплят-бройлеров 35-суточного возраста составлял $9,27 \pm 0,25$ мкм, ядра гепатоцитов – $6,2 \pm 0,67$ мкм. Плотность гепатоцитов на условную единицу площади у цыплят контрольной группы составляет $638 \pm 49,7$. При этом 13% от данного показателя составляют гепатоциты, имеющие два ядра.

По трабекуле между клетками проходит желчный капилляр. Помимо желчных капилляров в печеночных балках, располагаются также и кровеносные сосуды. В выводных отверстиях желчных протоков обнаруживаются единичные кристаллы желчных пигментов. Кровеносные и желчные капилляры отделяются не только гепатоцитами, но и эндотелиальными клетками. Между печеночными балками от периферии к центру долек располагаются кровеносные капилляры в виде просветов. Их стенка образована клетками эндотелия. Просвет синусоидных капилляров заполнен эритроцитами. Диаметр центральной вены печени цыплят-бройлеров составлял $87,14 \pm 9,12$ мкм.

У цыплят 1-й группы толщина капсулы незначительно уменьшалась по сравнению с контролем. Печеночные триады определялись четко, располагались обычно. Просветы желчных протоков пустые. Печеночные балки сближены и незначительно S-образно извиты. Толщина трабекул у цыплят, зараженных вирусом ИББ на фоне применения митофена, увеличивалась по отношению ко 2-й группе цыплят в 1,2 раза. В печени цыплят данной группы хорошо определяются синусоидные капилляры, заполненные эритроцитами. Вокруг кровеносных сосудов и в паренхиме встречаются множественные

лимфоидно-макрофагальные пролифераты. На некоторых участках выявляются зернистая, иногда жировая дистрофия гепатоцитов. В цитоплазме клеток печени просматривались белковые зерна розового цвета. Сами печеночные клетки незначительно увеличены, ядро смещено к периферии. Встречаются множественные светлые гепатоциты. В большем количестве наблюдаются ядра полиморфной формы, нередко с двумя или тремя ядрышками. Показатели диаметра гепатоцитов и их ядер при применении митофена характеризуются положительной динамикой – $7,9 \pm 0,8$ мкм и $5,8 \pm 0,2$ мкм ($P_{1-2} < 0,01$) соответственно. Плотность гепатоцитов на условную единицу площади составила $532,75 \pm 62,4$. При этом 10 % от общего количества гепатоцитов в данной группе птицы составляют двуядерные клетки. Данный показатель выше, чем в двух аналогичных группах цыплят в опыте. Просвет синусоидных капилляров умеренно заполнен эритроцитами.

У цыплят, зараженных вирусом ИБВ (2-я группа), при гистологическом исследовании толщина капсулы печени увеличивается в 1,3 раза по сравнению с контролем. Толщина трабекул уменьшается по сравнению с контролем и составила $8,56 \pm 0,13$ мкм ($P_{2-3} < 0,001$). В печени выявляется выраженная дисконкомплексация (разрушение) балочной структуры, зернистая, мелкокапельная жировая и вакуольная дистрофия. Синусоидные капилляры расширены, вытянутые, ветвистые, плотно заполнены эритроцитами. Междольковые вены плотно заполнены эритроцитами по всем печёночным полям. Вокруг центральных вен, пустых от эритроцитов, а также в паренхиме печени замечены оформленные лимфоидно-макрофагальные гранулемы и пролифераты (рис. 2). Ядра гепатоцитов неправильной формы, в большом количестве в состоянии пикноза, оттеснены на периферию, в участках гидропической (вакуольной) дистрофии они отсутствуют. Длинный диаметр клетки в данной группе имеет такой же показатель, как и у цыплят контрольной группы. Плотность содержания гепатоцитов на условную единицу площади уменьшался в 1,5 раза по сравнению с контролем. При этом количество двуядерных гепатоцитов уменьшалось в 3 раза по сравнению контрольной группой цыплят ($P_{2-3} < 0,05$). Просветы синусоидных капилляров находятся в состоянии выраженной гиперемии, растянуты.

При иммуногистохимическом исследовании установлено, что в печени цыплят субпопуляция $CD8^+$ лимфоцитов располагается диффузными островками по 7–10 экземпляров и локализуется по всей паренхиме органа. Некоторые $CD79^+$ лимфоциты располагаются одиночно или массивными скоплениями по всей поверхности паренхимы печени, чаще вблизи стенки кровеносных сосудов.

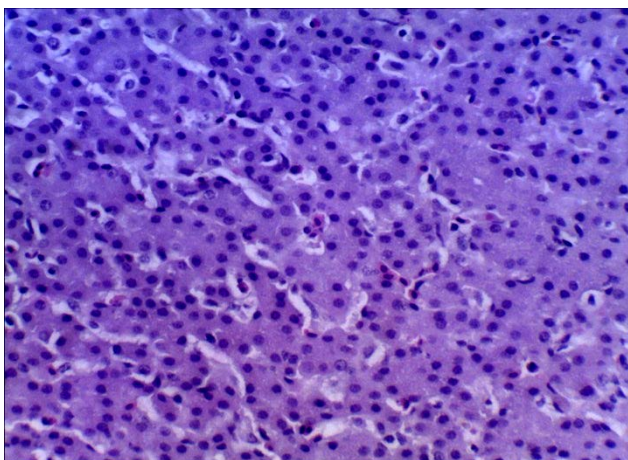


Рис. 1. Печень цыпленка в состоянии гистологической нормы. 7-е сутки опыта. Окраска гематоксилин-эозином. Olympus BX51. Микрофото. Ув.: х 480.

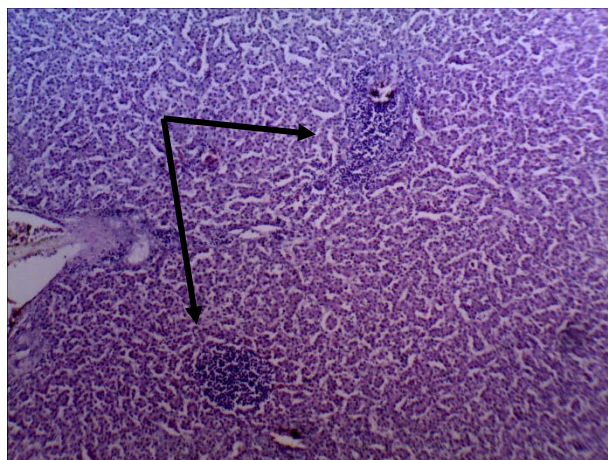


Рис. 2. Лимфоидно-макрофагальные пролифераты в паренхиме печени цыпленка на 7-е сутки опыта. 2-я группа. Окраска гематоксилин-эозином. Olympus BX51. Микрофото. Ув.: х 240.

Заключение

Печень цыплят представляет собой компактный орган, выполняющий ряд важных функций, определяющих анатомо-гистологическую структуру органа.

Установлены значительные изменения морфометрических показателей печени цыплят в условиях экспериментального заражения цыплят вирулентным штаммом вируса ИБВ. У птицы выявлялись патологические процессы, характерные для нарушения обмена веществ – зернистая, мелкокапельная жировая и вакуольная дистрофия, а также отек клеток, деформация ядра, превалирование стромальных процессов над паренхиматозными.

При применении антиоксиданта митофена отмечались единичные участки с дистрофией различного происхождения. Морфометрические показатели характеризовались нормализацией качественных и количественных характеристик клеточных компонентов органа при действии на организм антигена.

При этом увеличивался размер гепатоцитов, количества двуядерных клеток печени, а также ядер, имеющих два и более ядрышек, повышалась плотность содержания клеток печени на условную единицу площади ткани, что свидетельствует об активизации функциональной активности органа. При иммуногистохимическом исследовании установлено наличие специфичных фенотипов лимфоцитов в паренхиме печени, что свидетельствует об активации гуморального иммунитета.

ЛИТЕРАТУРА

1. Патоморфологическая и дифференциальная диагностика инфекционной бурсальной болезни птиц: рекомендации / И. Н. Громов [и др.] // Витебск: ВГАВМ, 2017. – 20 с.
2. Анатомио-гистологические параметры печени бройлеров при стрессе / С. В. Козлова [и др.]. – Вестник КрасГАУ. – 2021. – № 5. – С. 109–115.
3. Курилкин, В. В. Морфологическое строение печени у кур (обзор) / В. В. Курилкин, В. Е. Никитченко // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Агрономия и животноводство. – 2011. – №4. – С. 77–87.
4. Александровская, О. В. Цитология, гистология и эмбриология / О. В. Александровская, Т. Н. Радостина, Н. А. Козлов. – М.: Агропромиздат, 1987. – 447 с.
5. Основы гепатологии: морфология, физиология, патология / К. А. Сидорова [и др.]. – Тюмень: Издательство «Вектор-Бук», 2019. – 148 с.
6. Практикум по анатомии и гистологии с основами цитологии и эмбриологии сельскохозяйственных животных / В. Ф. Вракин [и др.]. – Издание 3-е, переработанное и дополненное. – Санкт-Петербург: Издательство «Лань», 2013. – 352 с.
7. Применение антиоксидантов для повышения иммунной реактивности организма птиц: рекомендации / Д. О. Журов [и др.]. – Витебск: ВГАВМ, 2019. – 24 с.
8. Журов, Д. О. Влияние вируса инфекционного бронхита на патоморфологию почек цыплят / Д. О. Журов // Ученые записки учреждения образования Витебская ордена Знак почета государственная академия ветеринарной медицины. – 2015. – Т. 51. – № 1-1. – С. 197–201.
9. Журов, Д. О. Макро- и микроструктурные изменения в почках цыплят при инфекционной бурсальной болезни / Д. О. Журов, И. Н. Громов // Ветеринарный журнал Беларуси. – 2020. – № 1(12). – С. 32–36.
10. Морфологическая характеристика печени цыплят-бройлеров при применении Нуклеостима / И. Р. Долинин [и др.] // Вестник Башкирского государственного аграрного университета. – 2020. – № 3(55). – С. 38–47.
11. Сулайманова, Г. В. Гистологические особенности печени цыплят-бройлеров кросса Арбор Айкрез на разных этапах постэмбрионального онтогенеза / Г. В. Сулайманова, Н. В. Донкова, А. А. Люто // Вестник КрасГАУ. – 2019. – № 11(152). – С. 39–45.
12. Журов, Д. О. Изменение гистологической структуры почек цыплят в условиях экспериментальной бирнавиральной инфекции / Д. О. Журов // Животноводство и ветеринарная медицина. – 2020. – № 3(38). – С. 52–57.
13. Отбор образцов для лабораторной диагностики бактериальных и вирусных болезней животных: учеб. – метод. пособие / И. Н. Громов [и др.]. – Витебск: ВГАВМ, 2020. – 64 с.
14. Журов, Д. О. Динамика субпопуляций лимфоцитов CD8⁺ и CD79⁺ в органах иммунитета цыплят, зараженных штаммом «52/70-М» вируса ИББ на фоне применения митофена / Д. О. Журов // Ветеринарный журнал Беларуси. – 2020. – №2(13). – С. 14–18.