

УДК 619:616.98-091.8:615.37:636.5

**Журов Д.О., Савенко Н.А.
Zhurov D.O., Savenko N.A.**

**УО «ВИТЕБСКАЯ ОРДЕНА «ЗНАК ПОЧЕТА»
ГОСУДАРСТВЕННАЯ АКАДЕМИЯ ВЕТЕРИНАРНОЙ
МЕДИЦИНЫ»,
Витебск, Республика Беларусь
Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine, Vitebsk, Republic of
Belarus**

**АРХИТЕКТОНИКА ПЕЧЕНИ ЦЫПЛЯТ В УСЛОВИЯХ
АНТИГЕННОЙ НАГРУЗКИ И ПРИМЕНЕНИИ МИТОФЕНА
ARCHITECTONICS OF CHICKEN LIVER UNDER THE
CONDITIONS OF ANTIGENIC LOAD AND USE OF MITOPHEN**

Аннотация. В статье приведены результаты исследований по макроскопическому, морфометрическому и иммуногистохимическому исследованию печени цыплят-бройлеров при экспериментальном заражении патогенным штаммом вируса инфекционной бурсальной болезни (ИББ) и применении митофена. Установлено, что при экспериментальном заражении цыплят патогенным штаммом вируса ИББ в печени цыплят выявлялись патологические процессы, характерные для нарушения обмена веществ – зернистая, мелкокапельная жировая и вакуольная дистрофия, а также отек клеток, деформация ядра, преобладание стромальных процессов над клеточными. При применении антиоксидантного препарата «Митофен» отмечались участки с дистрофией различного генеза. Морфометрические показатели характеризовались нормализацией клеточных компонентов органа при действии на организм антигена. При этом увеличивался размер гепатоцитов, происходило увеличение количества двуядерных клеток печени, повышалась плотность содержания клеток печени на условную единицу площади. При иммуногистохимическом исследовании установлено наличие специфичных фенотипов лимфоцитов в паренхиме печени, что свидетельствует об активации гуморального иммунитета.

Abstract. The article presents the results of studies on macroscopic, morphometric and immunohistochemical studies of the liver of broiler chickens during experimental infection with a pathogenic strain of infectious bursal disease virus (IBD) and the use of mitofen. It was found that during the experimental infection of chickens with a pathogenic strain of the IBD virus in the liver of chickens, pathological processes characteristic of metabolic disorders were revealed - granular, fine-droplet fatty and vacuolar dystrophy, as well as cell edema, deformation of the nucleus, the prevalence of stromal processes over cellular processes. When using the antioxidant drug «Mitofen», areas with dystrophy of various origins were noted. The morphometric parameters were characterized by the normalization of the cellular components of the organ under the action of the antigen on the organism. At the same time, the size of hepatocytes increased, there was an increase in the number of binucleated liver cells, and the density of the content of liver cells increased per conditional unit of area. An immunohistochemical study revealed the presence of specific phenotypes of lymphocytes in the liver parenchyma, which indicates the activation of humoral immunity.

Ключевые слова: патоморфологические изменения, печень, морфометрия, цыплята, антиоксидант, иммуногистохимия.

Keywords: pathomorphological changes, liver, morphometry, chickens, antioxidant, immunohistochemistry.

Введение. В современных условиях промышленное птицеводство является ведущей отраслью сельского хозяйства Республики Беларусь [2, 4, 5, 6, 7]. Поточная технология предусматривает высокую плотность посадки птицы на ограниченной территории, в результате чего происходит естественное пассирование микроорганизмов и вирусов и усиление их вирулентных свойств. Данная технология выращивания птицы приводит к возникновению стрессовых ситуаций, под действием которых снижается резистентность и повышается чувствительность организма птицы к различным заболеваниям. Необходимо помнить о взаимосвязи эндогенных и экзогенных факторов и их влиянии на рост и развитие организма как основы вариативной анатомии. Доказано, что факторы окружающей среды, микроклимата, несбалансированное кормление, возбудители болезней оказывают влияние на количественные параметры внутренних органов, в том числе печени, их анатомо-топографические характеристики и функциональную активность. В

этой связи, важно исследование морфологии печени, как самой крупной железы пищеварительного тракта [1].

В печени происходит ряд сложных процессов: образование и выведение желчи, участвующей в превращении жирных кислот в растворимые соединения, способные всасываться в пищеварительном тракте. В печени происходит синтез и отложение гликогена, обратное превращение его в сахар и выделение в кровь по мере потребности организма. Кроме этого, печень птицы функционально тесно связана с формированием желтка в яйцеклетках яичника. Она участвует в белковом, жировом, углеводном и водном обменных процессах, является депо витаминов, выполняет детоксикационную функцию. Кроме того, в эмбриональный период печень является органом кроветворения. Столь многочисленные и важные функции печени определяют её значение для организма. Изучение внутриорганной и экстраорганной архитектоники печени сельскохозяйственной птицы представляет интерес для ветеринарной медицины, биологии и птицеводства в целом [3].

Цель работы – описание гистологических и морфометрических изменений в печени цыплят-бройлеров при экспериментальном заражении патогенным штаммом вируса ИББ на фоне применения антиоксиданта митофена.

Материалы и методы исследований. Исследования проводили на 120-ти SPF-цыплятах (свободных от специфических антител к вирусу ИББ) 28-дневного возраста, разделенных на 3 группы по принципу аналогов по 40 голов в каждой. Молодняку 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 3-и сутки эксперимента. Аутопсию трупов и извлечение внутренних органов осуществляли по общепризнанным методикам и схемам, описывая макроскопические изменения в органе. Для проведения дальнейшего морфологического исследования отбирались кусочки печени, которые фиксировались в 10% растворе нейтрального формалина. Этапы приготовления гистологических срезов (промывка, обезвоживание и уплотнение) проводили согласно методике, имеющейся в лаборатории кафедры патологической анатомии и

гистологии УО ВГАВМ. Для изучения общих структурных изменений срезы окрашивали гематоксилин-эозином.

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 *** $p < 0,001$.

Результаты исследований и обсуждение. У цыплят контрольной группы печень как паренхиматозный орган состояла из стромы и паренхимы. Строма органа – капсула, покрывающая орган снаружи. Капсула представлена плотной неоформленной соединительной тканью, волокна в которой расположены рыхло, между ними находятся четко оформленные клеточные структуры. Размер капсулы органа у цыплят контрольной группы составлял $13,22 \pm 2,35$ мкм. От капсулы вглубь органа отходили соединительнотканые прослойки, состоящие из рыхлой волокнистой соединительной ткани.

Паренхима органа была представлена печеночными дольками и системой выводных протоков. В центре каждой дольки располагалась центральная вена. От нее радиально отходили печеночные балки (трабекулы), сформированные клетками-гепатоцитами. Балки, анастомозируя между собой, образовывали сеть. Между ними имелись щелевидные отверстия – синусоидные капилляры. Балочные структуры разделялись отчётливо. Границы классических печёночных долек не выявлялись. Триады расположены обычно, просветы просматривались хорошо. В контрольной группе цыплят толщина трабекул составила $6,37 \pm 0,14$ мкм.

У цыплят контрольной группы гепатоциты были полиморфными, цитоплазма их окрашивалась слабооксифильно, равномерно. Размеры гепатоцитов равновеликие. Ядра гепатоцитов имели округло-овальную форму, располагались в центральной части клетки. В клетках иногда визуализировались два ядра, что характеризует их высокую функциональную активность. Нами

установлено, что большой размер ядра клеток печени цыплят-бройлеров 31-суточного возраста составлял $4,75 \pm 0,42$ мкм, ядра гепатоцитов – $3,65 \pm 0,42$ мкм. Плотность гепатоцитов на условную единицу площади у цыплят контрольной группы составляла $427 \pm 72,75$. При этом 8% от данного показателя составляли гепатоциты, имеющие два ядра.

По трабекуле между клетками проходил желчный капилляр. Помимо желчных капилляров в печеночных балках, располагались также и кровеносные сосуды. В выводных отверстиях желчных протоков обнаруживались единичные кристаллы желчных пигментов. Кровеносные и желчные капилляры отделялись не только гепатоцитами, но и эндотелиальными клетками. Между печеночными балками от периферии к центру долек располагались кровеносные капилляры, имели вид просветов. Их стенка состояла из клеток эндотелия. Просвет синусоидных капилляров был заполнен эритроцитами. Диаметр центральной вены печени цыплят-бройлеров составлял $109,76 \pm 12,01$ мкм.

У цыплят 1-й группы толщина капсулы незначительно уменьшалась по сравнению с контролем. Печеночные триады определялись чётко, располагались обычно. Просветы желчных протоков пустые. Печёночные 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 на 12%.

В печени цыплят данной группы хорошо определялись синусоидные капилляры с единичными эритроцитами. Вокруг кровеносных сосудов и в паренхиме встречались единичные мелкие лимфоидно-макрофагальные пролифераты. На некоторых участках выявлялась зернистая, иногда жировая дистрофия гепатоцитов. В цитоплазме клеток печени просматривались белковые зерна розового цвета. Сами печеночные клетки были незначительно увеличены, ядро смещено к периферии, в некоторых случаях наблюдались микроскопические признаки некроза (пикноз). Встречались единичные светлые гепатоциты. В большем количестве наблюдались ядра полиморфной формы (трапециевидные, овальные, треугольные). Показатели диаметра гепатоцитов и их ядер при применении митофена характеризовались положительной динамикой – $4,93 \pm 0,61$ мкм и $3,6 \pm 0,45$ мкм ($P_{1-2} < 0,01$) соответственно. Плотность гепатоцитов на условную единицу площади составила $415 \pm 15,45$. При

этом 11% от общего количества гепатоцитов в данной группе птицы составляли двуядерные клетки. Данный показатель выше, чем в двух аналогичных группах цыплят в эксперименте. Просвет синусоидных капилляров умеренно был заполнен эритроцитами.

У цыплят, зараженных вирусом ИББ (2-я группа), при гистологическом исследовании размер капсулы печени увеличивался в 1,3 раза по сравнению с аналогичным показателем у цыплят контрольной группы. Толщина трабекул уменьшалась по сравнению с контролем и составила $8,25 \pm 0,56$ мкм ($P_{2-3} < 0,001$). В печени выявлялась выраженная дисконкомплексация (разрушение) балочной структуры, зернистая, мелкокапельная жировая и вакуольная дистрофия (рисунок 1). Синусоидные капилляры были 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 (рисунок 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 увеличивался на 12%, ядра – в 1,2 раза ($P_{2-3} < 0,001$). Плотность содержания гепатоцитов на условную единицу площади уменьшался в 1,3 раза по сравнению с контролем. При этом количество двуядерных гепатоцитов увеличивалось на 3% по сравнению контрольной группой цыплят и увеличивалось в 1,4 раза по сравнению с 1-й группой цыплят. Однако вышеупомянутые показатели были недостоверными. Просветы синусоидных капилляров находились в состоянии выраженной гиперемии, были растянуты.

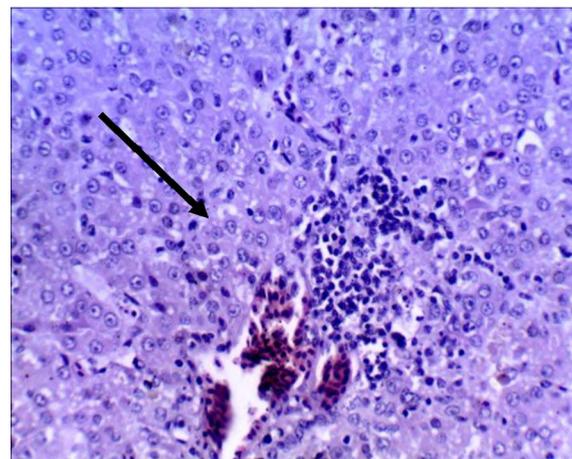
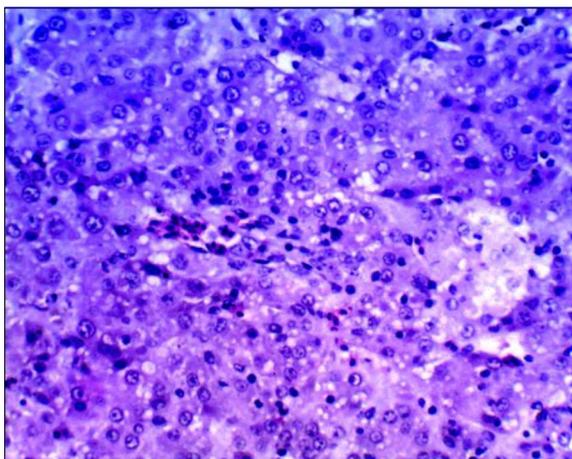


Рисунок 1 – Участки мелкокапельной жировой и вакуольной дистрофии печени. 2-я группа цыплят. 3-и сутки печени цыпленка 2-й группы на опыта. Состояние 3-и сутки эксперимента. морфологической нормы. Окраска гематоксилин-эозином. Olympus BX51. Микрофото. Ув.: x 240.

Рисунок 2 – Лимфоидно-макрофагальный пролиферат вблизи кровеносного сосуда. 2-я группа цыплят. 3-и сутки печени цыпленка 2-й группы на опыта. Состояние 3-и сутки эксперимента. морфологической нормы. Окраска гематоксилин-эозином. Olympus BX51. Микрофото. Ув.: x 240.

Проведенные исследования позволили выявить значительные изменения морфометрических показателей печени цыплят в условиях антигенного прессинга на фоне применения антиоксидантного препарата «Митофен». При экспериментальном заражении цыплят патогенным штаммом вируса ИББ в печени цыплят выявлялись патологические процессы, характерные для нарушения обмена веществ – зернистая, мелкокапельная жировая и вакуольная дистрофия, а также отек клеток, деформация ядра, превалирование стромальных процессов над клеточными.

При применении антиоксидантного препарата «Митофен» отмечались участки с дистрофией различного генеза. Морфометрические показатели характеризовались нормализацией клеточных компонентов органа при действии на организм антигена. При этом увеличивался размер гепатоцитов, происходило увеличение количества двуядерных клеток печени, повышалась плотность содержания клеток печени на условную единицу площади. При иммуногистохимическом исследовании установлено наличие специфичных фенотипов лимфоцитов в паренхиме печени, что свидетельствует об активации гуморального иммунитета.

Литература

1. Журов, Д. О. Гистоархитектоника, морфометрические и иммуногистохимические изменения в печени цыплят в условиях антигенной нагрузки и при применении митофена / Д. О. Журов // Ученые записки учреждения образования Витебская ордена Знака почета государственная академия ветеринарной медицины. – 2021. – Т. 57. – № 4. – С. 23-28. – DOI 10.52368/2078-0109-2021-57-4-23-28.
2. 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.
3. 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.
4. Журов, Д. О. Морфология органов иммунной системы цыплят при инфекционной бурсальной болезни / Д. О. Журов, И. Н. Громов // Ветеринарный журнал Беларуси. – 2019. – № 2(11). – С. 29-33.
5. Морфология органов иммунной системы цыплят при заражении штаммом "52/70-м" вируса инфекционной бурсальной болезни и применении антиоксидантного препарата / Д. О. Журов, И. Н. Громов, А. С. Алиев, А. К. Алиева // Животноводство и ветеринарная медицина. – 2018. – № 1. – С. 46-53.
6. Патоморфологические изменения в почках кур при ассоциативном течении подагры и мочекаменной болезни на фоне кормового токсикоза / Д. О. Журов, И. Н. Громов, А. С. Алиев, А. С. Петрунин // Животноводство и ветеринарная медицина. – 2014. – № 4. – С. 51-56.
7. Zhurov, D. O. To the problem of nephropathy in industrial poultry / D. O. Zhurov, I. N. Gromov // DIGEST International VETinstanbul Group Congress 2015, Санкт-Петербург, 07–09 апреля 2015 года / Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины. – Санкт-Петербург: Типография ООО "ТОППРИНТ", 2015. – Р. 492.