

**ГИСТОСТРУКТУРА ПЕЧЕНИ ЦЫПЛЯТ, ПОЛУЧАВШИХ
СОРБЕНТ АЭРОСИЛ****И.Н. ЯКОВЛЕВА¹, Г.И. ГОРШКОВ¹, Н.Н. КУЩ²**

Провели микроскопическое изучение печени цыплят кросса Бройлер 6, которым с 6- до 40-суточного возраста добавляли в корм сорбент аэросил (SiO_2). На фоне применения препарата в паренхиме печени увеличивалось соотношение между светлыми функционально активными и темными, более инертными, гепатоцитами, в ядре которых преобладал гетерохроматин в виде глыбчатых скоплений вдоль внутренней поверхности ядерной оболочки. В светлых гепатоцитах увеличивался объем ядер, число и объем митохондрий и гранулярной эндоплазматической сети, повышалась доля мелкодисперсного эухроматина, уменьшалась число гранул гликогена в цитоплазме. Светлые гепатоциты формировали открытые, темные — спавшиеся желчные капилляры.

Ключевые слова: цыплята, сорбент аэросил, гепатоциты, ядра, митохондрии, хроматин.

Keywords: chickens, sorbent aerosil, hepatocytes, nucleus, mitochondries, chromatine.

До недавнего времени адсорбирующим средствам отводилась незначительная роль в физиологии, фармакологии и фармакотерапии. Лечебные и антитоксические свойства активированного угля, талька, каолина и других представителей этой группы объясняли тем, что при нанесении в тонкоизмельченном состоянии они не всасываются через кожу и слизистые оболочки, а создают своего рода защитный слой, предотвращая всасывание других веществ. Внимание к сорбентам повысилось после того, как на основе природных алюмосиликатов и оксидов кремния были созданы новые препараты, нашедшие широкое применение в медицине, в том числе ветеринарной.

Сорбенты способствуют интенсивному росту и сохранности молодняка, повышают продуктивность взрослых животных (1-4), улучшают физико-химические и биологические свойства молока у коров, что положительно сказывается на жизнеспособности потребляющих его телят (5, 6), у откормочных животных снижают количество токсикантов в продуктах убоя (7). Кремнийсодержащие сорбенты положительно влияют на биохимический статус крови и обменные процессы в организме животных, профилактируют и устраняют желудочно-кишечные расстройства, стимулируют заживление ран, эффективны при заболеваниях кожи (8). Большинство авторов объясняют это влиянием способностью сорбентов задерживать в кишечнике абсорбцию экзо- и эндотоксинов и уменьшать алиментарную токсическую нагрузку на организм.

Цель настоящей работы заключалась в изучении гистоструктуры печени цыплят при введении в их рацион препарата аэросил.

Методика. Научно-производственные эксперименты проводил на цыплятах-курочках кросса Бройлер 6 (Курганская птицефабрика, Харьковская обл., а также виварий Харьковской зооветеринарной академии, Украина, 1989-1990 годы; виварии Белгородского государственного университета и Белгородской государственной сельскохозяйственной академии, 2003-2004 годы). Птицу, разделенную на две группы (по 120 цыплят в каждой), содержали в клеточных батареях на стандартном рационе. В работе использовали препарат аэросил (Калушский опытно-экспериментальный завод, Украина), соответствующий ТУ ГОСТ 14992-77 (9), — белый мелкодисперсный аморфный порошок на основе диоксида кремния (SiO_2), массовая доля — 99,9 %, величина частиц — 5-20 нм, заряд отрицательный, адсорбционная емкость — 300 м²/г. Контролем служила I группа, цыплятам II (опытной) группы с 6- до 40-суточного возраста в корм добавля-

ли аэросил (доза — 1 г/кг корма).

В 1-, 10-, 30- и 40-суточном возрасте цыплят взвешивали, по окончании эксперимента декапитировали. Пробы для исследования отбирали из большей доли верхушки печени у 5 особей в каждой группе. Префиксацию проб осуществляли глутаральдегидом, дальнейшую фиксацию — 1 % раствором тетроксидом осмия. Обезвоженные образцы пропитывали эпоксидными смолами (эпон, аралдит). Из полимеризованных блоков с помощью стеклянных ножей получали полутонкие срезы (2 мкм), которые монтировали на стекла, окрашивали 1 % раствором азура II и заключали в полистирол. Срезы анализировали, применяя прибор Видео-Тест-Морфология (ООО «Видео Тест», г. Санкт-Петербург). Для электронно-микроскопических исследований готовили ультратонкие срезы на микротоме УМТП-5 (Россия). Срезы контрастировали насыщенным раствором уранилацетата, окрашивали цитратом свинца и изучали с использованием электронного микроскопа ЭВМ-100АК (г. Сумы, Украина) при напряжении 75 кВ.

Результаты. При взвешивании средняя масса 1-суточных цыплят (исходное состояние) в контрольной и опытной группах была одинаковой — 39,5 г. На 10-е сут в контрольной группе она повысилась до $127,5 \pm 2,77$, в опытной — до $123,7 \pm 3,18$ г. На 30-е сут наблюдалась небольшая разница в пользу опытной группы ($836,2 \pm 15,60$ и $855,2 \pm 19,00$ г, $p > 0,05$), которая на 40-е сут оказалась более существенной ($1673,6 \pm 15,10$ и $1767,8 \pm 24,60$ г, или 5,63 %, $p < 0,05$). Сохранность цыплят была практически одинаковой: в I группе — 96,8, во II группе — 97,2 %.

В печени цыплят из контрольной и опытной групп отмечали наличие двух типов гепатоцитов — темных и светлых (рис. 1, А, Б). Темные характеризовались более осмиефильной структурой цитоплазмы и всех компонентов эргастоплазмы. Большое число уплощенных канальцев цитоплазмы было заполнено плотными глыбками различных размеров (рис. 2, А). Такие же глыбки обнаруживались вне канальцев. На этом фоне выделялись четко выраженные электронно-плотные контрастные глыбки, соответствующие гранулам гликогена.

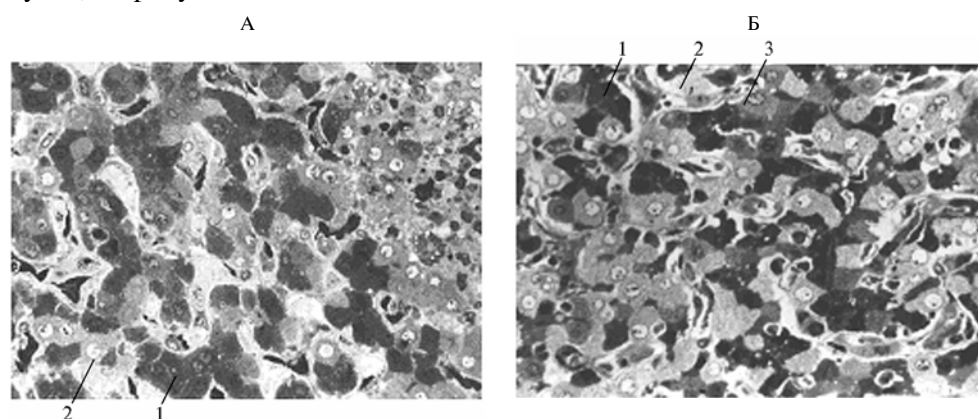


Рис. 1. Полутонкий срез печени 40-суточных цыплят кросса Бройлер 6, не получавших (А) и получавших (Б) аэросил: 1 — темные гепатоциты, 2 — светлые гепатоциты, 3 — «серые» гепатоциты. Окраска азуром II, микроскоп Микмед-2 (Россия); увеличение $\times 40$ (объектив), $\times 10$ (окуляр) (виварий Белгородской государственной сельскохозяйственной академии, 2003-2004 годы).

В цитоплазме клеток четко контурировались митохондрии округлой, овальной и неправильной формы. Между их тонкими извилистыми кристами располагался плотный матрикс. Отдельные митохондрии были умеренно набухшими с небольшим числом крист и хлопьевидным матриксом, который неравномерно распределялся по внутримитохондриальному пространству. Ядерная оболочка характеризовалась узким, местами не-

скольким расширенным перинуклеарным пространством. Большая часть объема ядер гепатоцитов оказалась занята мелкозернистым, хлопьевидным, сетчатым материалом эухроматина, тогда как гетерохроматин распределялся в основном в виде глыбчатых скоплений вдоль внутренней поверхности ядерной оболочки и лишь небольшое его количество обнаруживалось в центральной зоне и вокруг ядрышка, имеющего глобулярно-хлопьевидную структуру. В паренхиме печени выявлялись двуядерные гепатоциты.

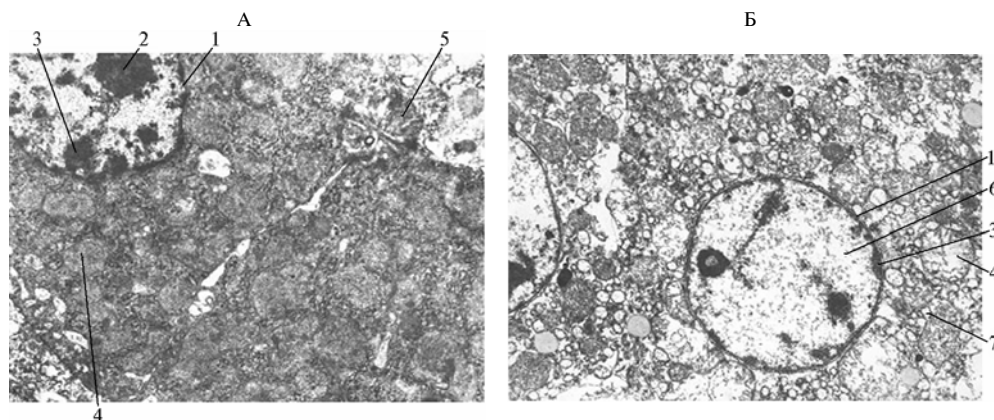


Рис. 2. Электронограмма темных (А, увеличение $\times 8000$) и светлых (Б, увеличение $\times 7000$) гепатоцитов в печени 40-суточных цыплят кросса Бройлер 6, не получавших аэросил: 1 — ядерная мембрана, 2 — ядрышко, 3 — гетерохроматин, 4 — митохондрии, 5 — желчный капилляр, 6 — эухроматин, 7 — эндоплазматическая сеть. Окраска цитратом свинца, микроскоп ЭВМ-100АК (виварий Белгородской государственной сельскохозяйственной академии, 2003-2004 годы).

Светлые клетки печени имели меньшую плотность всех компонентов цитоплазмы и ядра (см. рис. 2, Б). Значительную часть их объема занимали относительно однородные по структуре, но разнообразные по форме митохондрии, в которых на фоне мелкодисперсного матрикса слабо контурировались тонкие, иногда редуцированные кристы. Митохондрии в гепатоцитах часто были почти полностью окаймлены узкими канальцами эндоплазматической сети с электронно-плотными контрастными рибосомами на внешней стороне мембран. Умеренно набухшие светлые канальцы эндоплазматической сети без рибосом обнаруживались по всей площади цитоплазмы, свободные рибосомы — чаще в околядерной зоне. Ядро было, как правило, округлой формы с четко выраженной двуконтурной оболочкой. На внешней поверхности ядерной оболочки выявлялись рибосомные частицы. Эухроматин был преимущественно мелкодисперсно-хлопьевидным. Гетерохроматин в виде скоплений глыбок локализовался непосредственно у внутренней поверхности ядерной оболочки. Одно-два ядрышка имели глыбчато-хлопьевидное строение и часто располагались у внутренней мембраны ядра. В цитоплазме наряду с умеренно набухшими элементами аппарата Гольджи и эндоплазматической сети присутствовали многочисленные розетки гранул гликогена. Липидные включения округлой формы и небольших размеров встречались редко. В большинстве гепатоцитов эргастоплазма равномерно распределялась по всему объему, однако в некоторых случаях обнаруживались зоны разрежения и локального распада внутриклеточных структур. В области периваскулярного пространства выявлялись макрофагоподобные клетки, фагосомы которых содержали элементы распавшихся клеток и другие детриты.

В пространстве Диссе присутствовали микроворсинки различной величины, образованные инвагинирующей плазмалеммой гепатоцитов, а также отростки макрофагов, фибробластов, отдельные эритроциты. Базальная мембрана эндотелиоцитов капилляров часто прилежала к поверхности тем-

ных и светлых гепатоцитов. В гемоциркуляторном русле обнаружались темные и светлые эндотелиальные клетки.

В паренхиме печени цыплят, не получавших аэросил, соотношение темных и светлых клеток составляло 1,3:1, средний объем ядра светлых гепатоцитов достигал $61,1 \pm 1,0$, темных — $27,6 \pm 1,0$ мкм³. Можно предположить, что в паренхиме печени цыплят-бройлеров наблюдается перемежающаяся активность светлых (активно функционирующих) и темных (функционально покоящихся) гепатоцитов.

В печени цыплят, получавших аэросил, доля стромы была снижена, а паренхимы — увеличена на 6,1 % ($p < 0,01$). Ядерно-цитоплазмное отношение составило 1:6,71 против 1:6,36 в контроле. Абсолютный и относительный объем митохондриальных структур в гепатоцитах увеличился соответственно на 28,8 и 22,5 % ($p < 0,01$). В печеночных трубках сохранялось разделение на светлые и темные гепатоциты. Значительная часть активно функционирующих гепатоцитов непосредственно контактировала с эндотелиоцитами открытых капилляров. В отличие от контроля существенно увеличивалось число светлых гепатоцитов, находящихся в активном морфофункциональном состоянии. Их ядра были более крупными, преимущественно округлой формы. В цитоплазме находилось большое число митохондрий, светлых пузырьков и цистерн с расширенными полостями эндоплазматической сети.

Митохондрии чаще имели округлую форму, короткие кристы и просветленный матрикс. Некоторые из них находились в умеренно возбужденном состоянии, что свидетельствует об интенсификации в них энергозависимых функций. Гиалоплазма клеток заметно просветлялась. Вокруг многих митохондрий располагались узкие каналы гранулярной эндоплазматической сети. По сравнению с контролем заметно уменьшилось содержание гранул гликогена, они оказались более мелкодисперсными. Одновременно увеличивалось содержание и размеры липидных капель. В цитоплазме клеток чаще выявлялись лизосомоподобные структуры. Ядра в гепатоцитах были светлые, содержали одно или два хорошо контурированных ядрышка. Существенно возрастала объемная доля мелкодисперсного эухроматина и уменьшалось содержание глыбок гетерохроматина. В цитоплазме светлых гепатоцитов обнаруживались светлые пищеварительные вакуоли с детритами разрушенных структур.

Темные гепатоциты были меньших размеров, преимущественно полигональной формы, с плотной упаковкой внутриклеточных органелл и включений, которую можно объяснить умеренной дегидратацией цитоплазмы. В гиалоплазме темных клеток оказалось увеличенное количество аморфного и мелкозернистого материала. Митохондрии характеризовались осмиефильностью, нечетко выраженными кристами. Пузырьки и каналы эндоплазматической сети были уплощены и содержали хлопьевидный материал. Ядра, иногда неправильной формы, имели меньшие размеры, повышенное содержание глыбок гетерохроматина и сниженное — мелкодисперсного эухроматина; их оболочка формировала инвагинаты. Размеры ядрышек увеличивались. В области межклеточного контакта гепатоцитов выявлялись желчные капилляры, на внутренней поверхности которых располагалось множество микроворсинок.

Как правило, светлые гепатоциты формировали открытые, темные — спавшиеся желчные капилляры. В паренхиме печени цыплят, получавших аэросил, наряду с темными и светлыми гепатоцитами присутствовали переходные формы — «серые» клетки (см. рис. 1, Б).

Кровеносные капилляры состояли чаще из нескольких эндотелиоцитов, маргинальные зоны которых были истончены. В цитоплазме эндо-

телиальных клеток определялись хорошо выраженные «люки» — каналы, через которые происходит интенсивный обмен веществ (капиллярно-тканевый обмен), диапедез форменных элементов крови в интерстиций.

Таким образом, использование в рационе цыплят-бройлеров кормовой добавки аэросил приводило к развитию в печени птиц структурных изменений, свидетельствующих о формировании компенсаторно-приспособительных реакций долговременного типа, которые оставляли «структурный след» в паренхиматозном и стромальном компонентах печени. Прежде всего, повышалось число светлых гепатоцитов, на высокую функциональную активность которых указывают следующие морфологические признаки.

Во-первых, происходит увеличение размеров этих клеток и объема их ядер, уменьшение доли гранулярного компонента в хроматине. Изменение содержания гетерохроматина обусловлено процессом его эухроматизации, выраженным в различной степени в зависимости от зоны ядра. Наиболее значимые изменения наблюдались в примембранной зоне ядер активно функционирующих гепатоцитов. Во-вторых, в цитоплазме светлых гепатоцитов увеличивается число умеренно набухших митохондрий, что обусловлено усилением обменных процессов в связи с повышением функционального запроса, предъявляемого к печени. В-третьих, в цитоплазме активно функционирующих гепатоцитов достоверно возрастает число липидных включений и уменьшается содержание гликогена. Такое перераспределение энергетического субстрата свидетельствует об активации процессов метаболизма липидов, поступающих из кровеносного русла в паренхиматозные клетки печени. Следовательно, в активно функционирующих гепатоцитах возрастает потребление липидов в качестве субстрата для обеспечения энергетических, синтетических и пластических процессов. Следует отметить, что повышенная доля темных гепатоцитов при действии сорбентов, отмеченная в работе М.М. Куца (10), связана с отнесением к ним переходных форм.

Изменения ультраструктуры печени можно объяснить энтеротропным влиянием сорбента и снижением с его помощью токсической нагрузки на печень. Однако не исключается и резорбтивное влияние кремния на организм. Соединения кремния всасываются в передних отделах кишечника, циркулируют в крови и накапливаются в печени, селезенке, коже, легких, почках и других органах (11). Наибольшей растворимостью в организме обладают коллоидная (H_2SiO_3) и аморфная (SiO_2) формы (13). Последняя составляет основу аэросила. С возрастом содержание кремния в организме человека снижается. С этим связывают старческие изменения кожи и кожные заболевания, которые можно облегчить подкожным или внутривенным введением кремниевой кислоты (14). Существуют сведения о том, что кремний стимулирует функции соединительной ткани (15) и необходим организму как фактор прочности эпителиальных и соединительнотканых образований (13). Учитывая связь кремния с нуклеиновыми кислотами, его участие в обмене липидов, фосфора, серы и других веществ (2, 16, 17), логично предположить непосредственное влияние этого элемента на антитоксическую функцию печени за счет увеличения численности светлых гепатоцитов и активизации в них неидентифицированных ферментных систем.

Итак, на фоне применения аэросила в паренхиме печени цыплят повышается соотношение между светлыми, функционально активными, и темными, более инертными, гепатоцитами. В светлых гепатоцитах цыплят, получавших аэросил, увеличивался объем ядер, возрастала доля мелкодисперсного эухроматина, уменьшалось число гранул гликогена в цитоплазме. В большинстве случаев светлые гепатоциты формировали открытые, а

темные — спавшиеся желчные капилляры.

ЛИТЕРАТУРА

1. Мусиенко Н.А., Шапошников А.А., Габрук Н.Г. и др. Применение сорбирующих добавок в животноводстве. Химия в сельском хозяйстве, 1997, 1: 18-19.
2. Паршина В.В. Активность амилолитических и протеолитических ферментов химуса у коров при действии кормовых добавок с адсорбционными свойствами. С.-х. биол., 2008, 2: 72-77.
3. Бердников П.П., Рябуха В.А., Диких И.П., Фёдорова А.О., Смирнова О.В. Физиологическое обоснование использования цеолита совместно с гипохлоритом натрия при выращивании цыплят. С.-х. биол., 2009, 4: 71-74.
4. Гамидов М.Г., Труш Н.В., Черкасов В.Г., Цыбанков С.А., Шулъга И.С. Оценка действия цеолитов куликовского месторождения на функции репродуктивных органов. С.-х. биол., 2010, 2: 52-53.
5. Габрук Н.Г. Эколого-биохимическое обоснование использования сорбентов в рационах лактирующих коров. Автореф. канд. дис. Дубровицы, 1998.
6. Посохов А.В. Физиологическое состояние и обмен веществ у сухостойных коров и получение от них телят при скармливании препаратов «Экос» и «Экопремикс». Автореф. канд. дис. Белгород, 2001.
7. Шапошников А.А., Мусиенко Н.А., Везенцев А.И. и др. Использование природного гидроалюмосиликата в животноводстве и ветеринарии. Метод. реком. Белгород, 2003.
8. Федин А.С., Кокарев В.А., Матренин А.П. и др. Биологическое обоснование потребности животных в кремнии. Саранск, 1993.
9. Аэросил. ТУ ГОСТ 14922-77. Дата введения 01.01.78.
10. Куш М.М. Морфофункціональна характеристика печінки курчат-бройлерів при використуванні кормових добавок гумінату, аеросилу та гумісилу. Автореф. канд. дис. Харків, 1998.
11. Ван-Соест П. Роль кремния в питании растений и животных. Сельское хозяйство за рубежом, 1971, 11: 19-20.
12. Воронков М.Г. Кремний и жизнь. В межд. ежегод. «Наука и человечество». М., 1988: 145-157.
13. Войнар А.О. Биологическая роль микроэлементов в организме животных и человека. М., 1953.
14. Мейер Г., Готлиб Р. Экспериментальная фармакология как основа лекарственного лечения. Т. 2. Л., 1941.
15. Мецлер Д. Биохимия. Химические реакции в живой клетке. Т. 1. М., 1980.
16. Медне Н.Т. Влияние кремния на некоторые показатели мукоидного и липидного обмена. Автореф. канд. дис. Рига, 1968.
17. Матюшевский Л.А. Фармакология и применение препаратов кремния в животноводстве. Автореф. докт. дис. Краснодар, 2005.

¹ФГБОУ ВПО Белгородская государственная сельскохозяйственная академия им. В.Я. Горина, 308503 Белгородская обл., Белгородский р-н, п. Майский, Вавилова, 1, e-mail: vetfakbsaa@gambler.ru;

²Харьковская государственная зооветеринарная академия, 62301 Украина, Харьковская обл., Дергачевский р-н, с. Малая Даниловка, пос. ХГЗВА

Поступила в редакцию
25 ноября 2009 года

HISTOSTRUCTURE OF CHICKEN'S LIVER AFTER ADDITION OF AEROSIL SORBENT TO THEIR RATION

I.N. Yakovleva¹, G.I. Gorshkov¹, N.N. Kushch²

S u m m a r y

The microscopic investigations of chicken liver of the Broiler 6 cross, which consumed Aerosil sorbent (SiO₂) added to their ration at the age of 6-40 days were made. The apply of this preparation results in increase of the ratio between light functional hepatocytes and dark hepatocytes, more inert, in nucleus of which the heterochromatin prevails in the form of lumpy aggregation along inner surface of nuclear membrane. In light hepatocytes the nucleus volume, number and volume of mitochondries and granular endoplasmatic network are increasing; the part of fine-dispersed euchromatin is raising, but the number of glycogen granules in cytoplasm is decreasing. The light hepatocytes form open bile capillaries, but the dark — decreased ones.