

На правах рукописи

Воронин Александр Михайлович

Морфологическое обоснование эффективности применения белкового гидролизата в пушном звероводстве

06.02.01 – Диагностика болезней и терапия животных,
патология, онкология и морфология животных

АВТОРЕФЕРАТ

**диссертации на соискание учёной степени
кандидата биологических наук**

Москва – 2020

Работа выполнена в ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина»

Научный руководитель: **Слесаренко Наталья Анатольевна**
доктор биологических наук, профессор,
заслуженный деятель науки РФ

Официальные оппоненты: **Порублев Владислав Анатольевич**
доктор биологических наук, доцент,
профессор кафедры паразитологии и
ветсанэкспертизы, анатомии и патанатомии им.
профессора С.Н. Никольского ФГБОУ ВО
Ставропольский государственный аграрный
университет

Шестакова Валерия Геннадьевна
кандидат биологических наук, доцент,
заведующий кафедрой гистологии,
эмбриологии и цитологии ФГБОУ ВО Тверской
ГМУ Минздрава России

Ведущая организация: ФГБОУ ВО Иркутский ГАУ

Защита диссертации состоится «16» июня 2020 года в 13:00 часов на заседании диссертационного совета Д 220.042.02 при ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина» по адресу: 109472, г. Москва, ул. Академика Скрябина, д.23.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО «МГАВМиБ – МВА имени К.И. Скрябина» по адресу: 109472, г. Москва, ул. Академика Скрябина, д.23, <http://mgavm.ru> и на сайте ВАК РФ <http://vak.ed.gov.ru/>

Автореферат разослан «__» _____ 2020 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета Д 220.042.02,
кандидат ветеринарных наук, доцент

П.Н. Абрамов

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы

Российская Федерация традиционно является одной из трех ведущих держав мира, имеющих развитую отрасль звероводства, которая играет важную роль в экономическом развитии страны и обеспечении населения пушно-меховым сырьем и готовой продукцией. На сегодняшний день в условиях государственной поддержки сельского хозяйства и проводимой политики импортозамещения наметилась тенденция возрождения отечественного звероводства, в частности норководства.

Существующий дефицит в этой отрасли качественных и безопасных для организма кормов, а также пребывание животных в условиях, резко отличающихся от естественных, привели к снижению их продуктивных качеств и общей устойчивости к условиям окружающей среды (Астраханцев В.И., 1972, Сидорович В.И., 1995, Балакирев Н.А., 2001, Квартникова Е.Г., 2013 и др.).

В связи с этим, в технологии выращивания пушных зверей активно внедряют современные подходы к составлению рационов кормления с целью устранения последствий острого дефицита питательных веществ, в первую очередь – белков, которые, как известно, являются основным структурным элементом для построения тканей организма (Албулов А.И., 2016, Лоенко Н.Н., 2016, Кровина Е.В., 2016, Максимюк Н.Н., 2010, Степанишин В.В., 2015 и др.).

Таким образом, особо важным представляется поиск натуральных источников белка и включение их в рацион кормления животных, что определяет в конечном итоге и качественные показатели получаемого пушно-мехового сырья (Абрамов П.Н., 2018, Гунько А.Е., 2016, Рогов Р.В., 2015 и др.).

В доступной литературе имеются отдельные сведения о воздействии белковых кормовых добавок на организм животных и их роли в увеличении показателей продуктивности некоторых видов сельскохозяйственных животных. В то же время сведения, отражающие изменения морфофункционального статуса кишечного канала у пушных зверей при применении белковых компонентов в их рационе, крайне малочисленны и носят фрагментарный характер (Абрамов П.Н., 2013, Антипов А.А., 2010., Балакирев Н.А., 2014, Василевич Ф.И., 2019 и др.).

Следует подчеркнуть, что структурная характеристика органов пищеварительного аппарата во многом отражает физиологические процессы, протекающие в организме и обуславливает формирование всех систем организма животных, включая общий покров, что непосредственно отражается и на товарно-технологических показателях получаемой шкурковой продукции (Кумиров С.Г., 2018, Слесаренко Н.А., 2019, Албулов А.И., 2016 и др.).

Степень разработанности темы:

Интерес к изучению морфофункциональной характеристике кишечника и общего покрова пушных зверей при изменении традиционного режима кормления в Российской Федерации посвящены исследования Денисенко В.Н., 2013, Абрамова П.Н., 2015, Слесаренко Н.А., 2015, Степанишина В.В., 2015, Мамотюка Е.А., 2017.

Исходя из вышеизложенного, можно заключить, что существующий дефицит качественной кормовой базы приводит к снижению продуктивных качеств пушных зверей. Поэтому необходимо оценить характер морфологических преобразований кишечного канала и общего покрова норки при изменении традиционного режима кормления и включения в рацион продуктов белкового гидролиза.

Цель исследования - представить морфологическое обоснование эффективности применения белкового гидролизата в пушном звероводстве, на основании установленных структурных преобразований кишечника и общего покрова.

Для реализации выше обозначенной цели перед нами был поставлен **ряд конкретных задач:**

1. Установить анатомо – топографические особенности отделов кишечника норки клеточного содержания в условиях традиционного кормления.

2. Выявить сравнительные макроморфологические признаки и морфометрические параметры кишечника у зверей подопытной и контрольной групп.

3. Определить макроморфологические показатели стенки кишечного канала, корреляционные отношения ее слоев у сравниваемых групп животных.

4. Представить комплекс структурных преобразований кишечника у норки при использовании белкового гидролизата.

5. Охарактеризовать структурное состояние кожного покрова при введении в рацион белкового гидролизата с целью обоснования эффективности его применения в клеточном норководстве.

Научная новизна исследования

Оценено влияние белкового гидролизата из мышечной ткани норки на структурную организацию кишечного канала американской норки, выражающееся в усилении его всасывательной способности, барьерной, моторной функций и отсутствии патологических макроморфологических изменений кишечника, деструктивных перестроек его стенки. Показано, что увеличение всасывательной поверхности кишечной стенки выражается в достоверном ($P \leq 0,05$) удлинении кишечных ворсин, уплотнении крипт и их углублении; активизация барьерной функции сопровождается возрастанием в её стенке представительства кишечной лимфоидной ассоциированной ткани и экзокриноцитов с ацидофильными гранулами (клеток Панета), а моторной функции – суммарным утолщением мышечной оболочки.

Внесены дополнения в анатомио – топографическую и микроморфологическую характеристику тонкого отдела кишечника: наличие краниального остроугольного изгиба двенадцатиперстной кишки с локальным присутствием в его начальном отрезке в подслизистом слое дуоденальных желез, а также клапана в области подвздошно – ободочного соединения, оформленного в виде двух створок – складок слизистой оболочки. Их дисфункция провоцирует возможность возникновения и развития энтеропатий.

Научно обоснованы данные о стимулирующих эффектах тестируемой добавки на адаптивное remodelирование структур микроархитектоники кожно – волосяного покрова, которые подтверждаются увеличением у подопытных групп зверей, по сравнению с контрольными аналогами, показателей его общей толщины, уплотнением в дерме пучков коллагеновых волокон и увеличением количества сосудов микрогемодилляторного русла на эквивалентной площади гистологического среза, уменьшением толщины эпидермиса и глубины залегания волосяных фолликулов, а также возрастанием количественного представительства волос в пучке, что подтверждает целесообразность её применения в пушном звероводстве.

Теоретическая и практическая значимость

Установлены макро-, микроморфологические, и морфометрические показатели кишечника у американской норки, являющиеся базовыми в области экспериментальной морфологии при оценке функционального состояния отделов кишечника, обусловленного влиянием экзо – и эндогенных факторов. Полученные результаты подтвердили предполагаемый эффект о положительном влиянии на морфофункциональное состояние кишечника белковосодержащих добавок, стимулирующих ростовые и метаболические процессы, посредством алиментарного включения их в рацион зверей.

Установлены дерматотропные эффекты белкового гидролизата, выражающиеся в увеличении густоты волосяного покрова, плотности композиции волокнистых конструкций и утолщении сосочкового слоя дермы, которые свидетельствуют об улучшении товарно-технологических показателей получаемой шкурковой продукции, что позволяет рекомендовать белковый гидролизат из мышечной ткани норок к широкому использованию в практике клеточного норководства.

Методология и методы исследований

Научное обоснование установленных нормативных макро- и микроморфометрических показателей кишечного канала и общего покрова американской норки определило целесообразность использования комплексного методического подхода, включающего: анатомическое препарирование с последующим описанием изучаемых структур, эвисцерацию органокомплекса брюшной полости, световую микроскопию гистологических срезов, макро- и микроморфометрию образцов кишечного

канала и кожного покрова, сканирующую электронную микроскопию, статистическую обработку полученных цифровых данных.

Положения, выносимые на защиту:

1. Морфологические, макро- и микроморфометрические показатели тонкого и толстого отделов кишечника американской норки, как объективные критерии оценки его структурного и функционального состояния.
2. Структурные корреляты кишечной стенки при использовании тестируемой добавки, отражающие усиление её всасывательной способности и барьерной функции.
3. Морфофункциональные адаптивные преобразования кишечного канала норки клеточного содержания под воздействием белкового гидролизата, подтверждающие целесообразность его использования в пушном звероводстве.
4. Микроморфологическая картина общего покрова при использовании белкового гидролизата, по сравнению с таковой при традиционном кормлении, как показатель улучшения товарно – технологических свойств получаемой шкурковой продукции.

Степень достоверности и апробация результатов исследований

В основу работы положен анализ результатов комплексных исследований, выполненных на 60 американских норках, отличающихся рационом кормления. Использовали методы: патологоанатомическое вскрытие, с целью макроскопической оценки состояния органов брюшной полости у изучаемых животных, анатомическое препарирование с последующим описанием изучаемых структур, световую микроскопию гистологических срезов, эвисцерацию органокомплекса брюшной полости, макро- и микроморфометрию образцов кишечного канала и образцов кожного покрова, сканирующую электронную микроскопию. Полученные цифровые данные подвергали статистической обработке по классическим методикам (Автандилов Г.Г., 1990, Слесаренко Н.А., 2017).

Материалы исследований представлены и апробированы на XXV и XXVI Московском Международном ветеринарном конгрессе (Москва, 2017, 2018), X международной конференции Бабухинские чтения (Орел, 2017), 6 – ой научно – практической конференции (Москва, 2018), XIV конгрессе международной ассоциации морфологов (Астрахань, 2018), I этапе Всероссийского конкурса на лучшую научную работу среди студентов, аспирантов и молодых ученых вузов Минсельхоза России (диплом II степени, Москва, 2019), в цикле семинаров «инновационные подходы в ветеринарной медицине», (Москва, 2019), II этапе Всероссийского конкурса на лучшую научную работу среди студентов, аспирантов и молодых ученых вузов Минсельхоза России (диплом III степени, Белгород, 2019), III этапе Всероссийского конкурса на лучшую научную работу среди студентов, аспирантов и молодых ученых вузов Минсельхоза России (диплом I степени, Москва, 2019), национальной научно – практической конференции с

международным участием: «Актуальные проблемы ветеринарной морфологии и высшего зооветеринарного образования», посвященная 100 – летию со дня рождения выдающегося ученого – морфолога, профессора Ирины Владимировны Хрусталевой (Москва, 2019), секции молодых ученых Международной учебно-методической и научно-практической конференции «Актуальные проблемы ветеринарной медицины, зоотехнии и биотехнологии», посвященной 100-летию со дня основания ФГБОУ ВО МГАВМиБ - МВА имени К.И. Скрябина (Москва, 2019).

Публикации результатов исследований

По научным разработкам опубликованы 9 научных статей по теме диссертации, из них 7 в изданиях, рекомендованных ВАК РФ.

Объем и структура диссертационной работы.

Рукопись диссертационной работы изложена на 103 страницах машинописного текста (без учета приложений), иллюстрирована 35 рисунками, 12 таблицами, состоит из введения, обзора литературы, собственных исследований, результатов исследований и их обсуждения, заключения, а также сведений о практическом использовании. Список литературы включает 153 источника, из них отечественных 129 и зарубежных 24.

СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Материалы исследования

Работа является фрагментом комплексных исследований кафедр анатомии и гистологии животных имени профессора А.Ф. Климова и диагностики болезней, терапии, акушерства и репродукции животных (Абрамов П.Н, Денисенко В.Н) ФГБОУ ВО МГАВМиБ - МВА имени К.И. Скрябина, проведенных на базе ОАО «Племенной зверосовхоз «Салтыковский». Морфологические исследования выполнены на кафедре анатомии и гистологии животных имени профессора А.Ф. Климова в период с 2015-2018 гг. Научно-производственную часть эксперимента осуществляли методом подбора групп-аналогов по общепринятым методикам (Балакирев Н.А., 2001). Объектом исследования был избран представитель семейства Mustelidae – американская норка. Экспериментальные группы включали клинически здоровых животных с учетом происхождения, пола (самцы), возраста, живой массы и интенсивности роста в подготовительный период (Абрамов П.Н, 2015).

Было сформировано 3 группы животных по 20 голов, контрольная (I) и две подопытные (II, III). Звери контрольной (I) группы находились на стандартном рационе, принятом в зверосовхозе. Животным подопытных (II, III) групп к основному рациону добавляли белковый гидролизат, полученный способом ферментативного гидролиза тушек норок в ЗАО «Биопрогресс»

(Патент на изобретение № 2546252 С2, 10.04.2015) в дозе 1 г/кг и 1,5 г/кг, соответственно, три раза в неделю в течение 60 суток в утреннее время. Содержание и кормление животных соответствовали зоотехническим нормам, завершение эксперимента соответствовало плановой хозяйственной эвтаназии с целью получения шкурковой продукции.

Распределение экспериментального материала по группам, его характеристика и объем проведенных исследований отражены в таблице 1.

Таблица 1

Группа животных семейства Mustelidae	Методы исследования						Всего
	Анатомическое вскрытие	Анатомическое препарирование	Макроморфометрия	Гистологическое исследование	Микроморфометрия	Сканирующая электронная микроскопия	
Американская норка	60	60	60	30	30	20	260

Методы исследования

Патологоанатомическое вскрытие проводили путем выполнения разреза по средней сагиттальной плоскости от мечевидного хряща грудины до входа в тазовую полость. Для лучшей визуализации органокомплекса брюшной полости осуществляли продольные разрезы правой и левой боковых поверхностей брюшной стенки

Визуальную оценку органов и их макроскопическую морфометрию выполняли как непосредственно в брюшной полости, так и после эвисцерации в течении 1 часа после проведения планового хозяйственного убоя.

Определяли общую длину кишечника, его тонкого и толстого отделов, а также абсолютные и относительные линейные параметры выбранного нами сегмента кишечной трубки

Микроскопическое исследование проводили с использованием световой микроскопии по общепринятым методикам (Слесаренко Н.А, 2017).

Для осуществления гистологических исследований образцы органов эвисцерированного кишечного канала и общего (кожного) покрова фиксировали в 10% нейтральном растворе формалина. После фиксации образцы промывали водопроводной водой (24 часа), обезвоживали в спиртах возрастающей крепости (от 50 до 100) и заливали в парафин-воск. Серийные парафиновые срезы толщиной 5-10 мкм изготавливали на универсальном автоматизированном микротоме «НМ-360» (Mikron) (Коржевский Д.Э, 2010).

Микрофотосъемку и микроморфометрию изучаемых структур выполняли при помощи микроскопа «Jenamed 2» (Carl Zeiss, Jena, Germany), совмещённого с системой цифровой микроскопии «ImageScore» по общепринятым методикам (Слесаренко Н.А, 2017).

Для определения ориентации волокнистых структур и межволоконных взаимоотношений в общем покрове у экспериментальных животных, не выявляемой обычными гистотопографическими и гистологическими методами, проводили сканирующую электронную микроскопию (СЭМ). Материал фиксировали в 2% глутаровом альдегиде в течение 5-7 суток с последующим отмыванием в фосфатном буфере и дегидратацией в ряду спиртов возрастающей концентрации. Полное обезвоживание осуществляли в вакуумной установке. Подготовленный таким образом материал напыляли рафинированной медью. Изучение напыленных участков производили на растровом электронном микроскопе (FEY company «Inspect F50») при ускоряющем напряжении 20 кВ и увеличении от 100 до 600, на базе лаборатории ООО «Нанопромимпорт» Научного парка МГУ им. М.В. Ломоносова.

Анализ полученных цифровых данных проводили по общепринятым методам (Слесаренко Н.А, 2017) с вычислением средней арифметической (M) и её стандартной ошибки (m) с использованием программы «Microsoft Excel». Оценку статистической значимости межгрупповых различий осуществляли с использованием критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На первом этапе исследований нами проведено определение живой массы животных исследуемых групп с целью оценки интенсивности их роста на этапе завершения эксперимента.

Сравнительный анализ результатов показал превосходство по данному показателю представителей подопытных групп, по сравнению с контрольной. Это может свидетельствовать о стимуляции ростовых процессов в организме пушных зверей при введении в рацион белкового гидролизата, и согласуется с данными, полученными на других животных (Момотюк Е.А, 2017, Рогов Р.В, 2015). (таблица 2).

Таблица 2

Показатели живой массы исследуемых животных на этапе завершения эксперимента, г ($P \leq 0,05$)

I группа (контроль)	II группа	III группа
1220,2±26,1	1348,2±21,3	1364,0±35,6

Различия между сравниваемыми величинами относительно контрольной группы достоверны ($P \leq 0,05$)

Морфологическая характеристика кишечного канала норки при традиционном кормлении

При визуальной оценке состояния брюшной полости и ее органов, патологических изменений в переднем, среднем и заднем отделах пищеварительного канала и окружающих тканях у большинства зверей всех экспериментальных групп нами не обнаружено (Рис. 1).

Однако у четырёх представителей (три контрольных аналога и один случай в третьей экспериментальной группе) были выявлены признаки гастроэнтерита и гепатоза. Эти животные были исключены из дальнейших исследований.

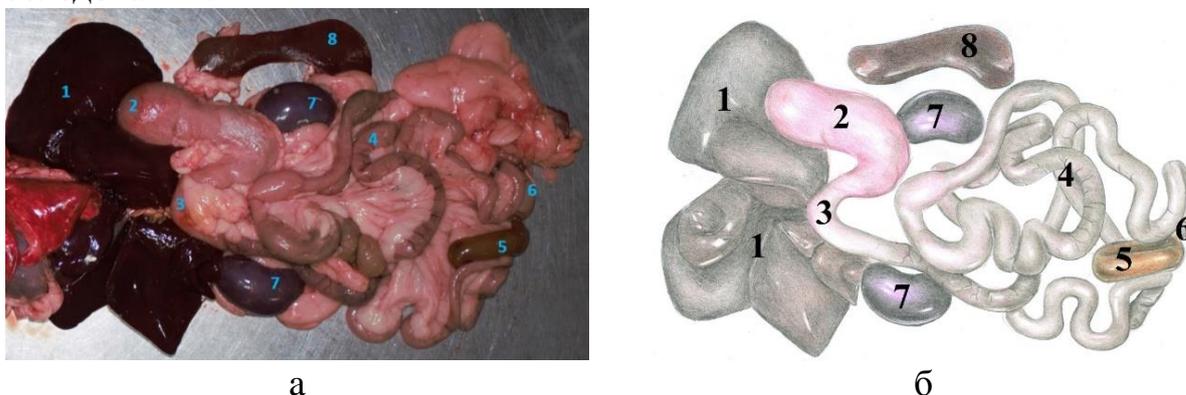


Рис. 1. Эвисцерированные органы брюшной полости норки при традиционном кормлении: а - макропрепарат; б – оригинальный Рис с макропрепарата. 1 – печень; 2 – желудок; 3 - двенадцатиперстная кишка; 4 – тощая; 5 - ободочная; 6 – прямая; 7 – почка; 8 - селезенка.

В результате проведенных исследований были установлены особенности топографической анатомии и структурной организации кишечного канала (Рис. 2) у норки при традиционном кормлении, которые явились контролем для последующего сравнительного анализа с аналогичными данными подопытных животных. Так, у контрольных аналогов тонкий отдел кишечника представлен двенадцатиперстной, тощей и подвздошной кишками, толстый отдел - ободочной и прямой. Слепая кишка у исследуемых нами животных не обнаружена, что согласуется с данными, изложенными в доступной литературе (Балакирев Н.А, 2001., Степанишин В.В, 2015).



Рис. 2. Анатомио – топографические особенности органов брюшной полости норки при традиционном кормлении (абдоминальная проекция): а - макропрепарат; б – оригинальный Рис с макропрепарата. 1 – печень; 2 – желудок; 3 - двенадцатиперстная кишка; 4 – тощая; 5 - ободочная; 6 – прямая.

Отношение длины кишечника к длине тела составляет 1:4 (таблица 3).

Таблица 3

Относительная длина кишечника норки контрольной группы

Показатели	I группа (контроль)
Продолжение таблицы 3	
Длина кишечника, см	193,83±0,35
Длина тела, см	46,61±0,24
Относительная длина кишечника	1:4,3

На долю тонкого отдела приходится 91,5% всей длины кишечника, тогда как толстый представлен лишь 8,5%. Полученные линейные показатели кишечного канала норки свидетельствуют о том, что в наиболее развитом тонком отделе кишечника превосходства достигает тощая кишка, в то время как в толстом отделе – ободочная.

Двенадцатиперстная кишка у норки в форме петли находится под поясничным отделом позвоночного столба и характеризуется наличием короткой брыжейки. Она формирует по ходу следования в брюшной полости несколько извилин. От пилоруса отходит краниальная часть кишки, которая образует остроугольный изгиб, сведения о котором в доступной литературе отсутствуют. Нельзя исключать, что выявленная анатомическая особенность может служить предпосылкой к возможности возникновения обструкции кишечника. Далее кишка поднимается по висцеральной поверхности печени к правой почке, здесь она делает краниальную извилину и переходит в области правого подвздоха в свою нисходящую часть, которая простирается справа от корня брыжейки, переходит под шестым поясничным позвонком на левую сторону — это поперечная часть двенадцатиперстной кишки, подразделяющая брыжейку на два корня - передний и задний. Затем кишка слева от корня брыжейки направляется краниально (восходящая часть) формируя, не доходя до печени, дуоденально-тощекишечную извилину и далее без резких границ переходит в тощую кишку

Слизистая оболочка двенадцатиперстной кишки характеризуется наличием в начальном своем участке (а не на всем протяжении) дуоденальных желез (Рис. 4,5) и присутствием большого количества бокаловидных клеток (Рис. 6,7), а в среднем - высокими ворсинками пальцевидной формы и хорошо визуализирующимися криптами. В микроструктуре стенки кишки у норки традиционного кормления выявлено превалирование слизистой оболочки (87,6 %) над мышечной (12,4 %). На долю эпителиального слоя приходится 90,6% от общей толщины слизистой оболочки (Рис. 3).



Рис. 3 Структурная организация стенки двенадцатиперстной кишки норки: 1-слизистая оболочка; 2 – подслизистый слой; 3 – мышечная оболочка; 4 – Серозная оболочка. Контроль. Гематоксилин и эозин, об.10, ок.10.



Рис. 4 Структурная организация стенки двенадцатиперстной кишки норки: 1-слизистая оболочка; 2 – подслизистый слой; 3 – мышечная оболочка; 4 – дуоденальные железы. Контроль. Гематоксилин и эозин, об.10, ок.10.

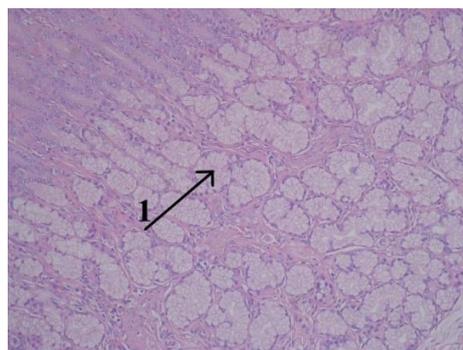


Рис. 5 Структурная организация подслизистого слоя двенадцатиперстной кишки норки: 1-дуоденальные железы. Контроль. Гематоксилин и эозин, об.20, ок.10.

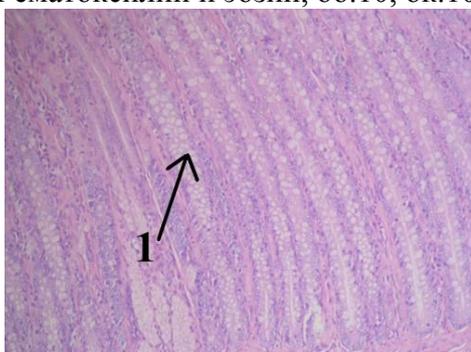


Рис. 6 Структурная организация слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки норки: 1- бокаловидные клетки. Контроль. Гематоксилин и эозин, об.20, ок.10.

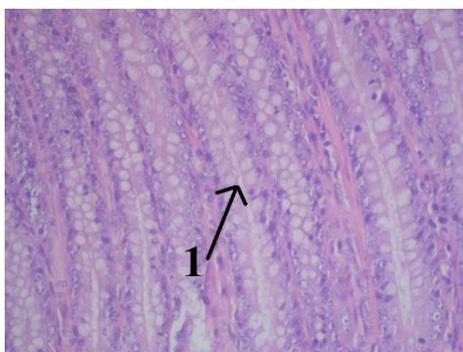


Рис. 7 Структурная организация слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки норки: 1- бокаловидные клетки. Контроль. Гематоксилин и эозин, об.40, ок.10.

Тощая кишка у норки, как и у других видов плотоядных, является самым длинным отрезком тонкого отдела кишечника. Она составляет 78,9 % к длине тонкого отдела и 72 % к длине всего кишечника. Кишка снабжена хорошо выраженной брыжейкой, являющейся источником кровоснабжения и иннервации органа. Образуя до 10-14 петель, тощая кишка занимает область мечевидного отростка, пупочную область, вентральную часть подвздохов и частично заходит в паховую область, заполняя таким образом всю вентральную половину среднего и заднего отделов брюшной полости.

В слизистой оболочке тощей кишки (Рис. 8), по сравнению с двенадцатиперстной, высота ворсин уменьшается, здесь они переменны по своей форме: от пальцевидной, до листовидной (с узким основанием). В кишечной стенке установлено превосходство слизистой оболочки (89,8%) над мышечной (10,2%), что может свидетельствовать об её активной всасывательной способности. Одновременно с этим отмечено увеличение, до 87,9% толщины эпителиального слоя от общей толщины слизистой оболочки.

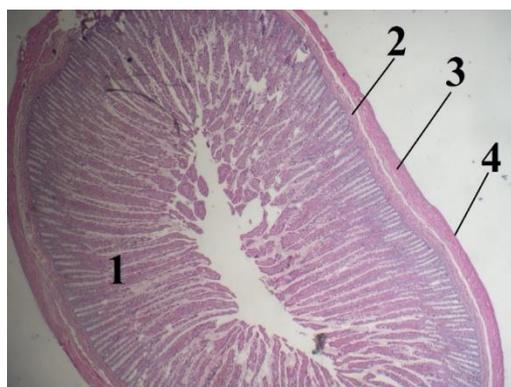


Рис. 8. Структурная организация стенки тощей кишки норки: 1 - слизистая оболочка; 2 – подслизистый слой; 3 – мышечная оболочка; 4 – Серозная оболочка. Контроль. Гематоксилин и эозин, об. 4, ок.10.

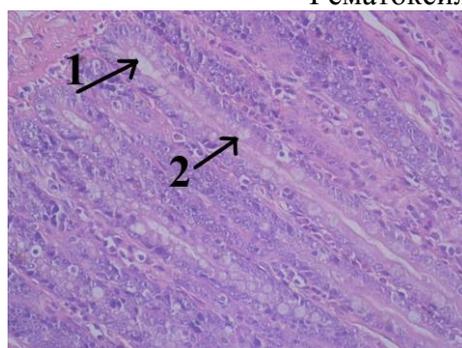


Рис. 9. Структурная организация слизистой оболочки тощей кишки норки: 1 – крипты; 2 бокаловидные клетки. Контроль. Гематоксилин и эозин, об. 20, ок.10.

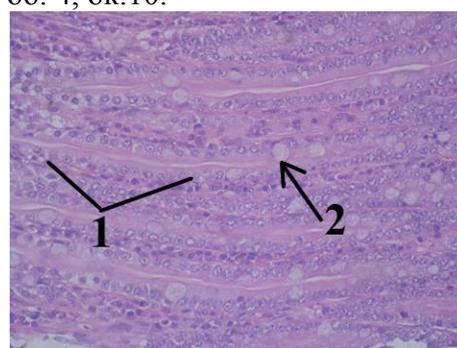


Рис. 10. Структурная организация слизистой оболочки тощей кишки норки: 1 – каемчатые экзокриноциты; 2 – бокаловидные клетки. Контроль. Гематоксилин и эозин, об. 40, ок.10.

Подвздошная кишка у норки развита слабо и является переходом тонкого кишечника в толстый. В отличие от тощей кишки, она, выпрямляясь, приобретает прямолинейный ход, и впадает в ободочную кишку. На границе между тонким и толстым отделом у исследуемых животных отмечено наличие подвздошно-ободочного устья, оформленного в виде складки слизистой оболочки. Нельзя исключить, что выявленная особенность структурной организации кишечника у норки может выступать в качестве своеобразного клапана, который предотвращает ретроградное перемещение химуса в кишечнике.

В толстый отдел входят ободочная и прямая кишки, в то время как слепая кишка отсутствует, что может быть связано с пищевой специализацией изучаемого представителя семейства куньих.

Ободочная кишка - основа толстого отдела, составляет 72,3 % его длины, однако отношение ободочной кишки к общей длине кишечника равно всего 8 %. Кишка характеризуется узким просветом, достаточно упрощенным ходом в форме простого обода. Она берет начало в правой поясничной области от места впадения подвздошной кишки, обогнув корень брыжейки, следует по дорсальной части правого подвздоха к диафрагме как восходящее колено, позади диафрагмы, образуя поперечный изгиб, переходит на левую сторону брюшной полости и направляется по дорсальной части левого подвздоха как

нисходящее колено ободочной кишки. Нисходящее колено лежит между обеими почками в поясничной области. Далее ободочная кишка доходит до левой паховой области, делает здесь сигмовидный изгиб и переходит в прямую кишку.

Микроструктура стенки ободочной кишки (Рис. 11) характеризуется отсутствием кишечных ворсин, уменьшением, по сравнению с тонким отделом кишечника, плотности расположения крипт, а также наличием в подслизистой основе кишечно – ассоциированной лимфоидной ткани. Мышечная оболочка развита сильнее, чем в тонком отделе кишечника, при этом циркулярный слой (75,6 %) превосходит на 24,4 % (в 3 раза) по своей толщине продольный.

На основании микроскопии гистологических срезов выявлены области наибольшей локализации кишечно-ассоциированной лимфоидной ткани (ободочная кишка). При изучении области подвздошно-ободочного соединения, в ней обнаружен клапан, снабженный двумя створками – складками слизистой оболочки, его дисфункция может провоцировать возможность возникновения острой обструкции (непроходимость) кишечника.



Рис. 11. Структурная организация стенки ободочной кишки норки: 1 - слизистая оболочка; 2 – подслизистый слой; 3 – циркулярный слой мышечной оболочки; 4 – продольный слой мышечной оболочки; 5 – кишечно – ассоциированная лимфоидная ткань. Контроль. Гематоксилин и эозин, об. 4, ок.10.

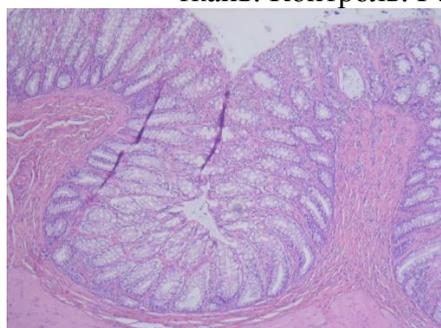


Рис. 12. Структурная организация слизистой оболочки ободочной кишки норки: Контроль. Гематоксилин и эозин, об. 10, ок.10.

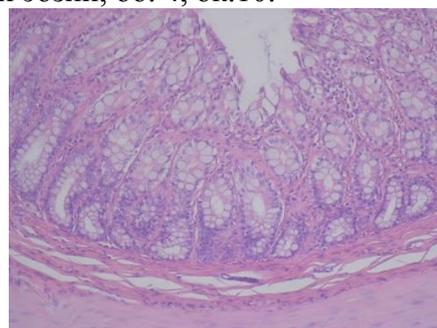


Рис. 13. Структурная организация стенки ободочной кишки норки: Контроль. Гематоксилин и эозин, об. 20, ок.10.

При изучении макро- и микроморфологии кишечного канала американской норки клеточного содержания при традиционном кормлении внесены дополнения в анатомическую организацию кишечного канала у норки

и установлены его нормативные макро- и микроморфологические показатели, которые нами использованы при сравнительной оценке структурных перестроек кишечного канала животных, получающих в качестве кормовой добавки белковый гидролизат.

Сравнительный морфологический анализ кишечного канала норок экспериментальных групп

У зверей, получавших в качестве добавки к основному рациону белковый гидролизат, состояние кишечника и топографически сопряженных органов находятся в пределах анатомической нормы. Патологических морфофункциональных изменений нами не выявлено.

Установлено, что показатели относительной длины кишечника и отдельных его сегментов в сравниваемых группах не имеют достоверных различий (таблица 4, 5).

Таблица 4

Относительная длина кишечника норки исследуемых групп

Показатели	I группа (контроль)	II группа	III группа
Длина кишечника, см	193,83±0,35	193,91±0,15	194,38±0,22
Длина тела, см	46,61±0,24	47,22±0,21	47,41±0,22
Относительная длина кишечника	1:4,3	1:4,2	1:4,2

Таблица 5

Макроморфометрические показатели кишечника норки экспериментальных групп, см

Сегмент кишечника	I группа (контроль)	II группа	III группа
Тонкий отдел	176,22±2,61	176,71±3,55	176,44±3,47
Двенадцатиперстная	16,21±1,13	16,62±1,15	16,36±0,92
Тошая	139,62±4,18	139,89±3,18	139,43±4,19
Толстый отдел	15,53±1,29	15,45±1,24	15,42±1,31
Продолжение таблицы 5			
Ободочная	11,21±1,18	11,96±1,14	11,24±1,15
Общая длина	193,82±3,35	193,91±2,15	194,38±3,22

При анализе микроморфометрических показателей стенки двенадцатиперстной кишки норки выявлено, что в подопытных группах, по сравнению с контролем, увеличивается представительство эпителиального слоя, длина ворсин и глубина крипт в ее слизистой оболочке, а также недостоверно утолщается мышечная оболочка. (таблица 6, Рис. 14).

Таблица 6

Микроморфологические показатели стенки двенадцатиперстной кишки норки опытных групп, мкм

Экспериментальные группы	I группа (контроль)	II группа	III группа
Слизистая оболочка			
Эпителиальный слой	816,0±23,8	945,2±19,7	979,1±30,1
Подслизистый слой	72,6±6,9	67,2±6,4*	82,1±9,5*

Продолжение таблицы 6			
Общая толщина слизистой оболочки	901,0±26,6	1020,1±16,8	1060,0±22,4
Высота ворсин	480,2±17,6	670,1±15,1	707,2±13,3
Глубина крипт	349,3±19,3	371,1±19,2*	399,3±18,2*
Мышечная оболочка			
Циркулярный слой	91,9±6,2	105,2±7,1*	106,0±5,4*
Продольный слой	36,1±5,6	52,7±4,1	53,4±8,3
Общая толщина мышечной оболочки	127,5±8,0	157,4±9,8	159,3±8,6

Различия между сравниваемыми величинами относительно контрольной группы достоверны ($P \leq 0,05$)

Примечание: * - различия между сравниваемыми величинами недостоверны

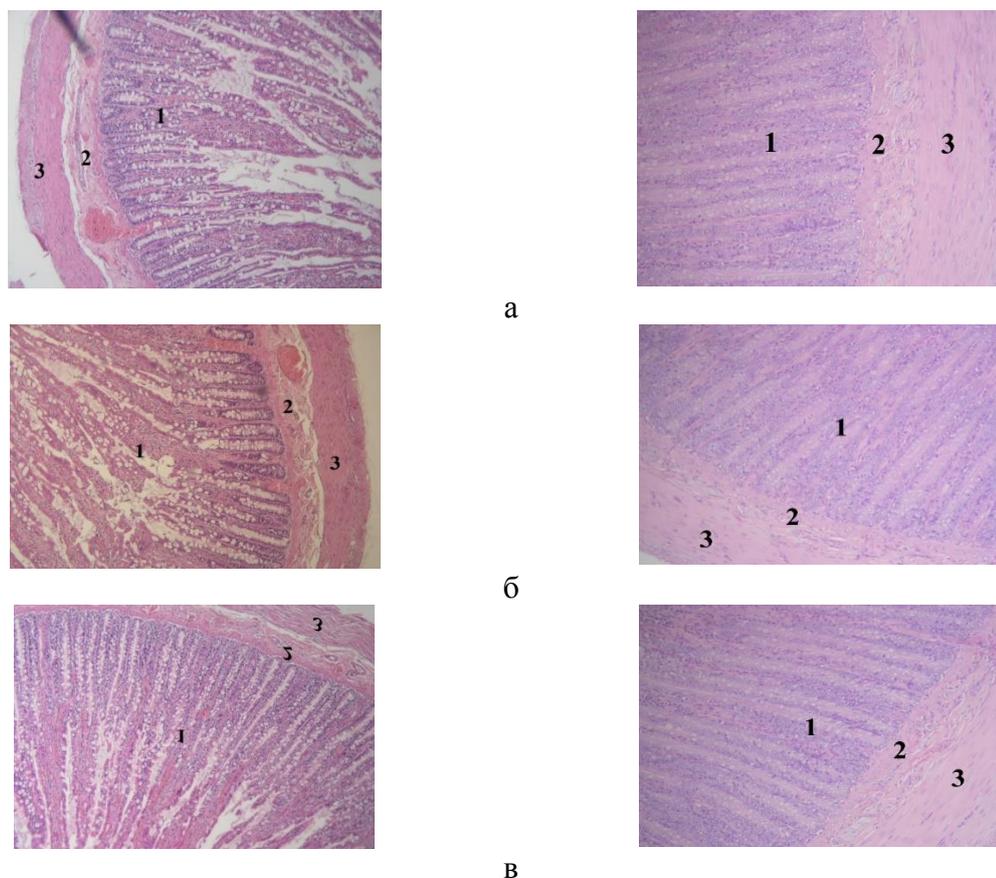


Рис. 14. Структурная организация стенки двенадцатиперстной кишки у норок экспериментальных групп: а – 2 группа; б – 3 группа; в – контроль. 1 – слизистая оболочка; 2 – подслизистый слой; 3 – мышечная оболочка. Гематоксилин и эозин, слева - об.10, ок.10; справа - об.20, ок.10.

Микроморфометрические показатели структур слизистой оболочки тощей кишки (таблица 7, Рис. 15) зверей всех экспериментальных групп уступают таковым двенадцатиперстной кишки. По изучаемым показателям слизистой и мышечной оболочек, животные, получавшие белковый гидролизат, недостоверно опережали представителей контрольной группы. Обращает на себя внимание утолщение у подопытных зверей в мышечной оболочке кишечной стенки циркулярного слоя, по сравнению с продольным.

Таблица 7

Микроморфологические показатели стенки тощей кишки норки
экспериментальных групп, мкм ($P \leq 0,05$)

Экспериментальные группы	I группа (контроль)	II группа	III группа
Слизистая оболочка			
Эпителиальный слой	804,1±20,7	888,3±27,6	877,0±26,3
Подслизистый слой	72,8±9,8	65,6±2,7*	56,1±2,2*
Общая толщина слизистой оболочки	876,4±23,7	952,4±11,7	948,1±24,6
Высота ворсин	498,3±23,4	664,2±29,4	598,1±22,9
Глубина крипт	397,0±33,4	267,7±17,8	276,3±28,1
Мышечная оболочка			
Циркулярный слой	68,8±6,1	129,5±10,9	97,2±6,9
Продольный слой	25,4±4,4	36,5±12,3*	27,8±4,6*
Общая толщина мышечной оболочки	103,1±8,1	153,2±25,7	130,3±10,6

Различия между сравниваемыми величинами относительно контрольной группы достоверны ($P \leq 0,05$)

Примечание: * - различия между сравниваемыми величинами недостоверны

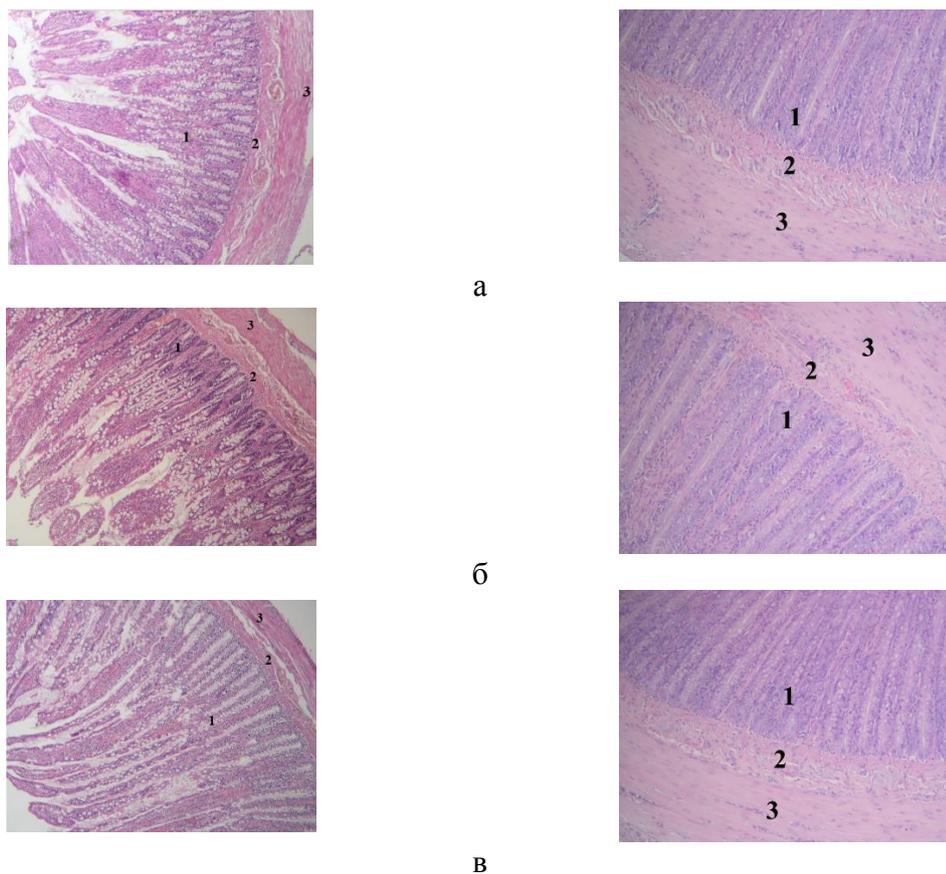


Рис. 15. Структурная организация стенки тощей кишки у норок экспериментальных групп: а – 2 группа; б – 3 группа; в – контроль. 1 – слизистая оболочка; 2 – подслизистый слой; 3 – мышечная оболочка. Гематоксилин и эозин, об.10, ок.10, слева - об.10, ок.10; справа - об.20, ок.10

Нами выявлено наличие в криптах тощей кишки клеток Панета (экзокриноцитов с ацидофильными гранулами), которые, как известно,

выполняют барьерную функцию (Рис. 16). Реагируя на микробные молекулы и отвечая на их воздействие выделением разнообразных антимикробных соединений, клетки Панета регулируют численность и качественный состав микробных популяций в кишке, в особенности микроорганизмов, вступающих в непосредственный контакт с ее слизистой оболочкой, предотвращая внедрение микробов-комменсалов и потенциально патогенных видов в ткани хозяина. Деятельность КП является важной частью защитных механизмов врожденного иммунитета, однако, взаимодействуя с другими клетками, они участвуют и в адаптивных иммунных реакциях. (Быков В.Л, 2014., Раздобреева Е.В, 2015., Kim Т.Н, 2012., Salzman N.H, 2010).

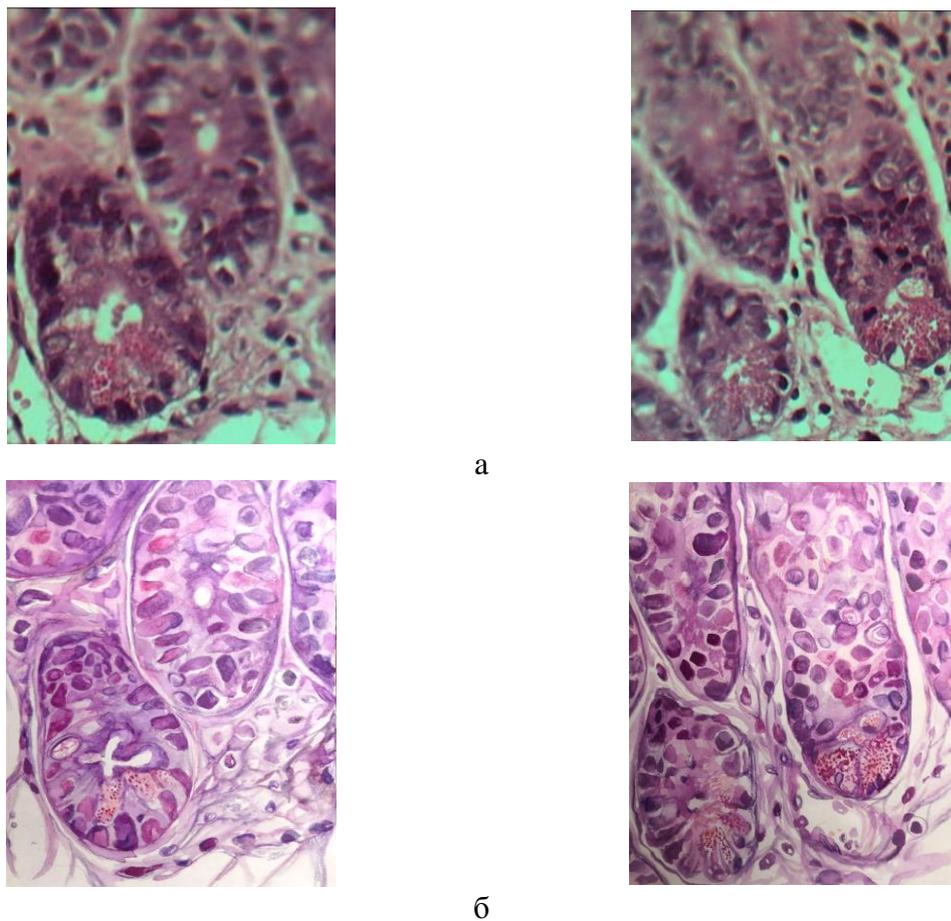


Рис. 16. Структурная организация клеток Панета в криптах тощей кишки норки: а - оригинальный микропрепарат; б – оригинальный Рис с микропрепарата. Гематоксилин и эозин, об. 100, ок.10.

В ободочном сегменте толстого отдела кишечника (таблица 8, Рис 17) у норки, получавших белковый гидролизат, установлено утолщение слизистой и мышечной оболочек, что может свидетельствовать об усилении функциональной активности и моторной функции изучаемого отдела кишечника у подопытных зверей, по сравнению с контрольной группой.

Таблица 8

Микроморфологические показатели стенки ободочной кишки норки опытных групп, мкм

Экспериментальные группы	I группа (контроль)	II группа	III группа
Слизистая оболочка			
Эпителиальный слой	471,23±39,34	665,22±52,65	545,48±57,21
Подслизистый слой	129,34±60,75	227,43±13,64	215,32±6,49
Общая толщина слизистой оболочки	612,75±67,71	907,13±26,95	683,56±32,12
Мышечная оболочка			
Циркулярный слой	92,23±3,32	172,34±25,82	149,45±11,33
Продольный слой	31,35±4,88	51,33±6,84	45,36±8,52
Общая толщина мышечной оболочки	122,67±4,94	229,22±24,64	190,45±19,82

Различия между сравниваемыми величинами относительно контрольной группы достоверны ($P \leq 0,05$)

Примечание: * - различия между сравниваемыми величинами недостоверны

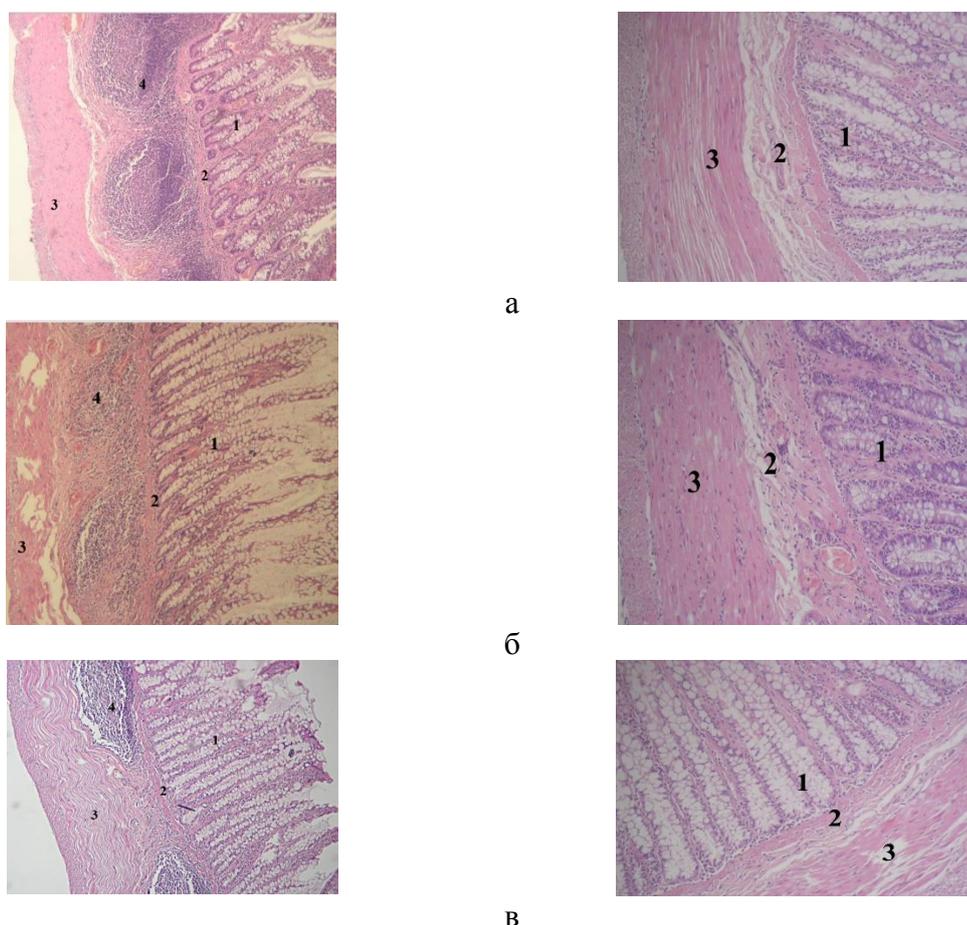


Рис. 17. Структурная организация стенки ободочной кишки у норки экспериментальных групп: а – 2 группа; б – 3 группа; в – контроль. 1 – слизистая оболочка; 2 – подслизистый слой; 3 – мышечная оболочка, 4 – лимфоидная ассоциированная ткань. Гематоксилин и эозин, об.10, ок.10, слева - об.10, ок.10; справа - об.20, ок.10

У всех исследуемых групп зверей установлено перераспределение кишечной - ассоциированной лимфоидной ткани в сторону увеличения в

толстом отделе кишечника, по сравнению с тонким. Более того, ее представительство возрастает у животных подопытных групп, что позволяет сделать предположение о возможном усилении у групп пушных зверей, получавших гидролизат, по сравнению с контрольными аналогами, локального иммунного ответа.

3.4. Структурные преобразования общего покрова норки в исследуемых группах

Для оценки влияния белкового гидролизата на рентабельность клеточного норководства нами была предпринята попытка расшифровки структурных перестроек, происходящих в самом крупном органе и природном биополимере организма животных - общем покрове.

При изучении микроархитектоники кожи было установлено, что она у норки контрольной группы, как и у большинства животных, характеризуется классической дифференциацией на несколько структурных зон, составляющих её слои: - эпидермис, дерму и гиподерму, которые отличаются особенностями не только строения, но и морфогенеза. Аналогичная картина была отмечена нами во всех исследуемых группах (рисунки 18-19).

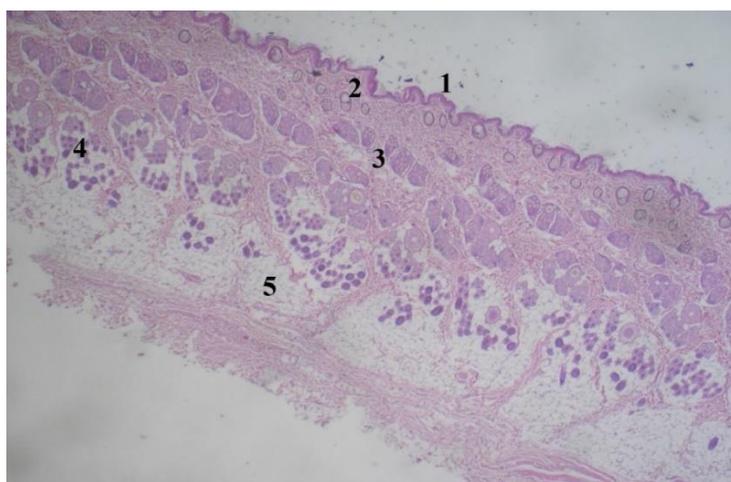
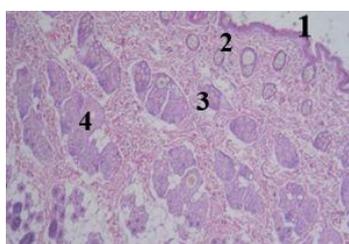
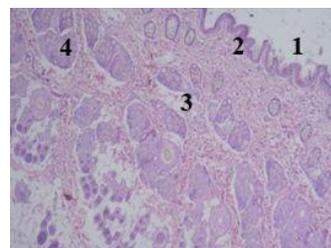


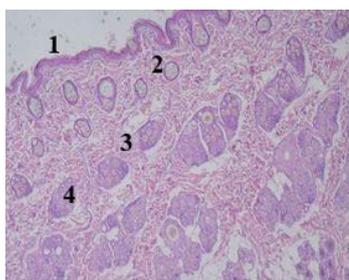
Рис 18. Структурная организация кожного покрова норки контрольной группы.
1 – эпидермис, 2 – сосочковый слой дермы, 3 – сетчатый слой дермы, 4 – пучок волос.
Гематоксилин и эозин, об.4, ок.10.



а



б



В

Рис 19. Структурная организация кожного покрова норки. 1 – эпидермис, 2 – сосочковый слой дермы, 3 – сетчатый слой дермы, 4 – пучок волос. Гематоксилин и эозин, об.10, ок.10.

При сравнительном анализе общего покрова у изучаемых зверей экспериментальных групп, нами были выбраны следующие показатели, которые могли бы свидетельствовать о достоверных отличиях в его структурной организации: суммарная толщина кожи, толщина эпидермиса и его отношение ко всей толщине кожного покрова. Кроме того, для сравнения нами был выбран еще один критерий – количество волос в пучке. Известно, что он не только определяет густоту волосяного покрова животного, что находит отражение в экономическом показателе пушно-мехового сырья, но и имеет закономерную связь с поверхностным слоем кожи. (таблица 9).

Таблица 9.

Морфометрические показатели общего покрова у животных исследуемых групп

Показатели	I группа (контроль)	II группа	III группа
Суммарная толщина кожного покрова	1145,6±34,4	1197,8±48,3*	1284,7±44,2
Толщина эпидермиса, мкм	32,3±1,4	31,6±1,4*	27,8±0,9
Отношение эпидермиса к общей толщине кожи, %	2,8	2,6*	2,2
Количество волос в пучке, шт.	19,0±0,7	19,4±0,9*	21,6±0,5

Различия между сравниваемыми величинами относительно контрольной группы достоверны ($P \leq 0,05$)

Примечание: * - различия между сравниваемыми величинами недостоверны

Установлено, что максимальные значения (1284,7±44,2 мкм) по показателю суммарной толщины кожи отмечены у зверей, получавших в качестве добавки к основному рациону белковый гидролизат. Контрольные животные уступали (1145,6±34,4 мкм) своим опытными аналогам.

При определении толщины эпидермиса выявлено, что контрольная группа опережает (32,3±1,4 мкм) своих опытных сверстников как из второй (31,6±1,4 мкм), так и из третьей группы (27,8±0,9 мкм), которые ей достоверно уступают. При этом отношение толщины наружного слоя к общей толщине кожи у всех исследуемых животных варьировало в пределах от 2,4 до 2,8%.

Сравнительная характеристика количества волос в пучках и толщины эпидермиса отражает обратнопропорциональную зависимость густоты волосяного покрова от развития эпидермиса. Так, наименьший показатель

толщины наружного слоя кожи при одновременном увеличении волос в пучке, отмечен у зверей подопытных групп. Можно предположить, что такая картина может свидетельствовать об активации «спящих» волосяных фолликулов за счет интенсификации трофического обеспечения данных участков кожи, что находит подтверждение в возрастании в дерме у опытных зверей, по сравнению с контрольными аналогами сосудов микрогемодиализаторного русла на эквивалентной площади гистологического среза (таблица 10).

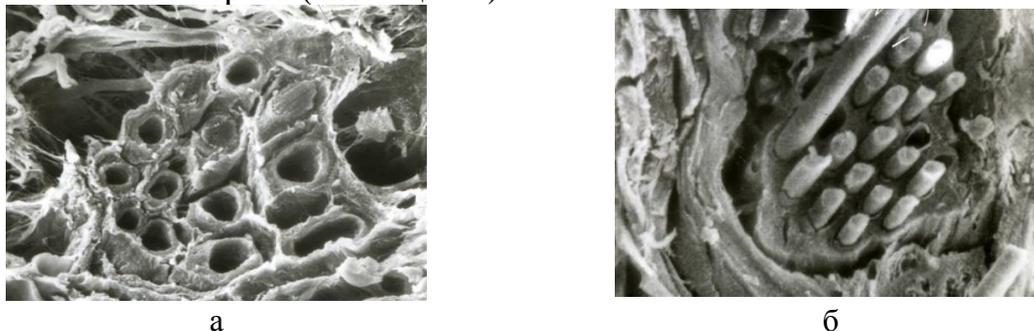


Рис 20. Структурная организация волосяного пучка в дерме экспериментальных групп. а – контроль, б – опытная группа. СЭМ x 300 1 – «спящие» волосяные фолликулы у зверей контрольной группы.

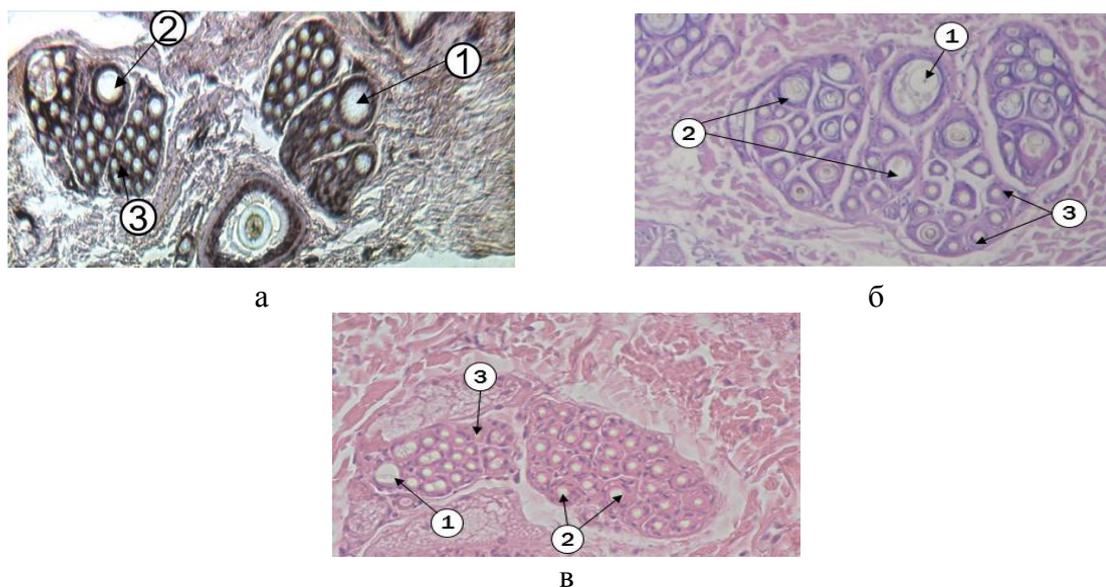


Рис 21. Расположение волосяных пучков в дерме и количество волос различных категорий в пучке. 1 – направляющие волосы, 2 – остевые волосы, 3 – пуховые волосы. а – контрольная группа, б – 1 группа, в – 2 группа. Гематоксилин и эозин, об.10, ок.10.

При изучении микроморфологической картины дермы – второго слоя кожи, реализующей не только трофическую, но механическую функции, мы отдельно рассматривали толщину сосочкового и сетчатого слоев, их отношение к суммарной толщине кожи, количество капилляров, а также глубину залегания волосяных фолликулов (таблица 10).

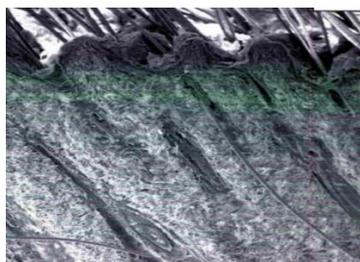
Таблица 10.

Микроморфологические показатели дермы изучаемых животных, мкм

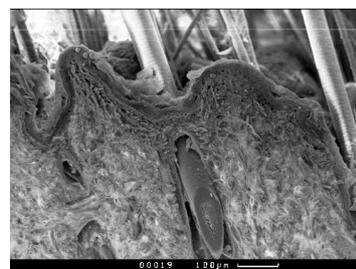
Показатели	I группа (контроль)	II группа	III группа
Толщина сосочкового слоя, мкм	586,7±16,9	666,1±12,8	780,1±24,9
Отношение сосочкового слоя к толщине кожи, %	51,3	55,6	60,7
Количество капилляров сосочкового слоя, шт	1,4±0,5	2,6±1	3,3±0,5
Толщина сетчатого слоя, мкм	526,5±25,2	500,2±14,4	476,8±28,1
Отношение сетчатого слоя к толщине кожи, %	45,9	41,7	37,1
Количество капилляров сетчатого слоя, мкм	1,3±0,5	1,4±0,5*	1,7±1,0*
Глубина залегания волосяных фолликулов, мкм	680,0±17,2	660,7±30,8*	636,4±12,2

Различия между сравниваемыми величинами относительно контрольной группы достоверны ($P \leq 0,05$)

Примечание: * - различия между сравниваемыми величинами недостоверны



а



б

Рис. 22. Микроархитектоника кожного покрова норки контрольной (а) и 3-й опытной (б) групп. СЭМ x 100

Полученные данные отражают динамику преобразований структур основы кожи, происходящих под влиянием белкового гидролизата, которые могут обуславливать адаптивные перестройки наружного слоя кожи.

Структурные перестройки дермы у изучаемых животных находят отражение в её толщине и соотношении слоев – сосочковый слой увеличивает свое представительство у обеих опытных групп животных, тогда как в механическом слое достоверных различий нами не обнаружено. С этими данными согласуется показатель сосудистого обеспечения дермы – в опытных группах, в сравнении с контрольной, отмечено увеличение количества капилляров в стандартном поле зрения микроскопа.

Глубина залегания волосяных фолликулов перманентно уменьшалась в группах, получавших в качестве добавки к основному рациону белковый гидролизат (636,4±12,2 мкм в опыте против 680,0±17,2 мкм в контроле). Представленные данные свидетельствуют, что все подопытные группы зверей характеризуются снижением, по сравнению с контрольной, глубины залегания волосяных фолликулов. Этот факт может свидетельствовать о более высокой степени зрелости структур кожного покрова у зверей, получавших в качестве добавки к основному рациону белковый гидролизат, по сравнению с их

контрольными аналогами, находящимися на стандартном рационе кормления.

Заключение

1. Установлены нормативные видоспецифические макро- и микроморфологические, а также морфометрические показатели кишечного канала у американской норки, являющиеся базовыми в диагностике его клинко-физиологического состояния, обусловленного влиянием как экзо – так и эндогенных факторов.

2. Внесены дополнения в анатоми – топографическую и микроморфологическую характеристику кишечника американской норки: наличие краниального остроугольного изгиба двенадцатиперстной кишки с локальным присутствием в его начальном участке в подслизистом слое дуоденальных желез и клапана в области подвздошно-ободочного соединения, представленного двустворчатой складкой слизистой оболочки.

3. У зверей, получавших в качестве добавки к основному рациону белковый гидролизат, структурное состояние кишечника и топографически сопряженных органов находится в пределах анатомической нормы. Патологических морфофункциональных изменений не выявлено.

4. У норок подопытных групп, получавших в составе рациона белковый гидролизат, установлены морфологические преобразования стенки кишечного канала, направленные на усиление его всасывательной способности, барьерной и моторной функций.

5. Увеличение всасывательной поверхности выражается в достоверном ($P \leq 0,05$) удлинении кишечных ворсин, уплотнении крипт и их углублении; активизация барьерной функции кишечника сопровождается возрастанием в подслизистом слое его стенки представительства кишечного - ассоциированной лимфоидной ткани и экзокриноцитов с ацидофильными гранулами (клеток Панета), а моторной функции – суммарным утолщением мышечной оболочки.

6. Влияние белкового гидролизата на состояние кожного покрова выражается в активизации у подопытных зверей по сравнению с контрольными аналогами адаптивного ремоделирования его микроархетиктоники, что подтверждается у них возрастанием общей толщины кожи, уплотнением в дерме пучков коллагеновых волокон и их утолщением, увеличением количества капилляров на эквивалентной площади гистологического среза, уменьшением толщины эпидермиса и глубины залегания волосяных фолликулов, а также возрастанием количественного представительства волос в пучке.

7. На основании проведенных морфологических исследований экспериментально обоснована и научно подтверждена эффективность применения белкового гидролизата в промышленном звероводстве, как дополнительного источника незаменимых аминокислот, восполняющих их дефицит в основном рационе зверей.

Рекомендации по использованию научных результатов исследования

Результаты исследований восполняют сведения в области сравнительной морфологии пищеварительного аппарата животных. Полученные данные являются базовыми для функциональной и экспериментальной морфологии в вопросах оценки структурно-функционального состояния кишечного канала в норме и в условиях воздействия экзогенных факторов.

Представленные данные о высокой адаптивной пластичности структур кишечного канала у американской норки клеточного содержания, как представителя семейства Mustelidae, при традиционном кормлении и включении в рацион продуктов белкового гидролиза могут быть использованы в учебном процессе на кафедрах анатомии, гистологии и звероводства, а также при написании соответствующих разделов учебников, учебных пособий и монографий.

Полученные результаты могут быть учтены при совершенствовании технологии выращивания молодняка норки клеточного содержания.

Сведения о практическом использовании результатов

Полученные данные используются в технологии выращивания пушных зверей клеточного содержания в ОАО «Племенной зверосовхоз «Салтыковский» и в учебном процессе кафедры «Анатомии и гистологии животных им. профессора А.Ф. Климова ФГБОУ ВО МГАВМ и Б – МВА имени К.И. Скрябина», анатомии, патологической анатомии и гистологии ФГБОУ ВО КГАВМ имени Н.Э. Баумана, морфологии, физиологии и патологии ФГБОУ ВО Оренбургского ГАУ, анатомии животных ФГБОУ ВО СПбГАВМ, анатомии, акушерства и хирургии ФГБОУ ВО Самарского ГАУ.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

В журналах, рекомендованных ВАК Министерства науки и образования РФ

1. Абрамов П.Н. Структурные перестройки кишечника норки клеточного разведения в условиях стимуляции ростовых процессов / П.Н. Абрамов, **А.М. Воронин** // Морфология. 2017. – Т. 151. – № 3. – С. 54.
2. Слесаренко Н.А. Морфологические преобразования кишечника у клеточной норки при алиментарном использовании белкового гидролизата / Н.А. Слесаренко, **А.М. Воронин** // Известия Международной академии аграрного образования. – 2018. – № 40. – С. 165-169.
3. **Воронин А.М.** Структурные и функциональные перестройки кишечного канала норки американской при применении белкового гидролизата / **А.М. Воронин**, В.В. Степанишин // Морфология. – 2018. – Т. 153. – № 3. – С. 64
4. Слесаренко Н.А. Морфологическое обоснование эффективности применения белкового гидролизата в пушном звероводстве / Н.А. Слесаренко, **А.М. Воронин** // Известия Самарской государственной сельскохозяйственной академии. – 2019. – № 4. – С. 39-47.
5. **Воронин А.М.** Структурные перестройки тонкой кишки норки при использовании в рационе белкового гидролизата / **А.М. Воронин** // Морфология. – 2019. – Т. 155. – № 2. – С. 165
6. Слесаренко Н.А. Структурные перестройки тонкого отдела кишечника норки сканблэк при использовании в рационе белкового гидролизата / Н.А. Слесаренко, **А.М. Воронин** // Ветеринария, зоотехния и биотехнология. – 2019. № - 7 – С. 19-25.
7. Слесаренко Н.А. Морфологические перестройки кишечного канала у клеточной норки при алиментарном использовании белкового гидролизата / Н.А. Слесаренко, **А.М. Воронин** // Аграрная наука. – 2019. – № 9. – С. 20 – 22.

Публикации в материалах конференций и других научно-практических изданиях:

8. Слесаренко Н.А. Мофофункциональная характеристика кишечного канала и общего покрова у клеточной норки при алиментарном использовании белкового гидролизата / Н.А. Слесаренко, **А.М. Воронин**, П.Н. Абрамов // Сборник трудов Национальной научно – практической конференции с международным участием. – 2019. – С. 239-248.
9. **Воронин А.М.** Структурно–функциональные перестройки кишечного канала у клеточной норки при алиментарном использовании белкового гидролизата / **А.М. Воронин** // в сборнике: вопросы ветеринарии и ветеринарной биологии. Сборник научных трудов молодых ученых. Москва – 2019. – С. 26 – 35.