Науковий вісник Львівського національного університету
ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького

Scientific Messenger of Lviv National University
of Veterinary Medicine and Biotechnologies

ISSN 2518-7554 print
ISSN 2518-1327 online

doi: 10.15421/nvlvet8311
<http://nvlvet.com.ua/>

UDC 619:636:611.018

Morphology, histo- and cytomorphometry of ruminants' liver

N.V. Demus

Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies Lviv, Ukraine

Article info

Received 11.01.2018
Received in revised form
22.02.2018
Accepted 27.02.2018

Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies Lviv, Pekarska str., 50, Lviv, Ukraine.
Tel.: +38-097-062-22-92.
E-mail: demusnlv@gmail.com

Demus, N.V. (2018). Morphology, histo- and cytomorphometry of ruminants' liver. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. 20(83), 56–60. doi: 10.15421/nvlvet8311

In this work, the macro-, microscopic structure and features of morphometric indices of cattle (Bovine Cattle) and sheep on the organ, tissue and cellular levels of a structural organization using anatomical, histological and morphometric methods were determined. Studies have shown that the morphological structure of the liver in the studied animals has a similar structural organization, but differs by certain organo-, histo- and cytomorphometric indices. It was determined, on the basis of organometric, that the absolute mass of the liver in ruminant is variable and to some extent depends on the blood flow of an organ and animal species. Herewith, in cattle, the absolute weight of the liver is 4.07 ± 0.084 kg, relative – $1.12 \pm 0.012\%$, in sheep, respectively, 0.65 ± 0.0065 kg and $1.21 \pm 0.014\%$. Histoarchitecture of the liver of cattle and sheep is constructed with connective stroma and parenchyma. The stroma of the organ is formed by a capsule, on top of which is a serous membrane. In the area of the gates of the liver, the connective tissue of the capsule penetrates into the organ, branching and dividing the organ into lobes, which have a cut size and polygonal shape. It has been found out that in the microscopic structure of the liver of experimental animals – cattle and sheep, the boundaries between hepatic lobules are not quite clear due to poor development between the segments of the connective tissue. According to microscopic structure, the hepatic lobe in the ruminant is formed by a dense network of epithelial plates, which have a radial direction and are sometimes anastomosed with each other. Each plate is represented by two rows of hepatocytes, between which there are clearly pronounced sinusoid hemocapillars. Between the rows of hepatocytes forming the plates, they appear rather refined (up to 1 mkm), bilious capillaries, the walls of which are a hepatocyte membrane, which are interconnected with dense contacts. According to histomorphometric studies, the average area of the liver lobe in cattle is 0.7852 ± 0.041 mm², in sheep this figure is 1.28 times smaller and equals 0.6143 ± 0.066 mm², respectively. The number of lobes per unit area (14 mm²), on the contrary, is greater in sheep – 17.8 ± 2.88 units, and is significantly ($P < 0.01$) almost 1.4 times smaller (12.4 ± 1.99 units) than in cattle. Liver hepatocytes of experimental animals have an irregularly multifaceted form with clear contours of the cytoplasm. They are tightly adjacent to each other and contain rounded, centrally or eccentrically spaced and intensely colored nuclei of different diameters. Hepatocytes in the volume of the cytoplasm and nuclei are characterized by different sizes (small, medium, large), and accordingly different nuclear-cytoplasmic ratio (NCR): the highest NCR index is characteristic for small cells, the lowest – for large. In this case, the cytopopulation of the hepatic particles of sheep, relative to that in cattle, is characterized by a greater number of small hepatocytes, as indicated by the increase in the average index of NCR from 0.1020 ± 0.0065 in cattle to 0.1201 ± 0.0573 in sheep.

Key words: morphology, cattle, sheep, liver, microscopic structure, hepatocytes.

Морфологія, гісто- та цитоморфометрія печінки жуйних

Н.В. Демус

Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького

У роботі з'ясовано макро-, мікроскопічну будову та особливості морфометричних показників печінки великої рогатої худоби (ВРХ) та овець на органному, тканинному та клітинному рівнях структурної організації із застосуванням анатомічних, гістологічних та морфометричних методів. Проведені дослідження свідчать, що морфологічна будова печінки у досліджуваних тварин має подібну структурну організацію, але відрізняється певними органо-, гісто- та цитоморфометричними показниками. На основі результатів органомерії встановлено, що абсолютна маса печінки у жуйних мінлива і в певній мірі залежить від кровонапов-

нення органа та виду тварин. Так у великої рогатої худоби абсолютна маса печінки становить $4,07 \pm 0,084$ кг, відносна – $1,12 \pm 0,012\%$, у овець відповідно $0,65 \pm 0,0065$ кг та $1,21 \pm 0,014\%$. Гістоархітектоніка печінки ВРХ та овець побудована із сполучнотканинної стромы і паренхіми. Строма органа сформована капсулою, поверх якої знаходиться серозна оболонка. У ділянці воріт печінки сполучна тканина капсули проникає всередину органа, розгалужується і ділить орган на часточки, які мають різні розміри та полігональну форму. З'ясовано, що у мікроскопічній будові печінки дослідних тварин – великої рогатої худоби та овець, межі між печінковими часточками, не зовсім чіткі у зв'язку з слабким розвитком між часточками сполучної тканини. За мікроскопічної будови печінкова часточка у жуйних сформована щільною сіткою епітеліальних пластинок, які мають радіальний напрямок та інколи анастомозують між собою. Кожна пластинка представлена двома рядами гепатоцитів, між якими містяться чітко виражені синусоїдні гемокапіляри. Між рядами гепатоцитів, що формують пластинки виявляються досить витончені (розміром до 1-го мкм) жовчні капіляри, стінками яких є оболонка гепатоцитів, що з'єднані між собою щільними контактами. Згідно з гістоморфометричними дослідженнями середня площа часточки печінки у великої рогатої худоби становить $0,7852 \pm 0,041$ мм², у овець такий показник є у 1,28 рази меншим і дорівнює відповідно $0,6143 \pm 0,066$ мм². Кількість часточок на одиницю площі (14 мм²), навпаки, є більшою у овець – $17,8 \pm 2,88$ одиниць і, достовірно ($P < 0,01$) майже у 1,4 рази меншим ($12,4 \pm 1,99$ од.) у ВРХ. Гепатоцити печінки дослідних тварин мають неправильну багатогранну форму з чіткими контурами цитоплазми. Вони щільно прилягають один до одного і містять округлі, центральні чи ексцентрично розміщені та інтенсивно забарвлені ядра різного діаметра. Гепатоцити за об'ємом цитоплазми та ядер характеризуються різними розмірами (малі, середні, великі), а відповідно і різними ядерно-цитоплазматичним відношенням (ЯЦВ): найвищий індекс ЯЦВ властивий для малих клітин, найнижчий – для великих. При цьому цитопопуляція часточок печінки овець, порівняно з такою у ВРХ, характеризується більшою кількістю малих гепатоцитів, на що вказує зростання середнього показника індексу ЯЦВ з $0,1020 \pm 0,0065$ у ВРХ до $0,1201 \pm 0,0573$ у овець.

Ключові слова: морфологія, велика рогата худоба, вівці, печінка, мікроскопічна будова, гепатоцити.

Вступ

Кожний живий організм постійно перебуває в тісному зв'язку з навколишнім середовищем, основним проявом життя людини і тварин якого є обмін речовин, що залежить від умов довкілля і змінюється разом з ним. Такі зміни в організмі відбуваються за участю органів і тканин апарату травлення, до складу якого входить і найбільша застінна травна залоза – печінка, яка виконує важливу роль у травленні, обміні речовин, імунобіологічних реакціях, тощо (Kudrjavcev et al., 1993; Liman, 1996; Wolf, 1999; Cherkashina and Petrenko, 2006; Longo et al., 2007; Vyshtakaliuk et al., 2015; Hariv and Gutty, 2016; Martyshuk et al., 2016).

З'ясовано, що від народження і до двотижневого віку ріст печінки у ссавців відбувається за рахунок поділу клітин. Згодом кількість клітин залишається постійною, а збільшення їх клітинного і ядерного об'ємів стає пропорційним логарифму маси печінки. При цьому величина гепатоцитів та їх ядер різні, і тому співвідношення ядер і цитоплазми у клітинах також різне (Loud, 1968; Usha, 1979; Gural'skaja and Goral'skij, 2014). Невеликі за розміром клітини містяться, в основному, на периферичних ділянках часточок печінки, великі – у середніх ділянках. Найбільший індекс ядерно-цитоплазматичного відношення виявлений у гепатоцитах периферійних ділянок, мінімальний – у гепатоцитах центральних ділянок (Erechina, 1989). Такі результати співпадають з вимірами, які проведені на ізольованих клітинах печінки (Drochmans et al., 1975).

Проте така характеристика цитоморфометрії неоднозначна і викликає певні суперечності. Вважають, що поява великих гепатоцитів можлива лише при деяких патологіях органа.

Саме тому для уточнення теоретичних аспектів даного питання метою наших досліджень було:

1. Провести гістометричний аналіз печінки великої рогатої худоби та овець у порівняльному аспекті.
2. Визначити об'єм цитоплазми гепатоцитів, їх ядер та встановити ядерно-цитоплазматичне відношення у різних за об'ємом клітин.

Матеріал і методи досліджень

Дослідження проводили на кафедрах нормальної та патологічної морфології і судової ветеринарії Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького та анатомії і гістології Житомирського національного агроєкологічного університету. Об'єктом для досліджень була печінка статевозрілих, клінічно здорових свійських тварин – ВРХ та овець. В роботі використовувались анатомічні, гістологічні та морфометричні методи досліджень (Tashkje, 1980; Avtandilov, 1990; Horalskyi et al., 2016).

Для гістологічного дослідження шматочки матеріалу фіксували в 10% водному розчині нейтрального формаліну та рідині Карнуа, з подальшою заливкою в парафін за схемами, запропонованими у посібнику Л.П. Горальського, В.Т. Хомича, О.І. Кононського (Horalskyi et al., 2016). Для вивчення морфології клітин та проведення морфометричних досліджень печінки серійні зрізи фарбували гематоксиліном та еозинном (Horalskyi et al., 2016).

Морфометричні дослідження цито- та гістоструктур печінки здійснювали за допомогою мікроскопів «Біолам-Ломо» та МБС-10, використовуючи рекомендації, викладені у посібниках Л.П. Горальського, В.Т. Хомича, О.І. Кононського (Horalskyi et al., 2016) та К. Ташке (Tashkje, 1980). Цифровий матеріал статистично обробляли за допомогою комп'ютерної програми «Microsoft Excel».

Результати та їх обговорення

Печінка у жуйних відносно невелика, бурочервоного кольору. Міститься вона в черевній порожнині у правому підребр'ї. Її маса дуже мінлива і надзвичайно залежить від кровонаповнення та виду тварин: у ВРХ абсолютна маса печінки становить $4,07 \pm 0,084$ кг, відносна – $1,12 \pm 0,012\%$, у овець відповідно $0,65 \pm 0,0065$ кг та $1,21 \pm 0,014\%$. Це ущільнений паренхіматозний орган, сплющеної форми, краї якого внизу розсічені на частки – праву, ліву, квадратну і хвостату, які у жуйних слабо виражені. До того ж

між лівою і квадратною частками виділяється незначна вирізка, а хвостата частка, крім хвостатого відростка, має ще сосочкоподібний відросток.

Мікроскопічно печінка побудована зі сполучнотканинної строми і паренхіми. Строма органа сформована капсулою, поверх якої – серозна оболонка. У ділянці воріт печінки сполучна тканина капсули проникає всередину органа, розгалужується і ділить орган на часточки. Проте межі між часточками печінки ВРХ та овець не зовсім чіткі у зв'язку з наявністю у ній невеликої кількості міжчасточкової сполучної тканини (рис. 1). Між часточками печінки виявляються чітко виражені міжчасточкові артерія, вена і жовчна протока, які формують тріади.

Часточки печінки мають різні розміри та утворюють паренхіму органа. Вони мають полігональну фо-

рму та сформовані печінковими пластинками, синусоїдними гемокапілярами та жовчними капілярами. У середині часточки знаходиться центральна вена (рис. 1).

Печінкові пластинки, за мікроскопічної будови мають радіальний напрямок та інколи анастомозують між собою. Між пластинками, які утворені двома рядами гепатоцитів, містяться чітко виражені синусоїдні гемокапіляри, а між рядами гепатоцитів сформованих пластинок, виявляються досить витончені (розміром до 1-го мкм) жовчні капіляри, стінками яких є оболонка гепатоцитів, що з'єднані між собою щільними контактами (рис. 1; 2).

Рис. 1. Мікроскопічна будова печінки ВРХ: а – печінкова часточка; б – центральна вена; в – печінкові пластинки; г – синусоїдні гемокапіляри. Гематоксилін та еозин. X. 56.

Рис. 2. Фрагмент мікроскопічної будови часточки печінки ВРХ: а – печінкові пластинки; б – гепатоцити; в – ядра гепатоцитів; г – синусоїдні гемокапіляри; д – жовчні капіляри. Гематоксилін та еозин. X. 400.

Згідно з проведеними нами гістоморфометричними дослідженнями встановлено незначні зміни морфометричних параметрів печінки у дослідних тварин. Так, середня площа часточки печінки у ВРХ становить $0,7852 \pm 0,041 \text{ мм}^2$, у овець такий показник є у 1,28 раза меншим і дорівнює відповідно $0,6143 \pm 0,066 \text{ мм}^2$. Кількість часточок на одиницю площі (14 мм^2), навпаки, є більшою у овець – $17,8 \pm 2,88$ одиниць і, достовірно ($P < 0,01$) майже у 1,4 раза такий показник є меншим ($12,4 \pm 1,99$ од.) у ВРХ. Діаметр поперечного зрізу центральної вени часточок печінки при цьому становить $80,1 \pm 6,4 \text{ мкм}$ у ВРХ та $72,8 \pm 5,8 \text{ мкм}$ у овець.

Гепатоцити мають неправильну багатогранну, рідко – округлу форму з чіткими контурами цитоплазми. Вони щільно прилягають один до одного і містять округлі, центрально чи ексцентрично розміщені та інтенсивно забарвлені ядра різного діаметра (рис. 2). Багато гепатоцитів (до 10% і більше) є двох ядерними, являючись таким чином тетраплоїдними формами.

Згідно з аналізом проведених нами цитоморфометричних досліджень, гепатоцити мають різні розміри, які коливаються у широких межах: від малих до вели-

ких. Вони відрізняються за об'ємом цитоплазми і ядер, а також ядерно-цитоплазматичним відношенням. Так, об'єм великих гепатоцитів печінки ВРХ становить $1727,9 \pm 101,8 \text{ мкм}^3$, середніх – $1096,4 \pm 42,9 \text{ мкм}^3$, малих $658,4 \pm 32,6 \text{ мкм}^3$, при цьому середній об'єм гепатоцитів становить $1018,4 \pm 73,2 \text{ мкм}^3$ (табл.). Об'єм ядер гепатоцитів має відповідно $92,9 \pm 3,7 \text{ мкм}^3$; $88,7 \pm 4,0 \text{ мкм}^3$; $78,9 \pm 4,6 \text{ мкм}^3$ та $84,1 \pm 2,7 \text{ мкм}^3$. Ядерно-цитоплазматичне відношення різне: у великих гепатоцитів дорівнює $0,0568 \pm 0,0041$, у середніх – $0,0880 \pm 0,0039$, у малих – $0,1364 \pm 0,0082$, а середнє ЯЦВ становить $0,0900 \pm 0,0068$ (табл.).

При проведенні цитоморфометричних досліджень печінки овець встановлена подібна тенденція – виявлені гепатоцити різного розміру, які мають різне ЯЦВ (табл.). При цьому аналіз цитоморфометричних показників свідчить, що об'єми гепатоцитів та об'єми їхніх ядер у дослідних тварин практично збігаються. Проте цитопопуляція часточок печінки овець характеризується більшою кількістю малих гепатоцитів, на що вказує збільшення середнього значення показника індексу ЯЦВ з $0,0900 \pm 0,0068$ у ВРХ до $0,1024 \pm 0,0498$ у овець (рис. 3).

Таблиця

Дані морфометрії гепатоцитів печінки у жуйних ($M \pm m$, $n = 5$)

Величина гепатоцитів	Об'єм гепатоцитів, мкм^3		Об'єм ядер гепатоцитів, мкм^3		ЯЦВ	
	ВРХ	вівці	ВРХ	вівці	ВРХ	вівці
Великі	$1727,9 \pm 101,8$	$1842,2 \pm 216,2$	$92,9 \pm 3,7$	$91,1 \pm 12,2$	$0,0568 \pm 0,0041$	$0,0520 \pm 0,0078$
Середні	$1096,4 \pm 42,9$	$1072,4 \pm 120,8$	$88,7 \pm 4,0$	$87,9 \pm 17,3$	$0,0880 \pm 0,0039$	$0,0893 \pm 0,0183$
Малі	$658,4 \pm 32,6$	$612,4 \pm 186,0$	$78,9 \pm 4,6$	$68,4 \pm 18,9$	$0,1364 \pm 0,0082$	$0,1257 \pm 0,0286$
Середнє значення	$1018,4 \pm 73,2$	$902,3 \pm 162,6$	$84,1 \pm 2,7$	$83,8 \pm 22,4$	$0,0900 \pm 0,0068$	$0,1024 \pm 0,0498$

Рис. 3. Показники ЯЦВ гепатоцитів печінки у жуйних

Висновки

Печінка великої рогатої худоби і овець має подібну будову, проте відрізняється органо- та гістоморфометричними показниками, а саме:

печінкові часточки більш розвинуті у ВРХ, про що свідчить збільшення площі часточок печінки та відповідно зменшення їх кількості на одиницю площі.

Гепатоцити часточок печінки дослідних тварин мають різні розміри (малі, середні, великі) і

відрізняються за об'ємом цитоплазми та ядер, а також ядерно-цитоплазматичним відношенням; найвищий індекс ЯЦВ у малих клітинах, найнижчий – у великих. При цьому цитопопуляція часточок печінки овець характеризується більшою кількістю малих гепатоцитів, на що вказує зростання середнього показника індексу ЯЦВ з $0,1020 \pm 0,0065$ у ВРХ до $0,1201 \pm 0,0573$ у овець.

Перспективи подальших досліджень. Подальші дослідження будуть спрямовані на проведення мікроскопічних досліджень печінки жуйних тварин на ультрамікроскопічному рівні.

References

- Avtandilov, G.G. (1990). *Medicinskaja morfometrija*. M.: Medicina (in Russian).
- Cherkashina, D.V., & Petrenko, A.Y. (2006). Hepatoprotective effect of fetal tissue cytosol and its thermostable fraction in rats with carbon tetrachloride-induced hepatitis. *B. Exp. Biol. Med.* 141(4), 544–547. doi:10.1007/s10517-006-0216-y
- Drochmans, P., Wanson, J.C., & Mosselmans, R. (1975). Isolation and subfractionation on ficoll gradients of adult rat hepatocytes. *The Journal of Cell Biology*. 66, 22.
- Erehina, G.N. (1989). Osobennosti mikromorfologii pecheni nekotoryh predstavitelej kuroobraznyh. Jekologo-jeksperimental'nye aspekty funkcional'noj, porodnoj i vozrastnoj morfologii domashnih ptic. *Mezhvuzovskij sb. nauch. trudov. Voronezh*, 64–67 (in Russian).
- Gural'skaja, S.V., & Goral'skij, L.P. (2014). Gistomorfologija i morfometricheskie parametry pecheni domashnih zhivotnyh. *Nauch.-prak. Zhurnal «Uchjonye zapiski»*. Vitebskaja gosudarstvennaja akademija veterinarnoj medicyny. 50(2), 1, 144–148 (in Russian).
- Hariv, M.I., & Gutyj, B.V. (2016). Vplyv liposomalnoho preparatu Butaintervit na proteinsyntezuvalnu funktsiu pechinky shchuriv za otruiennia tetrakhlormetanom [Influence of the liposomal preparation Butaintervite on protein synthesis function in the livers of rats under the influence of carbon tetrachloride poisoning]. *Visnyk of Dnipropetrovsk University. Biology, medicine*. 7(2), 123–126. doi: 10.15421/021622 (in Ukrainian).
- Horalskyi, L.P., Khomych, V.T., & Kononskyi, O.I. (2016). *Osnovy histolohichnoi tekhniky i morfofunktsionalni metody doslidzhennia u normi ta pry patolohii*. Zhytomyr: Polissia (in Ukrainian).
- Kudrjavcev, B.N., Kudrjavceva, M.V., & Sakuta, G.A. (1993). Issledovanie poliploidizacii gepatocitov pri nekotoryh hronicheskikh zabolevanijah pecheni u cheloveka. *Citologija*. 35(5), 70–82 (in Russian).
- Longo, V., Chirulli, V., Gervasi, P.G., Nencioni, S., & Pellegrini, M. (2007). Lisosan G, a powder of grain, does not interfere with the drug metabolizing enzymes and has a protective role on carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity. *Biotechnol. Lett.* 29(8), 1155–1159. doi:10.1007/s10529-007-9378-6
- Loud, A.V. (1968). Quantitative stereological description of the ultrastructure of normal rat liver parenchyma. *The Journal of Cell Biology*. 37, 27–46.
- Liman, N. (1996). Quantitative Histomorphology of Liver Growth in Sheep at Prenatal and Postnatal Stages. *Anatomia, Histologia, Embryologia*. 25(1), 43–48. doi: 10.1111/j.1439-0264.1996.tb00058.x
- Martyshuk, T.V., Gutyj, B.V., & Vishchur, O.I. (2016). Level of lipid peroxidation products in the blood of rats under the influence of oxidative stress and under the action of liposomal preparation of «Butaselmavit». *Biological Bulletin of Bogdan Chmelnytskyi Melitopol State Pedagogical University*. 6 (2), 22–27. doi: 10.15421/201631
- Tashkje, K. (1980). Vvedenie v kolichestvennuju citogistologicheskiju morfologiju. Buharest: Izd-vo AN SRR (in Russian).
- Usha, B.V. (1979). *Vereninarhaja gepatologija*. M.: Kolos (in Russian).
- Vyshtakaliuk, A.B., Nazarov, N.G., Porfiriev, A.G., Zueva, I.V., Minnechanova, O.A., Mayatina, O.V., Reznik, V.S., Zobov, V.V., & Nicolskyi, E.E. (2015). The influence of the Xymedon preparation (Hydroxyethyl-dimethyldihydropyrimidine) on the rat liver recovery under toxic damage induced by carbon tetrachloride. *Biochemistry, Biophysics and Molecular Biology* 462(1), 143–146. doi:10.1134/S1607672915030011
- Wolf, P.L. (1999). Biochemical diagnosis of liver disease. *Indian J. Clinical Biochem.* 14(1), 59–90. doi:10.1007/BF02869152