

ГІСТОХІМІЧНА ТА УЛЬТРАСТРУКТУРНА ХАРАКТЕРИСТИКА ДВАНАДЦЯТИПАЛОЇ КИШКИ СВИНЕЙ ПРИ ЗГОДОВУВАННІ КОРМІВ ІЗ РІЗНИМ ВМІСТОМ ПРОБІОТИКІВ

В. М. Лемішевський¹

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

У статті представлено гістохімічну та ультраструктурну характеристику стінки дванадцятипалої кишки поросят при згодовуванні кормів з різним вмістом пробіотиків. Встановлено, що згодовування молодняку свиней кормів із додаванням пробіотиків Probion-forte в дозі 1г/кг та Biorplus 2B в дозі 0,4 г/кг протягом 42-х діб сприяє зростанню кількості плазмоцитів у слизовій оболонці дванадцятипалої кишки, гіпертрофії і гіперплазії ультраструктур ентероцитів.

Травна система займає важливе місце у взаємовідносинах організму із зовнішнім середовищем. Слизова оболонка тонкої кишки перешкоджає проникненню патогенної мікрофлори і є основним джерелом імуноглобулінів, плазматичних клітин у власній пластинці слизової оболонки кишечника[1].

Нормофлора кишечника відіграє важливу роль в механізмах формування імунітету і неспецифічних захисних реакціях в постнатальному розвитку організму [2]. Система місцевого імунітету кишечника проявляє толерантність до нормофлори, а до умовно-патогенних мікроорганізмів проявляє адекватні захисні властивості. Мікроорганізми проявляють імуностимулюючу дію, індукуючи імунну відповідь на вироблення цитокінів та антитіл. У нормальних умовах ці захисні механізми не призводять до хронічних запалень, які є результатом постійної стимуляції імунних клітин крові і лімфатичної системи[3].

Саме тому, якщо порушується баланс нормофлори виникає дисбактеріоз, і імунна система страждає в першу чергу.

Травлення забезпечується певною послідовністю функціонування різних відділів шлунково-кишкового тракту. Застосування ультраструктурних методів дослідження дає змогу провести якісну оцінку ультраструктурних змін в шлунково-кишковому тракті, а також їх взаємозв'язок.

Метою наших досліджень було вивчити гістохімічні показники та ультраструктуру дванадцятипалої кишки свиней, яким згодовували повнораціонний комбікорм з різним вмістом пробіотиків.

Матеріали і методи. Дослід проводили у виробничих умовах ННВЦ “Комарнівський”, Городоцького району Львівської області на поросятах породи “Велика Біла”, 28-добового віку. За принципом аналогів було сформовано три дослідні групи поросят по 30 голів у кожній. Поросяттям I групи згодовували комбікорм із додаванням пробіотика “Probion-forte” в дозі 1 г/кг корму, II групі згодовували пробіотик “Biorplus 2B” в дозі 0,4 г/кг корму. Контрольній групі згодовували комбікорм згідно з нормами, рекомендованими для породи “Велика Біла” з урахуванням вікової категорії.

Тварин утримували в станках по 15 голів у кожній, з вільним доступом до корму та води. На 42 добу досліду по 5 голів з кожної групи виводили з експерименту, проводили патологоанатомічний розтин з відбором матеріалу. Шматочки дванадцятипалої кишки

¹Науковий керівник — доктор ветеринарних наук, професор Г. І. Коцюмбас

фіксували у рідині Карнуа, з подальшою заливкою у парафін згідно методики. Зрізи виготовлялись на санному мікротомі МС-2, товщиною у 7 мікрон. Препарати фарбували метиленовим зеленим та піроніном за Браше [4]. Мікроскопію та мікрофотографування проводили за допомогою мікроскопа Micromed XS-2610.

При проведенні морфометрії дотримувалися рекомендації Г.Г. Автанділова [5], виконуючи щонайменше 50 вимірювань кожного параметра на одному мікропрепараті.

Для вивчення ультраструктури слизової оболонки дванадцятипалої кишки свиней шматочки дванадцятипалої кишки фіксували у 1,5 % розчині глютарового альдегіду в 0,2 молярному какодилатному буфері (рН 7,2) — 2 години. Зразки промивали у двох порціях буферу і дофіксували в 1,5% розчині окису осмію. Після промивання, дегідратації в зростаючих концентраціях етилового спирту, контрастували зразки ураніл-ацетатом і заключали в епоксидну смолу Епон-812. Мікротомування проводили на ультрамікротомі, контрастували ураніл ацетатом і цитратом свинцю. Зразки переглядали і фотографували в електронно-трансмісійному мікроскопі Tesla-BS-500.

Достовірність різниці між статистичними характеристиками двох експериментальних сукупностей даних визначали за коефіцієнтом Стьюдента, а вірогідними вважали зміни при рівні значущості $p < 0,05$ [6].

Результати й обговорення. За світлооптичного вивчення мікропрепаратів пофарбованих метиленовим зеленим та піроніном за Браше спостерігали, що у I і II дослідних групах поросят, яким з кормом згодовували пробіотик “ProBion-forte” у дозі 1,0 г/кг та Bioplus 2В 0,4 г/кг відповідно, відзначали помірну піронінофільність цитоплазми стовпчатих ентероцитів та яскраво виражену піронінофілію цитоплазми плазматичних клітин у власній пластинці слизової оболонки дванадцятипалої кишки. Ядра ентероцитів округлої форми, добре забарвлені метиленовим зеленим в синьо-зелений колір та розташовувалися дещо базальніше в цитоплазмі клітин. Їх інтенсивне зафарбування свідчить про високий вміст дезоксирибонуклеїнової кислоти.

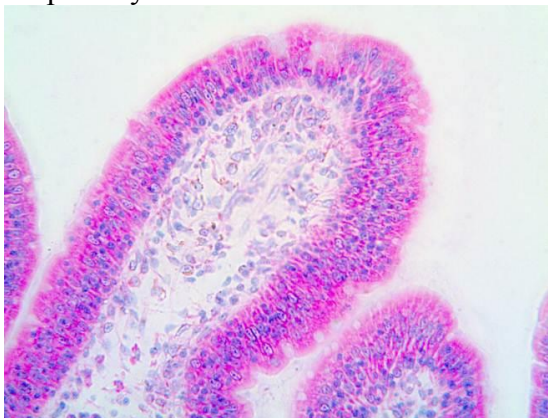


Рис. 1. Ворсинка дванадцятипалої кишки поросят контрольної групи. Фарбування за Браше. Х600

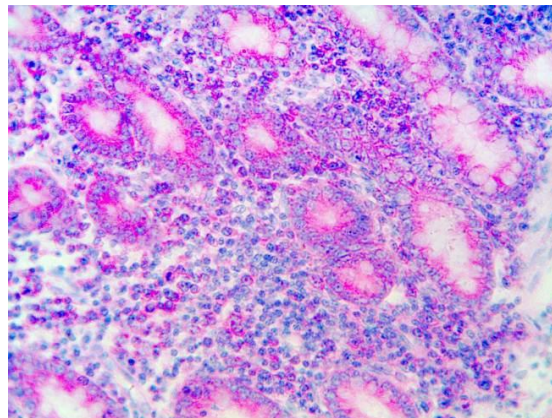


Рис. 2. Плазматичні клітини у власній пластинці слизової оболонки дванадцятипалої кишки поросят контрольної групи. Фарбування за Браше. Х600

У дослідній та контрольній групі поросят плазматичні клітини забарвлювались в яскраво червоний колір. Вони розташовувалися переважно дифузно у власній пластинці слизової оболонки дванадцятипалої кишки в ділянці крипт та в сполучній тканині ворсинок. В поросят контрольної групи спостерігали помірне забарвлення призматичних ентероцитів ворсинок та плазматичних клітин у крипах власної пластинки слизової оболонки (рис. 1–2). Відмічали у I (рис. 3–4) та II (рис. 5–6) дослідній групі поросят вищу піронінофільність цитоплазми ентероцитів та плазматичних клітин в ділянці крипт та у власних ворсинках слизової оболонки дванадцятипалої кишки, порівняно з контрольною групою поросят.

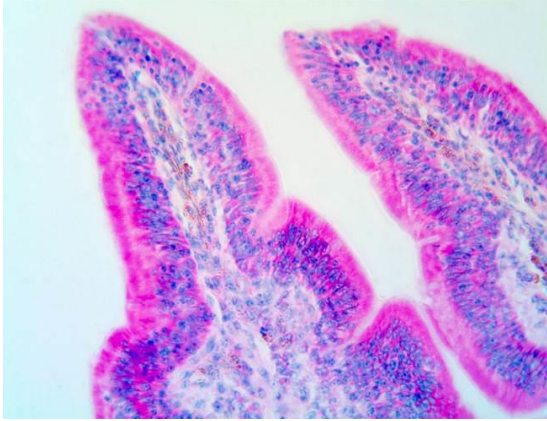


Рис. 3. Ворсинка дванадцятипалої кишки поросят I групи. Фарбування за Браше. Х600

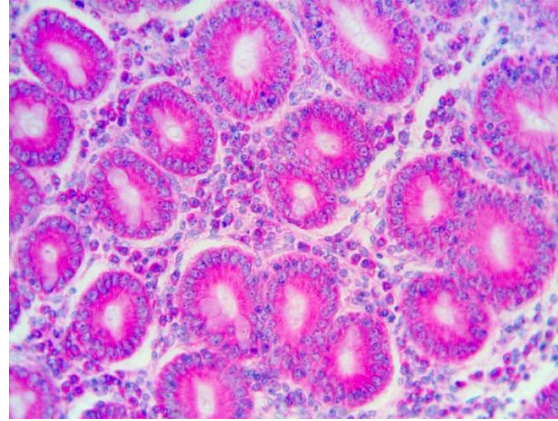


Рис. 4. Плазматичні клітини у власній пластинці слизової оболонки дванадцятипалої кишки поросят I групи. Фарбування за Браше. Х600

Зростання вмісту РНК в цитоплазмі ентероцитів ліберкюнових залоз слизової оболонки дванадцятипалої кишки свідчить про посилення білоксинтезувальних процесів. Такі гістохімічні зміни ймовірно зумовлені інтенсивними проліферативними процесами в гермінативній зоні слизової оболонки дванадцятипалої кишки. Дані процеси направлені на збільшення індексу ворсинок, що було підтверджено відповідними морфометричними дослідженнями. Разом з тим, плазматичні клітини, які постійно присутні у власній пластинці слизової оболонки з характерним високим вмістом РНК і при мікроскопічному дослідженні їх вміст виявляють локально за інтенсивним забарвленням цитоплазми у малиново-рожевий колір.

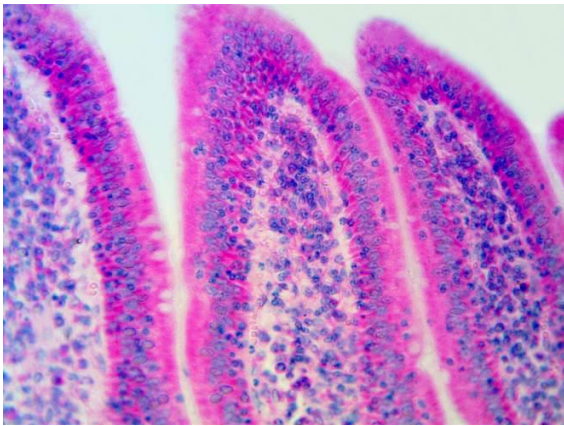


Рис. 5. Ворсинка дванадцятипалої кишки поросят II групи. Фарбування за Браше. Х600

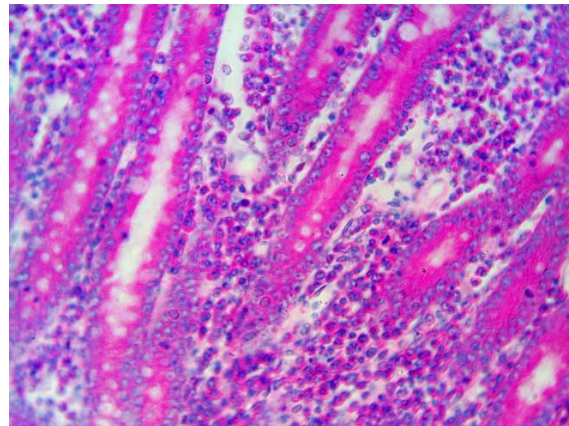


Рис. 6. Плазматичні клітини у власній пластинці слизової оболонки дванадцятипалої кишки поросят II групи. Фарбування за Браше. Х600

Співставивши гістохімічні показники слизової оболонки дванадцятипалої кишки контрольної групи поросят з дослідними, відзначали порівняно нижчу кількість лімфоцитів, плазмоцитів та тучних клітин. У власній пластинці слизової оболонки I та II дослідних груп поросят, навпаки спостерігали дифузно розташовані плазматичні клітини з вираженою піронінофільною (інтенсивно червоного забарвлення) цитоплазмою та ексцентрично розміщеним ядром.

Найбільш збагачену РНК цитоплазму ентероцитів та плазмоцитів ліберкюнових залоз і ворсинок, відзначали у поросят II дослідної групи, яким з кормом згодувували пробіотики “Biorplus 2B” в дозі 0,4 г/кг корму (рис. 6). Порівняно з аналогічними гістохімічними показниками I та контрольної групи поросят, в яких він був дещо нижчим.

За ультраструктурного дослідження слизової оболонки дванадцятипалої кишки поросят, яким згодували пробіотичні кормові добавки ми зосередили увагу на ентероцитах з щітковою облямівкою та їх органелах.

Як в контрольній, так і дослідних групах поросят ентероцити слизової оболонки дванадцятипалої кишки щільно прилягали один до одного. Плазматична оболонка стовпчастих клітин складалась з двох електронно щільних шарів і менш щільного проміжного. На апікальній поверхні призматичних ентероцитів знаходились мікрворсинки, у вигляді пальцевидних виростів, які утворені численними виростами цитоплазми (рис. 7, 9, 11). Мікрворсинки добре структуровані, висотою в межах 1–2 мікрон і діаметром до 0,1 мкм з незначним простором між ними. Матрикс мікрворсинок був дещо щільніший основної речовини цитоплазми клітин. Відомо, що завдяки лужній фосфатазі, яка зосереджена на щітковій облямівці ентероцитів відбувається пристінкове травлення слизовою оболонкою дванадцятипалої кишки.

У контрольній групі поросят мікрворсинки ентероцитів мали різну висоту та вільно розташовувалися одна біля одної (рис. 7).

У I групі поросят, на апікальній поверхні ентероцитів мікрворсинки помітно більш довші та щільніше розміщувалися одна біля одної, утворюючи густу щіткову облямівку (рис. 9) та незначно ширші мікрворсинки спостерігали у поросят II групи (рис. 11).

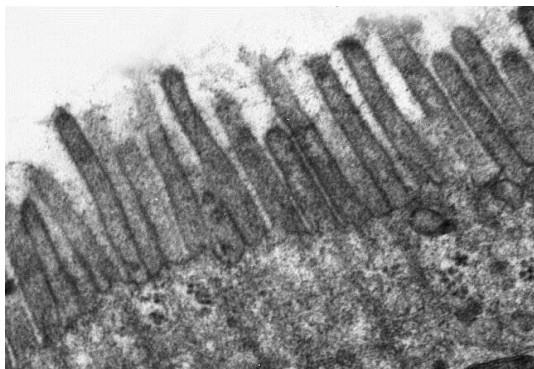


Рис. 7. Мікрворсинки ентероцита слизової оболонки дванадцятипалої кишки поросят контрольної групи. Електроннограма. X24000

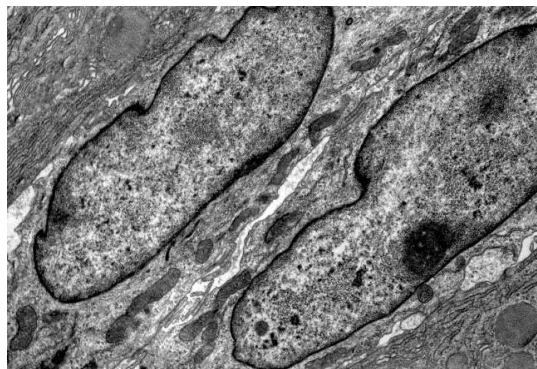


Рис. 8. Ядра ентероцитів слизової оболонки дванадцятипалої кишки поросят контрольної групи. Електроннограма. X6000

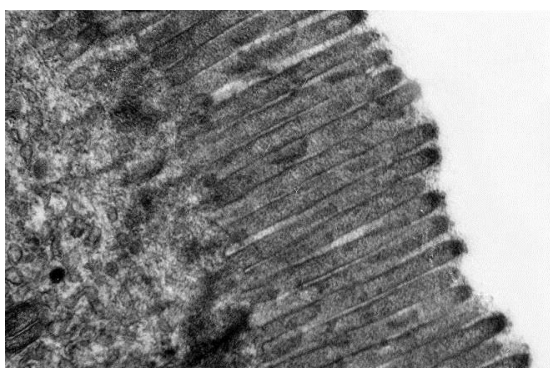


Рис. 9. Мікрворсинки ентероцита слизової оболонки дванадцятипалої кишки поросят I групи. Електроннограма. X24000

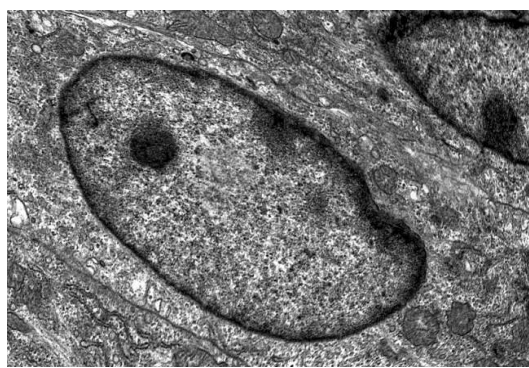


Рис. 10. Ядро ентероцита слизової оболонки дванадцятипалої кишки поросят I групи. Електроннограма. X6000

Слід при цьому відзначити ультраструктурні відмінності і з боку ядер та мітохондрій ентероцитів у дослідних групах тварин. У контрольній групі поросят ядра переважно були неправильної форми з одним або декількома ядерцями, більш електронно щільними та з помірним вмістом хроматину, які розміщувались переважно в нижній третині клітини. В ядрах ентероцитів контрольної групи поросят каріолема утворювала помірні заглиблення та

випинання (рис. 8). Ядра ентероцитів дослідних груп поросят овальної форми з хвилястим рельєфом каріолеми, незначно розширеними ядерними порами та незначним зростанням конденсованого ядерного хроматину (рис. 10, 12).

Виявлена ультраструктурна перебудова мікроборсинок ентероцитів дванадцятипалої кишки I та II групи поросят вказує на більш виражену активність пристінкового травлення в кишечнику. А ультраструктурні зміни з боку ядер вказують на зростання функціональної активності ентероцитів дослідних груп поросят.

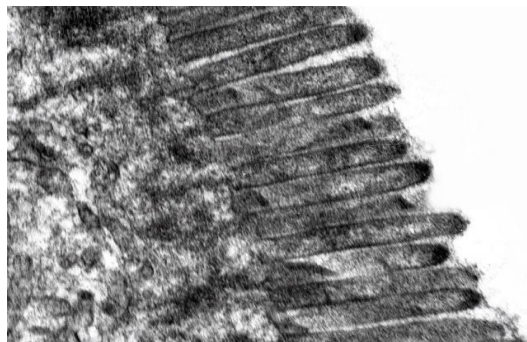


Рис. 11. Мікроборсинки ентероцита слизової оболонки дванадцятипалої кишки поросят II групи. Електроннограма. X24000



Рис. 12. Ядро ентероцита слизової оболонки дванадцятипалої кишки поросят II групи. Електроннограма. X6000

Як в дослідній, так і в контрольній групі поросят мітохондрії в цитоплазмі ентероцитів в більшій мірі концентрувались в апікальній ділянці клітин, переважно овальної, паличковидної і округлої форми та різного розміру. У контрольній групі поросят мітохондрії ентероцитів мали гантелевидні форму та не великого розміру. Мембрану мітохондрій ентероцитів з більш щільним матриксом в порівнянні з оточуючою цитоплазмою ентероцитів спостерігали у поросят I та II групи. В мітохондріях знаходилась помірна кількість крист, які розташовувалися переважно перпендикулярно довшої осі. По всій цитоплазмі клітини траплялась невелика кількість вільно лежачих рибосом і полісом. Видовжені, паралельно розташовані ламели з везикулами апарату Гольджі займали незначну площу в клітині та розташовувалися над ядром ентероцита.

У цитоплазмі ентероцитів I та II дослідної груп поросят, мітохондрії набували дещо округлої форми, з широко розставленими кристами, що свідчить про посилений енергетичний обмін в клітині. Мембрани гранулярної ендоплазматичної сітки розширені, кількість рибосом на їх поверхні порівняно з контрольною групою зростала.

Келихоподібні клітини слизової оболонки дванадцятипалої кишки контрольної та дослідних груп поросят знаходились на різних стадіях секреції. Цитопзма надядерного відділу наповнені краплинами муцигену. Дані краплини секрету представляють собою сферичні та неправильної форми гранули з незначно вираженою пограничною мембраною. Келихоподібні клітини контрольної та II дослідної груп поросят знаходяться на початкових стадіях секрету (рис. 13, 15), про що свідчить призматична форма власне клітини та комплекс Гольджі, який розташовується у вигляді чаші над ядром і представлений головним чином щільно упакованими ламелярними утвореннями. Профілі щорсткого ендоплазматичного ретикулула в більшій кількості розташовувалися по периферії клітини і в навколядерній зоні, безпосередньо контактуючи з ядерною оболонкою. У порожнинах їх можна було розрізнити за помірної електронної щільності речовина. Присутній в цитоплазмі незначний рівень гранул муцигену. А келихоподібні клітини I групи поросят знаходяться на завершальній стадії секреції (рис. 14).

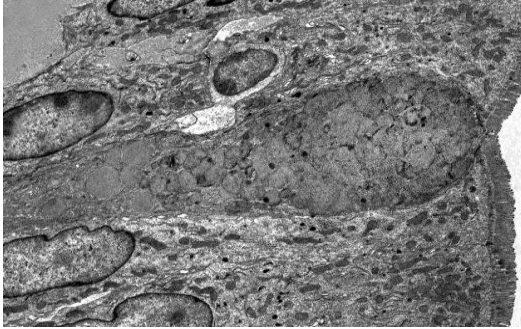


Рис. 13. Келихоподібна клітина слизової оболонки дванадцятипалої кишки поросят контрольної групи. Електронорама. X4000



Рис. 14. Келихоподібна клітина ділянки ентероцита слизової оболонки дванадцятипалої кишки поросят I групи. Електронорама. X4000

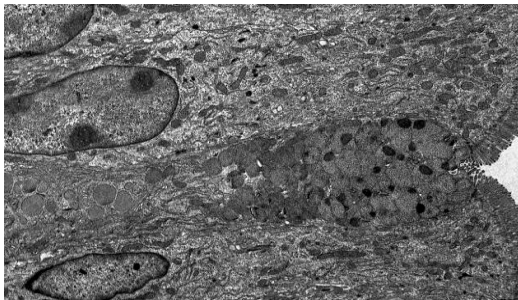


Рис. 15. Келихоподібна клітина ділянки ентероцита слизової оболонки дванадцятипалої кишки поросят II групи. Електронорама. X4000

Цитоплазма розтягнута, переповнена просвітленими краплинами муцигену, елементи комплексу Гольджі поряд з іншими внутрішньоклітинними структурами відтісняються в базальну частину клітини. Цитоплазма з розширеною вершиною та порівняно витонченою ніжкою приймає форму бокалу.

В И С Н О В К И

При згодовуванні поросят кормів з додаванням пробіотиків “Probion-forte” в дозі 1 г/кг корму та пробіотик “Biorplus 2B” в дозі 0,4 г/кг корму сприяє збільшенню вмісту лімфоцитів, плазматичних, тучних клітин у власній пластинці слизової оболонки дванадцятипалої кишки. Фізіологічна гіперплазії і гіпертрофії ультраструктур ентероцитів, зростання висоти та більш щільне розташування мікрроворсинок. Зростання кількості і розміру мітохондрій, накопичення ядерного хроматину в ентероцитах свідчить про посилений енергетичний обмін та активність пристінкового травлення і всмоктування.

Перспективи подальших досліджень. Вивчення гістохімічних показників різних відділів шлунково-кишкового тракту триватиме.

HISTOCHEMICAL AND ULTRASTRUCTURAL CHARACTERISTICS DUODENUM OF PIGS AT FEEDING FORAGE WITH DIFFERENT CONTENT OF PROBIOTICS

V. M. Lemishevskyi

Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies named after S. Z. Gzhytsky

S U M M A R Y

The article presents a histochemical and ultrastructural characteristics of duodenal wall pigs when fed feed containing different amounts of probiotics. Found that feeding piglets with feed added probiotics Probion-forte dose of 1g/kg and Bioplus 2B dose of 0.4 g / kg during 42 days promotes the growth of plasma cells to the duodenal mucosa, and hypertrophy the enterocyte hyperplasia ultrastructures.

ГИСТОХИМИЧЕСКАЯ И УЛЬТРАСТРУКТУРНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ДВЕНАДЦАТИПЕРСТНОЙ КИШКИ СВИНЕЙ ПРИ СКАРМЛИВАНИИ КОРМОВ С РАЗЛИЧНЫМ СОДЕРЖАНИЕМ ПРОБИОТИКОВ

В. М. Лемшиевский

Львовский национальный университет ветеринарной медицины и биотехнологий
имени С.З. Гжицкого.

А Н Н О Т А Ц И Я

В статье представлена гистохимическая и ультраструктурная характеристика стенки двенадцатиперстной кишки поросят при скармливании кормов с различным содержанием пробиотиков. Установлено, что скармливание молодняку свиней кормов с добавлением пробиотиков Probion-forte в дозе 1г/кг и Bioplus 2B в дозе 0,4 г / кг в течение 42-х дней способствует росту количества плазмоцитов в слизистой оболочке двенадцатиперстной кишки, гипертрофии и гиперплазии ультраструктур энтероцитов.

Л І Т Е Р А Т У Р А

1. *Сапин М. Р.* Иммуные структуры пищеварительной системы / М. Р. Сапин — М. : Медицина, 1987. — С. 5–25.
2. *Кімакович В. Й.* Імунна система шлунково-кишкового тракту в нормі та патології / В. Й. Кімакович, В. В. Чопяк, О. В. Бродик. — Укрмедкнига, 1999. — С.8-55.
3. *Кучумова С. Ю.* Физиологическое значение кишечной микрофлоры / С. Ю. Кучумова, Е. А. Полуэктова, А. А. Шептулин, В. Т. Ивашкин // Рос. журн. гастроэнтерол. — 2011. — Т. 21. — № 5. — С. 5–9.
4. *Кононский А. И.* Гистохимия / А. И. Кононский. — Киев : изд. объединение. “Вища школа”, 1976. — 278 с.
5. *Автандилов Г. Г.* Основы количественной патологической анатомии / Г. Г. Автандилов. М.: Медицина, 2002. — 240 с.
6. *Лапач С. Н.* Статистические методы в медико-биологических исследованиях Excell / С. Н. Лапач, А. В. Губенко, П. Н. Бабич — К.: Морион, 2001. — 410 с.