

УДК619:611:018:619:615.3

**Коцюмбас Г.І.**, д.вет.н., професор, зав. каф. пат. анатомії і гістології  
**Костинюк А.К.**, аспірант ©

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

### **ГІСТОХІМІЧНА ТА УЛЬТРАСТРУКТУРНА ХАРАКТЕРИСТИКА 12-ПАЛОЇ КИШКИ КУРЧАТ-БРОЙЛЕРІВ ЗА ВПЛИВУ ПРОБІОТИКІВ, ЗАСТОСОВАНИХ У РІЗНИХ ДОЗАХ**

*У роботі представлено вміст РНК та ультраструктурна характеристика клітин слизової оболонки дванадцятипалої кишки курчат – бройлерів за впливу різних доз пробіотиків. Встановлено, що застосування пробіотиків «Probiop» та «Bio» в різних дозах сприяє збільшенню вмісту лімфоцитів, плазматичних клітин, макрофагів, тучних клітин у власній пластинці слизової оболонки і гіперплазії, гіпертрофії ультраструктур ентероцитів та зростанню їх білоксинтезувальної функції.*

**Вступ.** При інтенсивній відгодівлі курчат-бройлерів продуктивність та резистентність організму птиці залежить від морфофункціонального стану всіх систем організму, серед яких важливе місце займає апарат травлення [1,2]. Функціональна діяльність кишок тісно пов'язана з мікрофлорою травного тракту, а введення з кормом пробіотичних препаратів сприяє нормалізації фізіологічних процесів травлення і кращому засвоєнню кормів птицею. Стабілізовані культури симбіотичних мікроорганізмів (лакто- та біфідобактерії) пробіотичних препаратів, вкриваючи поверхню слизової оболонки товстим шаром, створюють захисний бар'єр, що запобігає розмноженню патогенних мікроорганізмів, сприяє відновленню порушеної мікрофлори і стимулює власні сили організму. Разом з тим, виробляючи значну кількість біологічно активних речовин, вони в свою чергу стимулюють природну резистентність організму, оскільки для них властива антагоністична, антибактеріальна та імуностимулююча дія, тому найчастіше їх застосовують для підтримання нормофлори кишечника [3,4].

Вивчення деяких гістохімічних показників та ультраструктури 12-палої кишки за впливу пробіотичних препаратів у різних дозах дасть можливість визначити структурно-функціональний стан, взаємозв'язок окремих елементів клітин, а також клітин в цілому, що дозволить визначити найоптимальнішу дозу досліджуваних пробіотиків, які найкраще сприяли би покращенню обмінних процесів у тканинах та в організмі в цілому.

**Метою і завданням досліджень** було вивчити вплив сухого пробіотика «Probiop» (виробник Корея) у дозі 0,5 мг/кг та 1 мг/кг корму і пробіотика «Bio»

(виробник Німеччина) у дозі 0,4 мг/кг корму на ультраструктуру та вміст РНК у клітинах 12-палої кишки.

**Матеріал і методи дослідження.** Дослід проводили на курчатах-бройлерах породи «Kobb-500» в умовах виробництва на фірмі „Его”. Було сформовано чотири групи курчат-бройлерів, масою тіла 37–40 г, по 300 голів у кожній. Курчатам I, II і III груп згодовували збалансований за кормовими одиницями корм з пробіотиком. I група – комбікорм + «ProBion» в дозі 1 мг/кг корму, II група – комбікорм + «ProBion» в дозі 0,5 мг/ кг корм і III група комбікорм + пробіотик «Bio» в дозі 0,4 мг/ кг корму. Птиці контрольної групи (IV) згодовували комбікорм без пробіотика. Курчатам усіх дослідних груп випоювали воду. На 43 добу досліду по 10 курчат з кожної групи зважували, забивали, відбирали кров, проводили патологоанатомічний розтин і відбирали шматочки дванадцятипалої кишки, які фіксували у розчині Карнуа для подальшого гістохімічного дослідження, з наступною заливкою у парафін згідно з методикою. Зрізи виготовлялись на мікротомі MC-2 і фарбували за Браше[5]. Мікроскопію та фотографування проводили за допомогою мікроскопа OLIMPUS CX-41.

Для поглибленого вивчення структури 12-палої кишки, застосовували електронно-мікроскопічні дослідження. Для цього відбирали шматочки 12-палої кишки, які фіксували у 1,5 % розчині глютарового альдегіду в 0,2 молярному какодилатному буфері (рН-7,2) – 2 години. Зразки промивали у двох порціях буфера і дофіксували в 1,5 % розчині окису осмію (OsO<sub>4</sub>). Після відмивання, дегідратації в зростаючих концентраціях етилового спирту, контрастували ураніл-ацетатом і заключали в епоксидну смолу – Epon-812. Ультратонкі зрізи контрастували уранілацетатом і цитратом свинцю. Зразки переглядали і фотографували в електронно-трансмісійному мікроскопі ПЕМ-100 [6,7].

**Результати досліджень.** При фарбуванні за Браше в слизовій оболонці кишок курчат–бройлерів контрольної групи відзначали переважно помірну, а в деяких клітинах виражену піронінофільність цитоплазми ентероцитів крипт. Ядра клітин округлі, з високим вмістом ДНК на що вказувало забарвлення їх метиленовим зеленим. Найбільш інтенсивно забарвлювались піроніном плазматичні клітини, які дифузно розміщувались між криптами та в стінках ворсинок (рис 1, рис. 2). У курчат-бройлерів I та II груп, яким з кормом задавали пробіотик «ProBion» у дозі 1 мг/кг та 0,5 мг/кг корму, порівняно з контрольною групою, відзначали найбільше зростання піронінофільності цитоплазми ентероцитів в ділянках дна крипт та самих ворсинок.

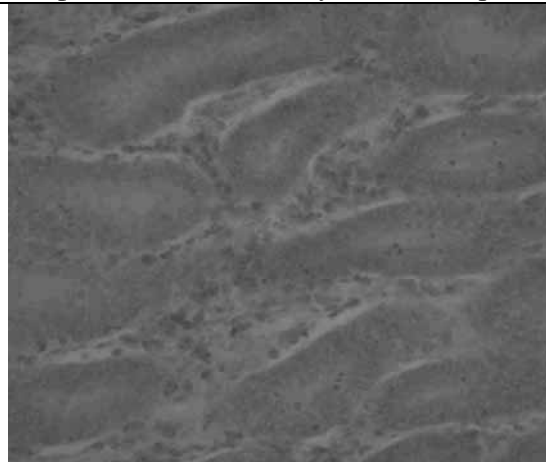
Відомо, що генеративна зона слизової оболонки тонких кишок розміщена саме у криптах, а зростання вмісту РНК в цитоплазмі клітин вказує на посилення білоксинтезуючих процесів. Така гістохімічна перебудова, ймовірно, зумовлена інтенсивними проліферативними процесами, які спрямовані на збільшення довжини самих ворсинок, що було підтверджено гістоморфометричними дослідженнями [8].



Порівняно з контрольними курчатами, в стінках кишок курчат I і II груп, відзначали збільшення вмісту лімфоцитів, плазматичних клітин, макрофагів, тучних клітин. Добре проглядались у власній пластинці слизової оболонки кишки дифузно розсіяні піронінофільні плазматичні клітини та компактні коловидної або овалоподібної форми скупчення лімфоїдної тканини, у центрі яких переважали бластні форми (рис. 3. рис. 4).



У курчат III групи, яким задавали з кормом пробіотик «ВІО» в дозі 0,4 мг/кг корму, відзначали найбільше збагачену РНК цитоплазми ентероцитів крипт, менше ворсинок. Порівняно з кишечником курчат I і II груп вміст лімфоїдних елементів був нижчим (рис. 5, рис 6).

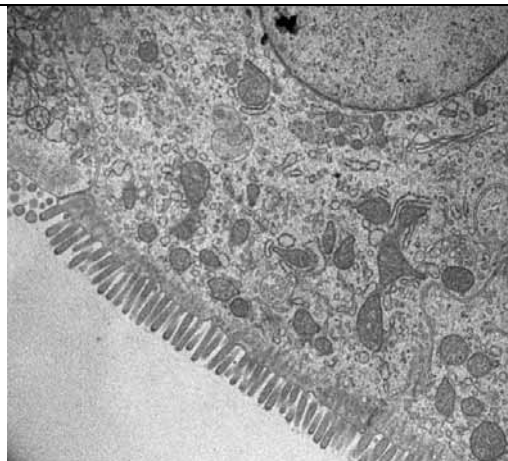


**Рис. 5.** Плазматичні клітини у власній пластинці слизової оболонки кишечника курчат III групи. Браше. Ок.10, об. 40

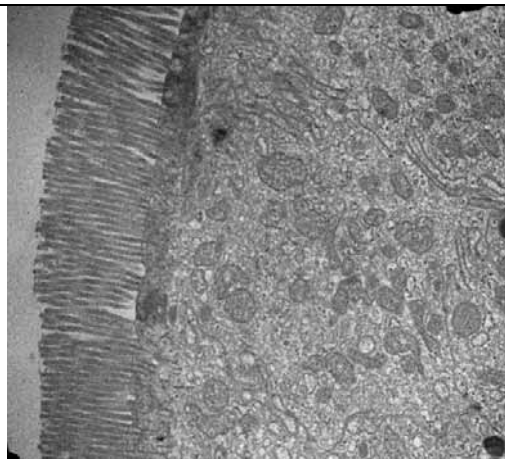


**Рис.6.** Фрагмент ворсинки 12-палої кишки курчат III групи. Браше. Ок.10, об. 40

За електронно-мікроскопічного дослідження слизової оболонки 12-палої кишки курчат-бройлерів на 43 добу досліду основну увагу акцентували на циліндричних клітинах зі сторони просвіту кишки. Як в контрольній, так і дослідних групах ентероцити щільно прилягали одна до одної. Апікальна частина циліндричних клітин вкрита щільною облямівкою, яка утворена численними виростами цитоплазми (мікроросинками). За допомогою ферментів щільної облямівки здійснюється пристінкове травлення слизовою оболонкою кишок. Мікроросинки чітко структуровані, висотою в межах 1,5 – 1,7 мікрон з добре помітним просвітом між ними. У цитоплазмі ентероцитів високий вміст мітохондрій, які концентрувались в апікальній частині циліндричних клітин. Мітохондрії, переважно овальної форми та різної величини з щільно розміщеними одна біля одної кристами, що надавало даним структурам більш осміювального забарвлення. Поодинокі виявлялись щільні осміювальні тільця лізосом та дрібні піноцитозні міхурці. У над'ядерній частині цитоплазми проглядаються видовжені, паралельно розташовані ламели з везикулами апарату Гольджі, які займали невелику площу в клітині. (рис. 7). Ядра округлої форми з помірним вмістом хроматину розміщувались, переважно, в базальній ділянці ентероцита (рис. 11). У курчат I і II груп, порівняно з контрольною групою, на апікальній поверхні ентероцитів помітне збільшення мікроросинок щільної облямівки. Мікроросинки видовжені, щільно прилягають одна до одної (рис. 8).

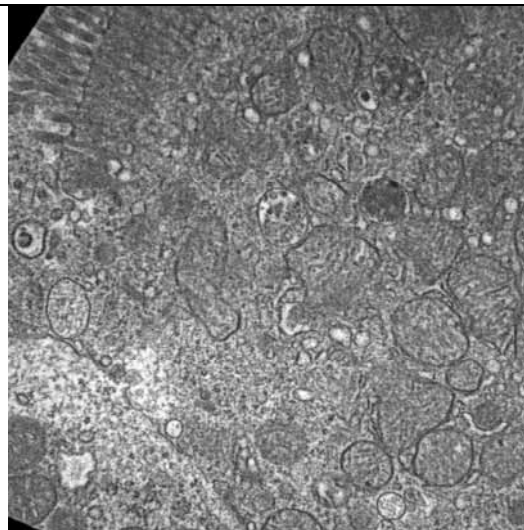


**Рис. 7. Електронограма апікальної частини ентероцита курчат контрольної (ІУ) групи. Зб.15000**

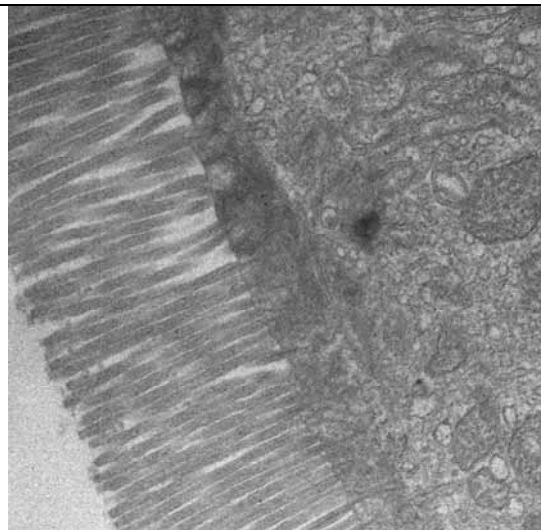


**Рис. 8. Електронограма апікальної частини ентероцита курчат І групи. Мікрворсинки видовжені, щільно прилягають одна до одної. Зб.15000**

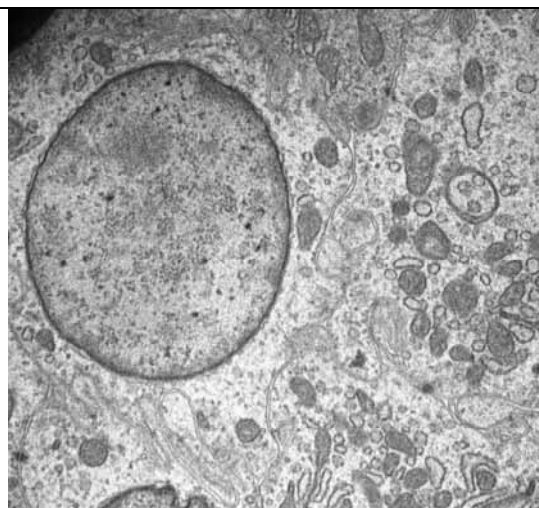
Всередині мікрворсинок помітні волоконця, які переплітались з поперечно орієнтованою фібрилярною сіткою на верхівці самої клітини. Відомо, що на мікрворсинках адсорбуються ферменти і поживні речовини, а збільшення їх довжини свідчить про активні процеси травлення і всмоктування. Крім того в цитоплазмі таких клітин мітохондрії набували округлої форми, з широко розставленими кристами, що вказувало на посилений енергетичний обмін в клітині (рис. 9, рис. 10). Мембрани гранулярної ендоплазматичної сітки розширені, кількість рибосом на їх поверхні порівняно з контрольною групою зростала. Разом з тим відзначали розширення цистерн апарату Гольджі та збільшення кількості лізосом і пероксисом. Ядра, переважно неправильної форми, з хвилястим рельєфом каріолеми, що забезпечувало збільшення робочої поверхні і контакту ядра з цитоплазмою, а це сприяло посиленню ядерно-цитоплазматичного обміну. Ядерні пори розширені. Разом з тим, у каріоплазмі таких клітин помітне зростання вмісту гетерохроматину. Така ультраструктура ядра свідчила про високу функціональну діяльність клітин (рис. 12).



**Рис. 9. Електронограма мітохондрій ентероцита курчат II групи. Мітохондрії округлої форми, з широко розставленими кристами. Зб. 18000**



**Рис. 10. Електронограма мікроворсинок і мітохондрій ентероцита курчат I групи. Зб.18000**



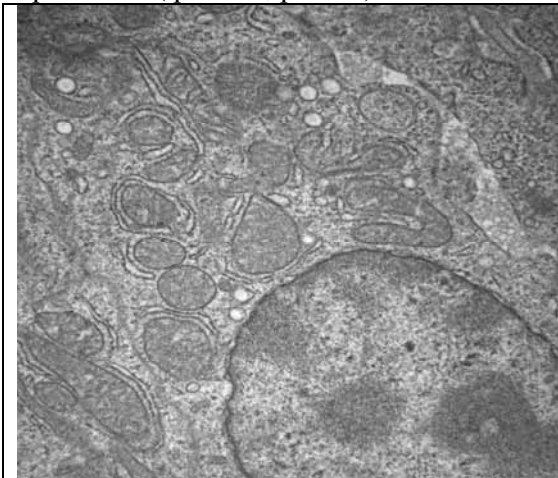
**Рис. 11. Електронограма ядра і мітохондрій ентероцита курчат контрольної групи. Зб.12000**



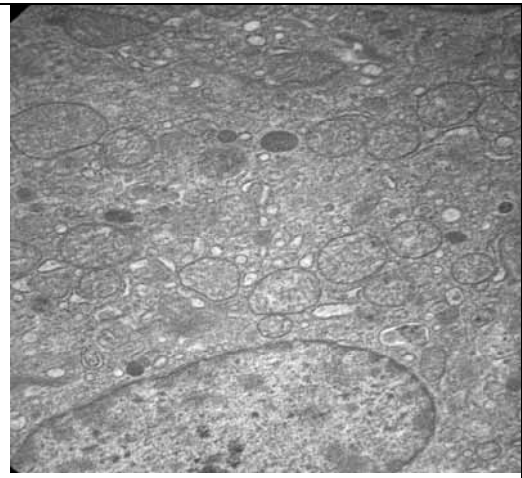
**Рис. 12. Електронограма ядра і мітохондрій ентероцита курчат I групи. Зб.12000**

Слід зазначити, що у курчат II групи, яким задавали з кормом 0,5 мг/кг корму пробіотика «Probiop», у цитоплазмі ентероцитів ворсинок у розширених структурах ретикулула зростає вміст різної величини ліпідних крапель, а у

курчат та III групи, крім цього нагромаджувались різної величини пероксисом. Відзначали гіпертрофію апарату Гольджі. Мітохондрії у курчат II групи гіпертрофовані, округлі, з більш щільним розміщенням крист, а в курчат III групи мітохондрії дещо просвітлені, що зумовлено широким просвітом між кристами (рис. 13, рис 14).



**Рис.13. Електроннограма ядра ентероцита курчат II групи. Гіперплія та гіпертрофія мітохондрій. Зростання вмісту гетерохроматину в ядрі. Зб. 16000**

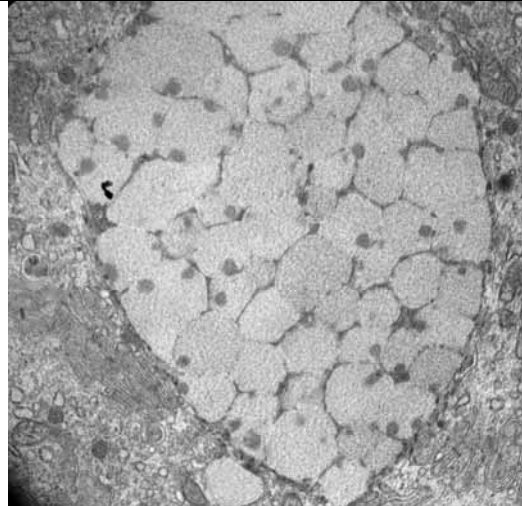


**Рис.14. Електроннограма ядра і мітохондрій ентероцита курчат III групи. Зб. 16000**

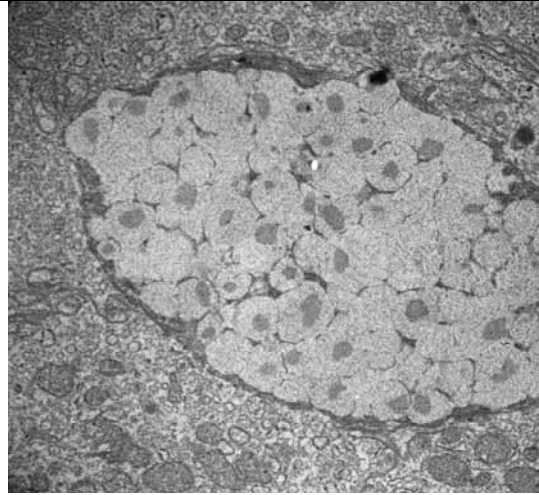
Виявлені ультраструктурні відмінності в структурі органодів та ядра ентероцитів 12-палої кишки курчат I, II, III груп свідчать про активні гіперпластичні та гіпертрофічні процеси, які найкраще виражені у клітинах курчат I і II груп, що й відобразилось на покращенні обмінних процесів.

Поряд з циліндричними клітинами розміщувались келиховидні клітини з мерокриновим типом секреції. Секретуючі клітини дуже різноманітні за розмірами та кількістю утворюваного секрету. Апікальна частина клітин вкрита мікроворсинками. За рахунок збільшення мікроворсинок поверхня клітин курчат I і II груп, порівняно з контрольною групою, дещо розширена. Овальної форми келихоподібні клітини з добре розвиненим апаратом Гольджі. Ламінарні структури апарату Гольджі сильно розтягнуті. У розширених каналах апарату Гольджі відбувається формування секрету, який проглядається у вигляді окремих секреторних гранул, оточених мембраною (рис. 15). Профіль гранулярного ендоплазматичного ретикулума контактує з мембраною комплексу Гольджі. В ендоплазматичному ретикулумі виробляється муцин і концентрується в пластинчатому комплексі. По мірі нагромадження секрету, зрілі секреторні гранули розміщувались в апікальній частині келихоподібної клітини і виділялись у просвіт кишечника. Ядра розташовані в базальній

ділянці цитоплазми. Хроматин в каріоплазмі дифузно розпорошений, а значна частина концентрується біля каріолеми. У курчат I, II і III груп відзначали зростання кількості осміофільних, структурованих мітохондрій, які переважно контактували з мембранами гранулярного ендоплазматичного ретикулума (рис. 16). При цьому елементи апарату Гольджі з іншими ультраструктурами відтіснялись в базальну частину клітини.



**Рис. 15. Електроннограма келиховидної клітини курчат контрольної групи. Зб. 12000**



**Рис.16. Електроннограма келиховидної клітини курчат I групи. З. 12000**

**Висновок.** Застосування пробіотиків «ProBion» та «Bio» в різних дозах сприяє збільшенню вмісту лімфоцитів, плазматичних клітин, макрофагів, тучних клітин у власній пластинці слизової оболонки і гіперплазії, гіпертрофії ультраструктур ентероцитів та зростанню їх білоксинтезуючої функції. Активні гіперпластичні та гіпертрофічні процеси найкраще виражені у ентероцитах курчат I і II груп, що й відобразилось на покращенні обмінних процесів.

#### Література

1. Успенський В.М. Функциональная морфология слизистой оболочки желудка.-Л.:Наука-1986г.-291с.
2. Бажанов А.Н.Свойства и особенности пищеварительного эпителия. Алма-Ата «Наука»КазССР 1978г.-200с.
3. Балух Н. Корми з пробіотиками для бройлерів //Тваринництво України.- 2010р.-№6- С.40-42.
4. Темираев Р., Гаппоева., Гагкоева Н. Пробиотики и фирменные препараты в рационах цыплят //Птицеводство.-2009.-№4.-С.20-22.
5. Меркулов Г.А., Курс патогистологической техники. – Л.: Изд. мед. литературы, 1961. – 339с.



6. Зуфавров К.А., Шишова Е.К., Татходжаев П.И. Атлас. Электронная микроскопия органов пищеварительной системы. Медицина.УзССР. Ташкент-1969г.-118с.

7. Уикли Б. Электронная микроскопия для начинающих.-М.: Мир, 1975.-324с.

8. Коцюмбас Г.І., Костинюк А.К., Щербатовська О.М. Гістологічні та морфометричні показники 12-ти палії кишки курчат-бройлерів за впливу пробіотиків, застосованих у різних дозах. Науковий вісник ЛНУВМБТ імені С.З.Гжицького. Том 14 №2 (52). Частина 2, 2012р.

#### Summary

**Kotsiumbas G.I., Kostynjuk A.K.**

*Lviv national university of veterinary medicine and biotechnologies named after S.Z.Grhytskyi.*

#### **HISTOCHEMICAL AND ULTRASTRUCTURAL CHARACTERISTICS OF DUODENUM IN CHICKENS-BROILERS UNDER THE INFLUENCE OF PROBIOTICS IN DIFFERENT DOSES**

*This work deals with the ribonucleic acids (RNA) and ultrastructural characteristic of duodenum cells in chickens – broilers under the influence of probiotics in different doses.*

*It was set up, that using the probiotics “Probion” and “Bio” in different doses, favour the increase of lymphocytes, plastic cells, macrophages, fertile cells in own plate of mucous and hyperplasia, hypertrophy of enterocytes ultrastructure content and the increase of their albumin synthesis functions.*

Рецензент – д.вет.н., професор Урбанович П.П.