

*Коцюмбас Г.І., доктор ветеринарних наук,
Зайцев О.О., старший науковий співробітник
лабораторії електронної мікроскопії,
Костинюк А.К., аспірантка*

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

ГІСТОЛОГІЧНА ТА УЛЬТРАСТРУКТУРНА ХАРАКТЕРИСТИКА ПЕЧІНКИ КУРЧАТ-БРОЙЛЕРІВ ПРИ ЗАСТОСУВАННІ ПРОБІОТИКІВ

Рецензент – кандидат ветеринарних наук А.М. Тибінка

У статті представлені результати гістологічних та ультраструктурних досліджень печінки курчат-бройлерів за впливу різних доз пробіотиків. Визначено структурно-функціональний стан органу і встановлено, що застосування пробіотика «ProBion» в дозі 1,0 мг/кг корму найбільше сприяє зростанню енергепродуючій та білоксинтезувальній функції печінки і кращому засвоєнню поживних речовин організмом курчат – бройлерів.

Ключові слова: пробіотичні препарати, кури-бройлери, печінка, гепатоцити, ультраструктура, гістологія.

Постановка проблеми. Морфологічне вивчення печінки у курчат – бройлерів за впливу різних доз про біотичних препаратів.

Аналіз останніх досліджень і публікацій, у яких запропоновано розв’язання проблеми. Останніми роками у птахівництві частіше стали застосовувати при відгодівлі птиці біологічні препарати, що містять стабілізовані культури симбіотичних мікроорганізмів. Різні іноземні та вітчизняні фірми мають зареєстровані і пропонують виробникам українського ринку широкий асортимент пробіотиків на основі молочнокислих бактерій, які виділені із кишечнику і є домінуючими з перших днів життя. Сухі пробіотики отримують шляхом ліофільної сушки мікробної маси, де мікроорганізми знаходяться у глибокому анабіозі і довго зберігаються. Рідкі пробіотики мають короткий термін зберігання, проте перебувають у активному стані і здатні до розмноження [1-2].

Печінка є однією з найбільш важливіших залоз, яка забезпечує повноцінне існування і функціонування всього організму в цілому, тому вивчення гісто- та ультраструктурної будови за впливу різних доз пробіотика, дасть можливість визначити структурно-функціональний стан органу [3].

Метою і завданням досліджень, було вивчити вплив сухого пробіотика «ProBion» (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 гісто- та ультраструктуру печінки курчат-бройлерів

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 забивали, відбирали кров, проводили патологоанатомічний розтин і відбирали шматочки печінки, які фіксували в 10 % нейтральному формаліні, розчині Карнуа. Виготовляли гістологічні зрізи фарбували гематоксиліном та еозином, за методом Браше, а вміст ліпідів виявляли на заморожуючих зрізах, забарвлених Судан – III [4]. Для поглибленого вивчення структури печінки застосовували електронно-мікроскопічні дослідження. Для цього відбирали шматочки печінки, фіксували у 1,5 % розчині глютарового альдегіду в 0,2 молярному кокадилатному буфері (рН-7,2) – 2 години. Зразки промивали у двох порціях буфера і дофіксували в 1,5 % розчині тетраоксиду осмію (OsO₄). Після відмивання, дегідратації в зростаючих концентраціях етилового спирту, заключали в епоксидну смолу – Епон-812. Ультратонкі зрізи контрастували уранілацетатом і цитратом свинцю. Зразки переглядали і фотографували в електронному мікроскопі ПЕМ-100 [5].

Результати досліджень. Під час гістологічного дослідження печінки курчат-бройлерів I, II, III і IV груп відзначали, що гістоструктура часточок збережена. У радіальному напрямку від центральної вени часточки кільцепо-

дібно розміщувались печінкові трубки - балки. Останні формувались із 4-6 гепатоцитів, полігональної форми з дещо заокругленими краями і чітко оконтурованим ядром. Цитоплазма гепатоцитів печінки курчат I групи помірно забарвлена, II групи – інтенсивно вбирала фарбу, III – слабо базофільна, IV групи – неоднорідно забарвлена.

У печінці курчат бройлерів контрольної групи забарвлених за Браше відзначали помірну піронінофільність цитоплазми і ядерець (рис. 1).

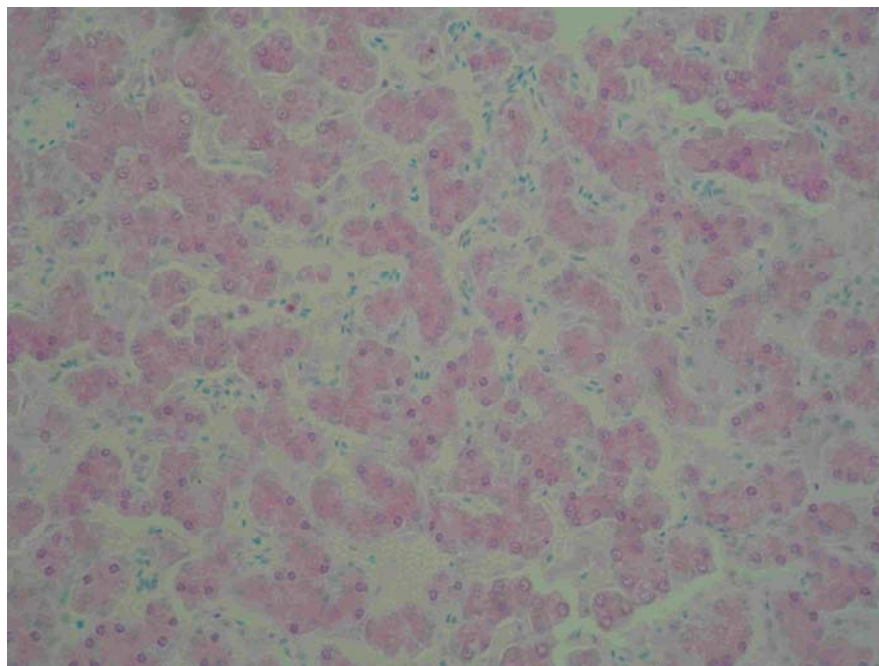
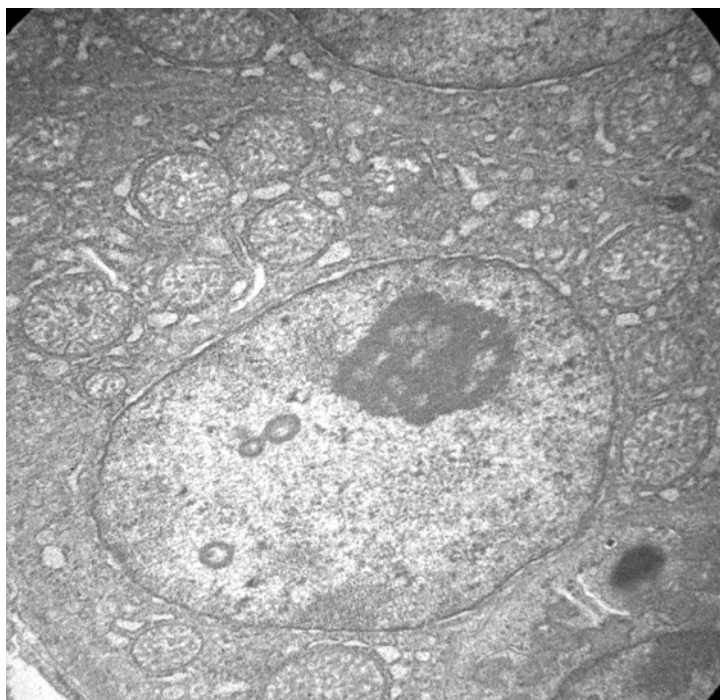


Рис.1. Помірна піронінофільність цитоплазми гепатоцитів курчат-бройлерів контрольної групи. Браше. Ок. 10, об. 100

На електроннограмах печінки курчат контрольної групи добре проглядаються ядра з чітко контурованою подвійною мембраною. Зовнішня мембрана утворювала невеличкі виступи і вирости, які входили в контакт з каналами ендоплазматичного ретикулума. Формування випячувань зовнішньої ядерної мембрани і відкриття пор сприяло збільшенню площі контакту її з цитоплазмою і розширенню зв'язків з мембранами ендоплазматичного ретикулума, мітохондріями і апаратом Гольджі. Мітохондрії, переважно округлої форми, з добре вираженою зовнішньою і внутрішньою мітохондріальною мембраною. Між кристами добре проглядається мітохондріальний простір. Ендоплазматичний ретикулум розширений, помірно вкритий рибосомами. Поодинокі пероксисоми виглядали як електроннощільні, округлі утворення,

оточені однією мембраною. Поодинокі виявляються дрібні, неправильної форми, осміфільні гранули глікогену (рис. 2).



***Рис. 2. Електронограма гепатоцита курчат контрольної групи.
Зб. 4000.***

У печінці курчат, I групи яким згодовували 1 мг/кг корму «ProBion», печінкові капіляри рівномірно заповнені ядерними еритроцитами. Серед них трапляються плазматичні клітини, які вирізняються крупним ядром піронінофільною облямівкою, одним ядерцем, та більш конденсованим хроматином, який розміщений ексцентрично у вигляді грудок по периферії ядра. Цитоплазма гепатоцитів інтенсивно заповнена піронінофільними гранулами. У ядрах виразно проглядалось 2-3 піронінофільних ядерця. Зростання вмісту РНК в цитоплазмі та ядерцях гепатоцитів вказувало на зростання білоксинтезувальної функції клітин (рис. 3).

Виявлені гістохімічні зміни корелювали з ультраструктурною перебудовою гепатоцитів. На електронограмах печінки курчат I групи, відзначали гіпертрофію ядер і зростання в них об'єму та кількості ядерця, Осміофільна речовина ядерця представлена у вигляді грубо переплетеної сітки. На внутрішній поверхні ядерної мембрани виділялись грудочки конденсованого і тоненькі ниточки деконденсованого хроматину. Число ядерних пор збільшувалось.

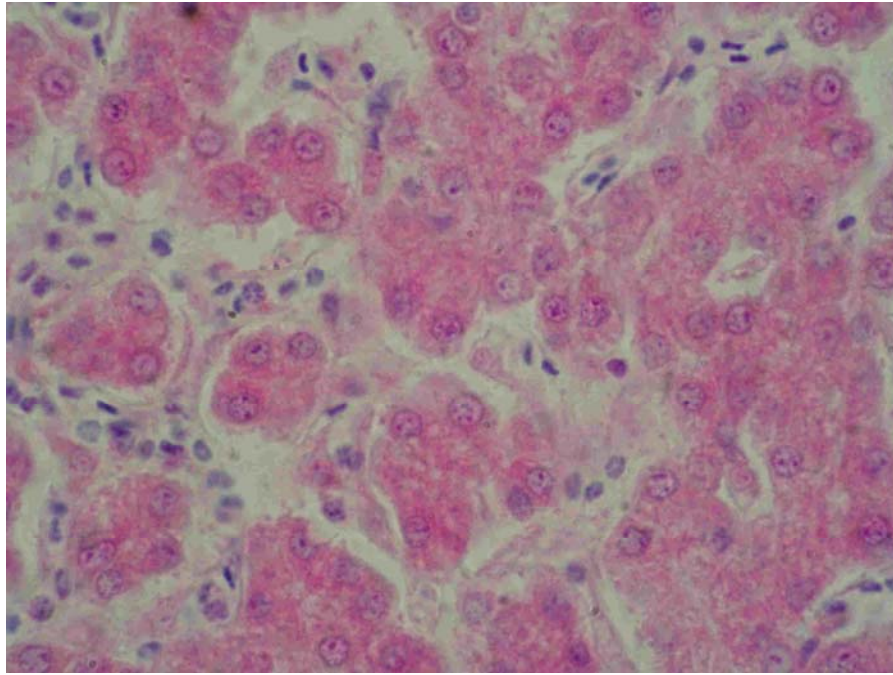


Рис. 3. Зростання вмісту РНК в цитоплазмі гепатоцитів курчат I групи. Браше. Ок.10,об.100.

Особливо високу активність відзначали в апараті енергетичного і протеїнового синтезу. Ендоплазматичний ретикулум, утворений витягнутими, місцями розширеними цистернами, густо всіяні рибосомами. Пластинчастий комплекс дещо гіпертрофований. Разом з тим помітним є зростання кількості осміофільних, різних за величиною і формою мітохондрій. Овальної і округлої форми імитохондрії мали щільно розміщені кристи. Крім того, в цитоплазмі клітин проглядались дифузно розпорошені гранули глікогену. Ультраструктурна перебудова гепатоцитів вказує на високу функціональну активність і посилений синтез нуклеїнових кислот і білка клітиною. (рис.4).

Отже, виявлена в печінці курчат I групи ультраструктурна перебудова відобразилась зростанням кількості рибосом на мембранах ендоплазматичного ретикулума, мітохондрій, гіпертрофією апарата Гольджі, що гістохімічно знаходило своє вираження у зростанні піронінофільності цитоплазми, ядра і характеризує високу білково-енергетичну функцію гепатоцитів.

У печінці курчат-бройлерів II групи, яким згодовували пробіотик «Pro-bion» в дозі 0,5 мг/кг корму, внутрішньо-долькові капіляри на відміну від контрольної групи вміщували дещо більше клітинних елементів лімфоїдного

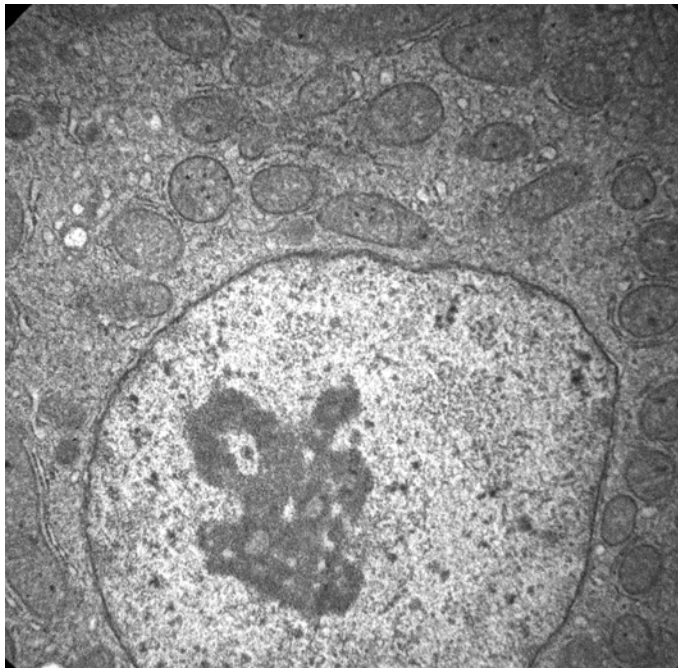


Рис. 4. Електронограма гепатоцита курчат I групи. Збільшення кількості мітохондрій. Зб. 4000.

ряду. Але менше ніж у курчат – бройлерів I групи. Просвіт трубочок звужений. Гепатоцити помірно набубнявілі, цитоплазма базофільна. На гістопрепаратах, забарвлених за Браше, відмічали піронінофільність клітин, інтенсивність якої дещо нижча ніж у гепатоцитах печінки курчат I групи, але вища ніж у курей контрольної групи. Ядра великі, округлої форми з чітко вираженим ядрцем (рис. 5).

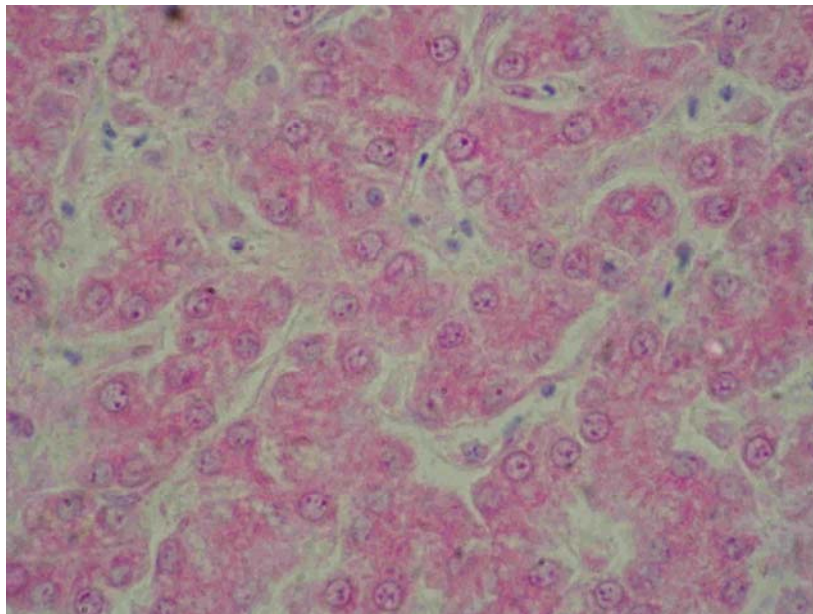


Рис.5. Піронінофільність цитоплазми гепатоцитів курчат II групи. Браше. Ок.10,об.100

При фарбуванні Судан – III, у цитоплазмі деяких гепатоцитів проглядались дрібнозернисті жовтуваті вкраплення, що вказувало на наявність ліпідних включень. При ультраструктурному дослідженні печінки курчат II групи мітохондрії переважно округлої форми з широким просвітом між кристами. Мембрани ендоплазматичного ретикулуму помірно вкриті рибосомами, а в цитоплазмі гепатоцита проглядається дифузно розміщені дрібні ліпідні краплі (рис. 6).

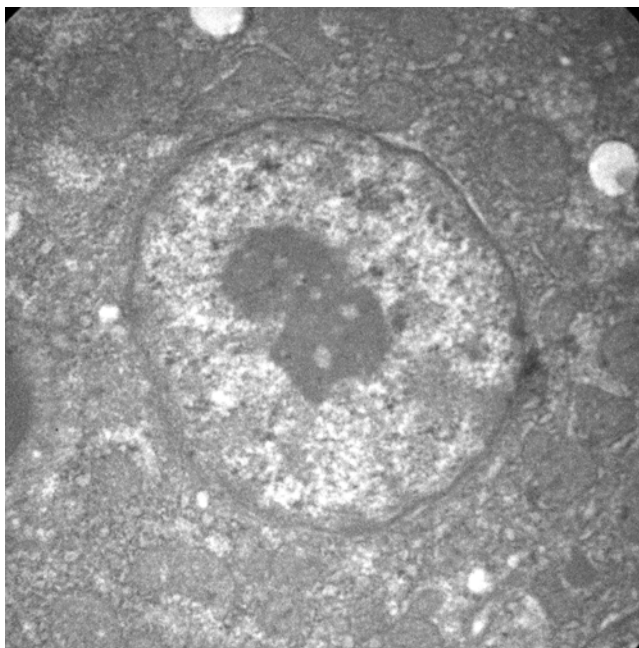
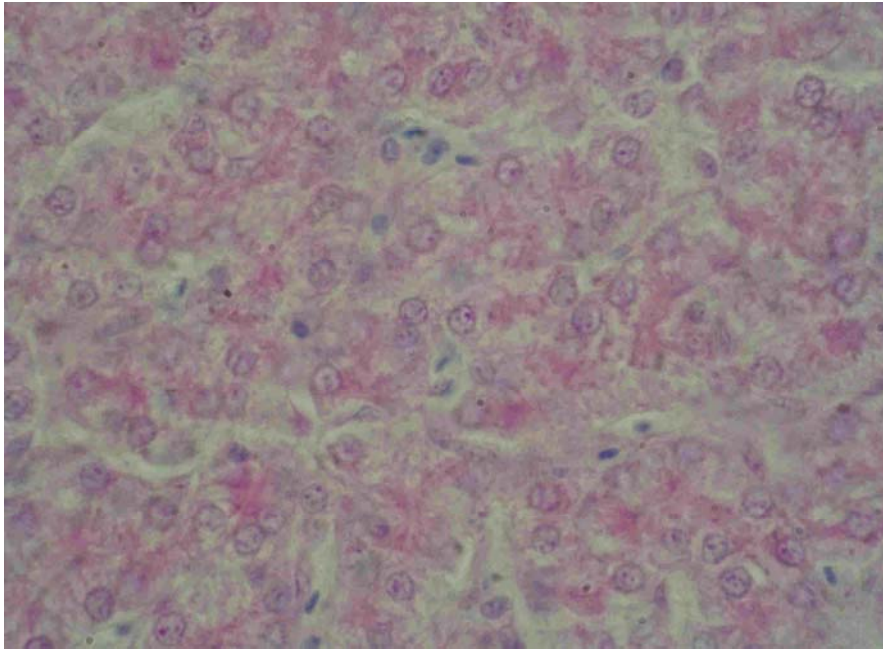


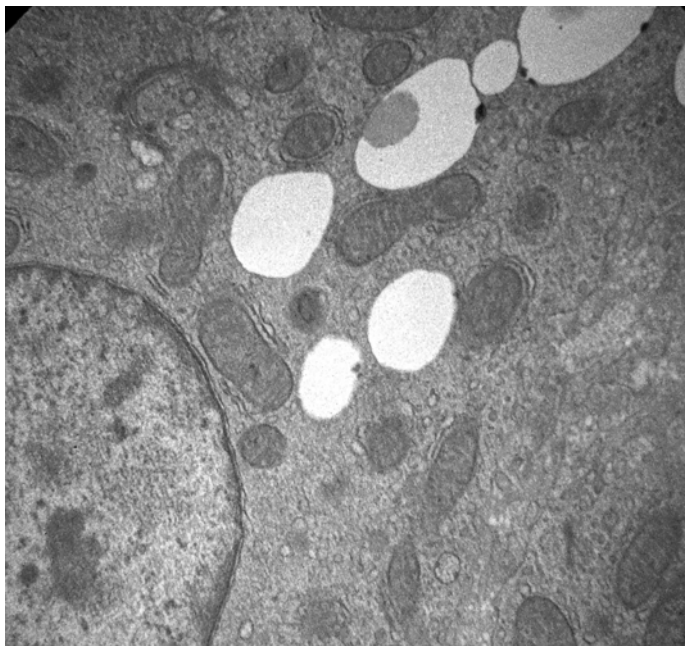
Рис.6. Електронограма гепатоцита курчат II групи. Поодинокі ліпідні краплі в цитоплазмі гепатоцита. Зб. 4000

При світлооптичному дослідженні гістопрепаратів печінки курчат – бройлерів III дослідної групи, яким згодовували пробіотик «Віо» у дозі 0,4 мг/кг корму, забарвлених гематоксилін-еозином, переважна більшість гепатоцитів набубнявілі з нерівномірно забарвленою цитоплазмою. На блідо-рожевому тлі цитоплазми добре проглядались дифузно розсіяні дрібні прозорі міхурці. Ядра гепатоцитів округлої форми, слабо забарвлені. Внутрішньо часточкові капіляри і просвіт трубочок звужений, а контури печінкових трубочок розмиті. На препаратах забарвлених Суданом – III виявили в цитоплазмі гепатоцитів жовті, дифузно розміщені дрібні вкраплення, що вказувало на присутність ліпідів. На препаратах, забарвлених за Браше в цитоплазмі клітин відзначали зниження вмісту РНК порівняно як з контрольною так із I та II групами (рис. 7).



**Рис. 7. Зниження вмісту РНК у цитоплазмі гепатоцитів курчат III групи.
Браше. Ок.10,об.100**

Результати гістохімічних реакцій корелювали з даними електронно-мікроскопічних досліджень. Ультрамiкроскопічно в печiнцi курчат-бройлерiв III групи виявляли рiзних розмiрiв, овально-округлої форми, дифузно розсiя-ні лiпiднi краплi. Мiтохондрiї осмiофiльнi з паралельно контурованими кри-стами. Цистерни мембран ендоплазматичного ретикулума розширенi. Вмiст рибосом у порiвняннi з I та II групами зменшений (рис.8).



**Рис. 8.Електронограма гепатоцита курчат III групи. Зростання вмісту
ліпідних крапель. Зб. 4000.**

Висновок. Застосовані методи досліджень дали можливість більш глибоко вивчити гістохімічну та субмікроскопічну перебудову клітин печінки і з'ясувати структурно-функціональний стан гепатоцитів у курчат-бройлерів різних дослідних груп, і визначити, що застосування пробіотика «Probiop» в дозі 1,0 мг/кг корму найбільше сприяє посиленню енергопродукуючої та білоксинтезувальної функції печінки і кращому засвоєнню поживних речовин організмом курчат – бройлерів.

БІБЛІОГРАФІЯ

1. Гужвінська С.О. Застосування пробіотиків у птахівництві //Птахівництво – Харків,2003.-Вип 53.-С.552-556.
2. Стегній Б.Т., Труськова Т.Ю. / Пробіотики в тваринництві: деякі аспекти конструювання і застосування //Матеріали Міжнар. науково-практ. конф. „Пробіотики – ХХІ століття. Біологія. Медицина. Практика.”
3. Морфологія сільськогосподарських тварин : Хомич В.Т.,Рудик С.К.,Левчук Б.В.,Криштофорова Б.В., Новак В.П., Костюк В.К.-К.,Вища освіта, 2003.-526с.
4. Микроскопическая технтехника : Руководство / Под ред. Д.С. Саркисова , Ю.Л. Перова.- М.: Медицина, 1996.-544с.
5. Кия Д. Техника электронной микроскопии : Пер. С англ. – М.: Мир, 1965.- 405с.

УДК 619:615.5:615-035:636

Лемішевський В. М. аспірант

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

ПРОБІОТИКИ В СУЧАСНІЙ ВЕТЕРИНАРНІЙ МЕДИЦИНІ

Рецензент – доктор ветеринарних наук Д.Ф.Гуфрій

В статті розглянуто основні аспекти застосування пробіотичних препаратів у ветеринарії. Практика застосування пробіотиків із різних штамів і видів представників ендогенної мікрофлори показала в цілому їх позитивний вплив на відновлення кишкового мікробіоценозу, збільшення загальної резистентності організму. Перспективи практичного використання пробіотиків у тваринництві пов'язані із корекцією дисбактеріозів, регулюванням мікробіологічних процесів у травному тракті, профілактикою і лікуванням захворювань шлунково-кишкового