

УДК 616.346:599.323.4

### **МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ СТЕНКИ КИШЕЧНИКА У МОРСКИХ СВИНОК, ПОЛУЧАВШИХ МИКРОКАПСУЛИРОВАННЫЙ ПРОБИОТИК**

СЕИН О.Б.,

доктор биологических наук, профессор, профессор кафедры хирургии и терапии,  
ФГБОУ ВО Курская ГСХА, тел. 53-35-25.

КЕРИМОВ К.Б.,

аспирант кафедры хирургии и терапии, ФГБОУ ВО Курская ГСХА.

**Реферат.** Описываются результаты гистологических исследований стенки кишечника у морских свинок, получавших с рационом пробиотик Ветом 1, который был микрокапсулирован по разработанному авторами способу (патент РФ №2781792. -2022г.). Контролем являлись свинки-аналоги, которые препарат не получали. В ходе проведённых исследований было установлено, что после ежедневного скармливания микрокапсулированного пробиотика в течение 14 дней у подопытных животных отмечались характерные изменения в структурах тонкого и толстого отделов кишечника. В частности у свинок опытной группы в двенадцатипёрстной кишке регистрировалось увеличение диаметра кишечных желез. В тощей кишке ворсинки слизистой были утолщенными у основания и более длинными по сравнению с контролем. Толщина собственной слизистой оболочки подвздошной кишки у свинок, получавших микрокапсулированный Ветом 1, значительно превышала ( $685,0 \pm 84,6$  мкм) таковую у животных, которые препарат не получали ( $584,5 \pm 93,4$  мкм). Аналогичные изменения были выявлены и в слизистой слепой кишки, толщина которой в среднем на 44,5 мкм была больше по сравнению с контролем. Слизистая оболочка ободочной кишки у морских свинок опытной группы характеризовалась более выраженной складчатостью и наличием глубоких крипт по сравнению с контрольными животными. При измерении оболочек прямой кишки морфометрические показатели в опыте и контроле существенных различий не имели. Полученные результаты свидетельствуют о положительном влиянии микрокапсулированного пробиотика Ветом 1 на морфологические структуры стенки кишечника подопытных животных.

**Ключевые слова:** морфометрические показатели, стенка кишечника, морские свинки, пробиотик Ветом 1, слизистая оболочка, структура оболочек кишечника, гистопрепараты.

### **MORPHOMETRIC PARAMETERS OF THE INTESTINE WALL IN GUINEA PIGS, WHO RECEIVED MICROCAPSULATED PROBIOTIC**

SEIN O.B.,

Doctor of Biological Sciences, Professor, Professor of the Department of Surgery and Therapy, Kursk State Agricultural Academy, tel. 53-35-25.

KERIMOV K.B.,

postgraduate student of the Department of Surgery and Therapy, Kursk State Agricultural Academy.

**Essay.** The results of histological studies of the intestinal wall in guinea pigs fed with the diet of the probiotic Vetom 1, which was microencapsulated according to the method developed by the authors (RF patent No. 2781792. -2022), are described. The controls were guinea pigs that did not receive the drug. In the course of the studies, it was found that after daily feeding of the microencapsulated probiotic for 14 days, the experimental animals showed characteristic changes in the structures of the small and large intestines. In particular, in the pigs of the experimental group, an increase in the diameter of the intestinal glands was recorded in the duodenum. In the jejunum, the mucosal villi were thickened at the base and longer than in the control. The thickness of the proper mucous membrane of the ileum in pigs treated with microencapsulated Vetom 1 significantly exceeded ( $685.0 \pm 84.6$   $\mu$ m) the current thickness in animals that did not receive the drug ( $584.5 \pm 93.4$   $\mu$ m). Similar changes were also found in the caecal mucosa, the thickness of which was 44.5  $\mu$ m on average greater than in the control. The mucous membrane of the colon in the guinea pigs of the experimental group was characterized by more pronounced folding and the presence of deep crypts compared to control animals. When measuring the membranes of the rectum, morphometric parameters in the experiment and control had no significant differences. The results obtained indicate a positive effect of the microencapsulated probiotic Vetom 1 on the morphological structures of the intestinal wall of experimental animals.

**Keywords:** morphometric parameters, intestinal wall, guinea pigs, probiotic Vetom 1, mucous membrane, structure of intestinal membranes, histopreparations.

**Введение.** Пробиотики являются полезными для животных и человека микроорганизмами, которые обладают антагонистической активностью в отношении патогенной и условно патогенной микрофлоры. При регулярном поступлении с рационом пробиотики обеспечивают восстановление нормальной микрофлоры и функциональную активность органов пищеварения.

Применяют пробиотики в животноводстве и ветеринарии с целью устранения дефицита нормофлоры кишечника, а также поддержания её физиологического равновесия. Заселяя желудочно-кишечный тракт пробиотические бактерии прежде всего поддерживают микробиоту кишечника, предотвращают размножение патогенных агентов путём изменения кислотности среды, выработки бактериоцинов, а также лишения конкурирующих микроорганизмов мест адгезии в слизистой оболочке [1-3].

Пробиотические бактерии способны оказывать прямое или косвенное влияние на иммунную систему кишечника. В частности они могут усиливать местный иммунитет посредством действия на клеточные рецепторы или путём активации лимфоидных клеток [4-6].

Эффективность пробиотиков тесно связана с их способностью выживать в желудочно-кишечном тракте. На жизнеспособность пробиотических бактерий оказывают влияние многие факторы: температура и кислотность среды, содержание слизи в кишечнике, уровень секретного иммуноглобулина и антимикробных пептидов. В этой связи не все виды пробиотических бактерий способны адаптироваться в желудочно-кишечном тракте [7].

Экспериментально подтверждено, что большая часть пробиотиков поступающих в организм животных с кормом погибает в желудке под действием соляной кислоты. Учитывая данный факт многие разработчики и производители заведомо рекомендуют завышенные дозировки препаратов, что не всегда оправдано как с терапевтической, так и экономической точки зрения. В то же время это можно избежать, если пробиотик подвергнуть микрокапсулированию, то есть создать микроконтейнер устойчивый к соляной кислоте желудка внутри которого будет содержаться пробиотический препарат.

В настоящее время в источниках литературы имеются сведения о микрокапсулировании и нанокапсулировании пробиотиков. Представлены различные методы капсулирования с использованием в качестве оболочки различных веществ, преимущественно это высокомолекулярные соединения как натуральной, так и синтетической природы [8-11]. Приводятся результаты экспериментальных исследований по изучению влияния

микрокапсулированных пробиотиков на физиолого-биохимический статус и продуктивность сельскохозяйственных животных [12-13].

В то же время в доступных источниках литературы мы не обнаружили сведений о влиянии микрокапсулированных пробиотиков на морфологическую структуру желудочно-кишечного тракта у животных. Исходя из указанного выше целью настоящей работы являлось изучение гистологических особенностей у морских свинок при включении в рацион микрокапсулированного пробиотического препарата.

**Материал и методика исследований.** Объектом исследований являлись морские половозрелые свинки из которых было сформировано две группы по 7 голов в каждой. Эксперименты на отобранных животных проводили в соответствии с требованиями Директивы Европейского Совета по соблюдению этических принципов в работе с лабораторными животными (The European Council Directive 86/609/EEC и Директивой 2010/63/EV Европейского парламента и Совета Европейского Союза). Гистологические исследования проводили на базе клинической больницы МЕДСИ г. Отрадное, Московская область.

Свинки 1 контрольной группы получали основной рацион включающий зерновую смесь и овощи согласно существующим нормам. Свинки 2 опытной группы дополнительно с основным рационом получали пробиотик Ветом 1, который был микрокапсулирован по разработанному способу в авторской интерпретации (Патент РФ №2781792.-2022 г., авт. Сеин О.Б. и др.). Скармливали микрокапсулированный пробиотик индивидуально с хлебным мякишем в дозе 20 мг/гол ежедневно в течение 14 дней.

Используемый в эксперименте пробиотик Ветом 1 является препаратом ветеринарного назначения, который включает живые спорообразующие бактерии *Bacillus subtilis* штамм DSM 32424 (Производитель ООО НПФ «Исследовательский центр», Россия»).

Материалом исследований являлся кишечник, который получали у морских свинок после убоя с учётом необходимых правил и требований

После вскрытия брюшной полости и извлечения кишечника его осматривали, затем из средней части каждого отдела вырезали участки. Полученный материал помещали в фиксирующий раствор (10%-ный нейтральный формалин, жидкость Карнуа).

После обезвоживания в спиртах возрастающей концентрации отобранный материал заливали в парафин, готовили парафиновые блоки и гистосрезы на санном микротоме. Окраску препаратов производили гематоксилин-эозином и альдегидфуксином (Д.С. Саркисов и др., 1996) [14]. Для

#### 4.2.1. ПАТОЛОГИЯ ЖИВОТНЫХ, МОРФОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ, ФАРМАКОЛОГИЯ И ТОКСИКОЛОГИЯ (биологические науки)

измерений морфологических структур кишечной стенки применяли микроскоп XSP -107E, окуляр-микрометр и цифровую фотокамеру.

Полученные в ходе проведения исследований данные подвергались биометрической обработке на ПЭВМ с использованием прикладных программ.

**Результаты исследований.** Наблюдения за подопытными животными показали, что в период эксперимента они были активными, имели хороший аппетит, поведенческие реакции были адекватными.

При визуальном обследовании извлечённого из брюшной полости кишечника патологические изменения у животных как контрольной, так и опытной групп не отмечались.

При обзорном исследовании гистоматериала полученного из стенки двенадцатипёрстной кишки хорошо просматривалась её структура (рисунок 1; а). Стенка кишки представлена слизистой, мышечной и серозной оболочками. При этом слизистая оболочка включает три слоя: эпителиальный, собственную пластинку и мышечную пластинку. Собственная пластинка имеет выросты и углубления. Кишечные ворсинки длинные, между ними расположены кишечные крипты, проникающие в мышечную пластинку. Эпителий ворсинок и крипт представлен бокаловидными и всасывающими клетками. Вторые имеют микроворсинки, которые направлены в просвет кишки. Подслизистый слой включает бrunnerовы железы, которые вырабатывают слизь. Просветы этих желез открываются в кишечных криптах. На дне крипт выявляется большое количество клеток Панета. Мышечная оболочка состоит из гладких мышечных клеток, которые представлены в виде пучков, расположенных в два слоя. Между слоями мышц располагаются прослойки рыхлой соединительной

ткани. Серозная оболочка представлена волокнами соединительной ткани и включает большое количество эластических волокон.

Достоверных различий в гистоструктуре двенадцатипёрстной кишки у контрольных и опытных животных выявлено не было, за исключением увеличения диаметра кишечных желез у свинков получавших микрокапсулированный пробиотик.

Слизистая оболочка тощей кишки имеет многочисленные кишечные ворсинки, которые плотно покрывают её поверхность (рисунок 1; б). При этом высота и плотность ворсинок варьируют в широких границах. Ворсинки покрыты цилиндрическими эпителием с включением бокаловидных клеток выделяющих слизь.

Количество и плотность ворсинок в тощей кишке связаны с её функциональной активностью, которая направлена на всасывание питательных веществ, поступающих и образующихся в кишечнике. Мышечная оболочка представлена двумя слоями: наружным – продольным и внутренним-циркулярным. Серозная оболочка, являясь наружной оболочкой, охватывает тощую кишку со всех сторон.

У морских свинок, которым скармливали микрокапсулированный Ветом 1, ворсинки в слизистой тощей кишки были утолщённые у основания и более длинные по сравнению с контрольными животными. При этом толщина мышечной оболочки (таблица 1) у свинок опытной группы ( $136,0 \pm 25,8$  мкм) была близкой к таковой у контрольных животных ( $129,5 \pm 19,4$  мкм). Толщина подслизистой основы у опытных животных составляла  $40,6 \pm 8,7$  мкм, что было больше на 12,2 мкм, чем в контроле. Собственная пластинка у опытных животных ( $398,5 \pm 68,3$  мкм) также превышала толщину пластинки у контрольных свинок ( $324,0 \pm 63,0$  мкм).

Таблица 1 - Морфометрические показатели стенки кишечника у морских свинок, получавших микрокапсулированный пробиотик Ветом 1

| Собственная слизистая оболочка, мкм |                  | Подслизистая основа, мкм |                  | Мышечная оболочка, мкм |                  |
|-------------------------------------|------------------|--------------------------|------------------|------------------------|------------------|
| контрольная группа                  | опытная группа   | контрольная группа       | опытная группа   | контрольная группа     | опытная группа   |
| Двенадцатипёрстная кишка            |                  |                          |                  |                        |                  |
| $420,5 \pm 58,8$                    | $446,0 \pm 85,1$ | $77,5 \pm 12,5$          | $81,8 \pm 19,7$  | $275,0 \pm 28,0$       | $294,5 \pm 34,6$ |
| Тощая кишка                         |                  |                          |                  |                        |                  |
| $324,0 \pm 63,0$                    | $398,5 \pm 68,3$ | $28,4 \pm 9,9$           | $40,6 \pm 8,7$   | $129,5 \pm 19,4$       | $136,0 \pm 25,8$ |
| Подвздошная кишка                   |                  |                          |                  |                        |                  |
| $584,5 \pm 93,4$                    | $685,5 \pm 84,6$ | $71,3 \pm 15,9$          | $84,0 \pm 17,8$  | $135,5 \pm 14,7$       | $141,0 \pm 21,1$ |
| Слепая кишка                        |                  |                          |                  |                        |                  |
| $115,0 \pm 36,4$                    | $159,5 \pm 46,6$ | $95,5 \pm 28,3$          | $110,5 \pm 31,0$ | $54,7 \pm 8,6$         | $63,0 \pm 10,5$  |
| Ободочная кишка                     |                  |                          |                  |                        |                  |
| $233,5 \pm 51,4$                    | $267,0 \pm 49,3$ | $275,0 \pm 29,5$         | $318,5 \pm 35,4$ | $318,5 \pm 34,2$       | $357,0 \pm 46,8$ |
| Прямая кишка                        |                  |                          |                  |                        |                  |
| $135,0 \pm 20,4$                    | $141,5 \pm 35,8$ | $168,5 \pm 19,9$         | $184,0 \pm 22,0$ | $358,5 \pm 29,0$       | $384,5 \pm 30,7$ |

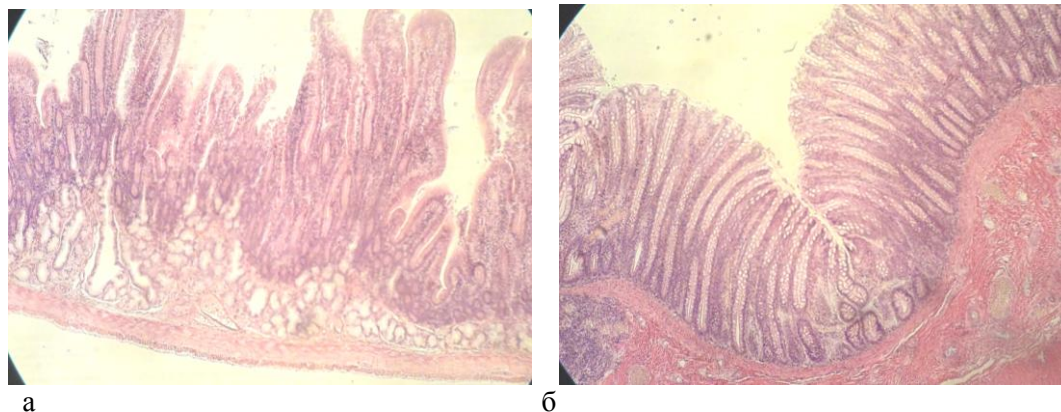


Рисунок 1 - Гистоструктура двенадцатиперстной кишки (а) и тощей кишки (б) у морской свинки опытной группы, ув. 8×15

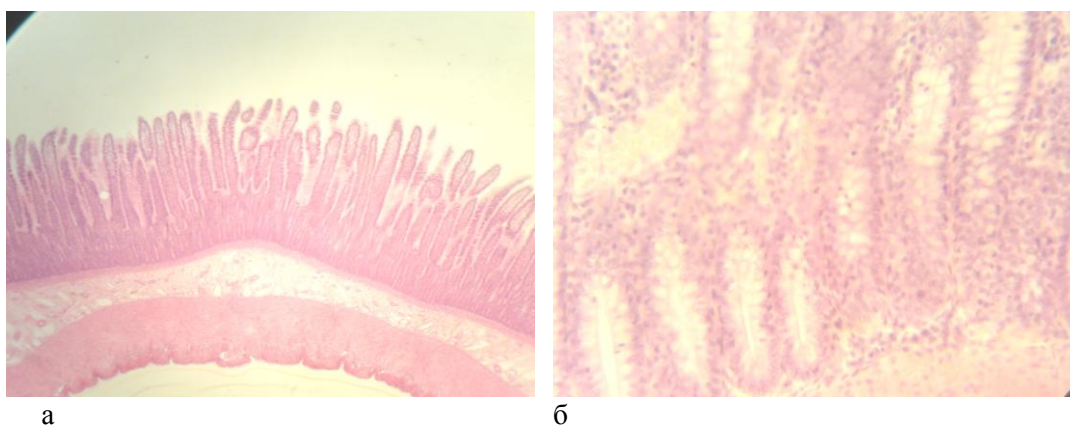


Рисунок 2 - Гистоструктура подвздошной кишки у морской свинки опытной группы: а - ув. 8×15; б - ув. 10×15

Подвздошная кишка завершает тонкий отдел кишечника, её гистологическая структура характеризуется складчатым рельефом, который менее выраженный по сравнению со слизистой тощей кишки (рисунок 2). На дне крипт выявляются скопления клеток Панета. В то же время в слизистой оболочке подвздошной кишки наличие крипт по сравнению тощей кишкой было явно меньше. С использованием морфометрических исследований установлено, что у свинok получавших микрокапсулированный пробиотик Ветом 1 и контрольных животных существенных различий в толщине мышечной оболочке ( $135,5 \pm 14,7$  мкм) и подслизистой основы ( $71,3 \pm 15,9$  мкм) по сравнению с животными опытной группы ( $141,0 \pm 21,1$  мкм;  $84,0 \pm 17,8$  мкм) выявлено не было. Что касается собственной слизистой оболочки, то в этом случае у свинok опытной группы толщина данной оболочки ( $685,0 \pm 84,6$  мкм) значительно превышала таковую у контрольных животных ( $584,5 \pm 93,4$  мкм).

Исследование гистологической структуры стенки слепой кишки позволило выявить хорошо представленные слизистую и мышечную оболочки, между которыми располагалась тонкая рыхлая волокнистая соединительная прослойка (подслизистая основа). На гистологических препаратах

просматривалось большое количество продольных, косых и поперечных срезов кишечных крипт, которые разделены между собой тонкими прослойками рыхлой волокнистой соединительной ткани. В донных отделах кишечных крипт встречаются клетки Панета, которые как известно вырабатывают лизоцим, относящийся к факторам неспецифического иммунитета. В небольшом количестве в гистопрепаратах стенки слепой кишки выявляются пейеровы бляшки. Различия в толщине мышечной оболочки стенки слепой кишки у животных опытной ( $63,0 \pm 10,5$  мкм) и контрольной группы ( $54,7 \pm 8,6$  мкм) были несущественным. Аналогичная тенденция отмечалась и в толщине подслизистого слоя ( $110,5 \pm 31,0$  мкм;  $95,5 \pm 28,3$  мкм). Однако толщина собственной слизистой оболочки слепой кишки у свинok опытной группы ( $159,5 \pm 46,6$  мкм) была больше по сравнению с контролем ( $115,0 \pm 36,4$  мкм).

Слизистая оболочка прямой кишки выстлана однослойным призматическим эпителием, формирующим крипты. Собственная пластинка образует складки, включает кровяные лакуны. Подслизистая основа образована рыхлой волокнистой соединительной тканью, в толщине которой располагаются нервные и сосудистые образования. Мышечная оболочка включает внутренний цирку-

лярный слой и продольный внешний слой. Сверху прямая кишка покрыта серозной оболочкой.

**Заключение.** Проведённые исследования показали, что микрокапсулированный пробиотик Ветом 1 не оказывает отрицательного влияния на организм подопытных животных. Отличительной особенностью микрокапсулированного препарата является то, что микрокапсулы предохраняют пробиотические бактерии от разрушения в кислой среде желудка. В то же время после освобождения от микрооболочки, под действием щелочной среды кишечника, пробиотические бактерии быстро распространяются по всему кишечному тракту,

продуцируют биологически-активные метаболиты оказывающие положительное влияние на обменные процессы как на местном, так и на общем уровне, угнетают рост патогенной микрофлоры, стимулируют местные неспецифические факторы защиты. Выявленные изменения в гистологической структуре кишечника животных опытной группы свидетельствуют о повышении его функциональной активности. Продолжение клинических исследований в данном направлении могут стать основанием для расширения показаний к применению микрокапсулированных пробиотиков в животноводстве и ветеринарной медицине.

#### **Список использованных источников**

1. Бондаренко В.М. Поликомпонентные пробиотики: механизм действия и терапевтический эффект при дисбиозах кишечника // Фарматека. – 2005. - № 20. – С.46-54.
2. Малик Н.И., Панин Н., Вершинина И.Ю. Пробиотики: теоретические и практические аспекты // Ветеринария сельскохозяйственных животных. - 2006. - № 6. – С.48-50.
3. Данилевская Н.В. Фармакологические аспекты применения пробиотиков в ветеринарии // Ветеринария сельскохозяйственных животных. - 2011. - № 10. – С.8-14.
4. Панин А.Н., Малик Н.И., Илаев О.С. Пробиотики в животноводстве – состояние и перспективы // Ветеринария. - 2012. - № 3. – С.3-8.
5. Тараканов Б.В. Механизм действия пробиотиков на микрофлору пищеварительного тракта организма животных // Ветеринария. -2000. - № 1. – С.14-54.
6. Fox S.M. Probiotics: Intestinal inoculans for production animals // Veter. Med. (Edwardsville). - 1988. – V.83. – P. 806-810.
7. Fuller R., Gibson G. Probiotics and prebiotics: microflora management for improved gut health // Clin. Microbiol. And Infect. – 1998. - V.4. - 477-480.
8. Патент РФ №2781792. -2022 г. Способ получения микрокапсул пробиотика Ветом 1. Авт. Сеин О.Б., Сеин Д.О., Керимов К.Б., Локтионова Е.А.
9. Патент РФ №2545742. - 2015 г. Способ инкапсуляции лактобифадола Авт. Кролевец А.А., Богачёв И.А.
10. Патент РФ №2780885. -2022 г. Способ получения микрокапсулированного энзимспорина. Авт. Сеин О.Б., Сеин Д.О., Керимов К.Б.
11. Кролевец А.А., Тырсин Ю.А., Быковская Е.Е. Применение нано – и микрокапсулирования в фармацевтике и пищевой промышленности. Часть 2. – Характеристика инкапсулирования // Вестник РАЕН. – 2013. - № 1. – Т.13. – С.77-84.
12. Челноков В.А. Физиологический статус молодняка крупного рогатого скота после применения микрокапсулированного препарата, включающего пробиотик и селен: дис. ... канд. биол. наук. - Курск, 2013. – 19 с.
13. Чернов В.А. Влияние микрокапсулированного препарата, включающего пробиотик и селен, на физиологический статус и формирование половой функции у свиней: канд. биол. наук. - Курск, 2015. -19 с.
14. Саркисов Д.С., Перова Ю.Л. Микроскопическая техника. Руководство для врачей и лаборантов. - М.: Медицина, 1996. – 544 с.

#### **Spisok ispol`zovanny`x istochnikov**

1. Bondarenko V.M. Polikomponentny`e probiotiki: mexanizm dejstviya i terapevticheskij e`ffekt pri disbiozax kishechnika // Farmateka. – 2005. - № 20. – S.46-54.
2. Malik N.I., Panin N., Verшинina I.Yu. Probiotiki: teoreticheskie i prakticheskie aspekty` // Veterinariya sel'skoxozyajstvenny`x zhivotny`x. - 2006. - №6. – S.48-50.
3. Danilevskaya N.V. Farmakologicheskie aspekty` primeneniya probiotikov v veterinarii // Veterinariya sel'skoxozyajstvenny`x zhivotny`x. - 2011. - № 10. – S.8-14.
4. Panin A.N., Malik N.I., Ilaev O.S. Probiotiki v zhivotnovodstve – sostoyanie i perspektivy` // Veterinariya. - 2012. - № 3. – S.3-8.
5. Tarakanov B.V. Mexanizm dejstviya probiotikov na mikrofloru pishhevaritel`nogo trakta organizm zhivotny`x // Veterinariya. -2000. - № 1. – S.14-54.
6. Fox S.M. Probiotics: Intestinal inoculans for production animals // Veter. Med. (Edwardsville). - 1988. – V.83. – P. 806-810.

#### 4.2.1. ПАТОЛОГИЯ ЖИВОТНЫХ, МОРФОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ, ФАРМАКОЛОГИЯ И ТОКСИКОЛОГИЯ (биологические науки)

---

7. Fuller R., Gibson G. Probiotics and prebiotics: microflora management for improved gut health // Clin, Microbiol. And Infect. – 1998. - V.4. - 477-480.
8. Patent RF №2781792. -2022 g. Sposob polucheniya mikrokapsul probiotika Vetom 1. Avt. Sein O.B., Sein D.O., Kerimov K.B., Loktionova E.A.
9. Patent RF №2545742. - 2015 g. Sposob inkapsulyacii laktobifadola Avt. Krolevecz A.A., Bogachyov I.A.
10. Patent RF №2780885. -2022 g. Sposob polucheniya mikrokapsulirovannogo e`nzimsporina. Avt. Sein O.B., Sein D.O., Kerimov K.B.
11. Krolevecz A.A., Ty`rsin Yu.A., By`kovskaya E.E. Primenenie nano – i mikrokapsulirovaniya v farmaceutike i pishhevoj promy`shlennosti. Chast` 2. – Charakteristika inkapsulirovaniya // Vestnik RAEN. – 2013. - №1. – T.13. – S.77-84.
12. Chelnokov V.A. Fiziologicheskij status molodnyaka krupnogo rogatogo skota posle primeneniya mikrokapsulirovannogo preparata, vklyuchayushhego probiotik i selen: dis. ... kand. biol. nauk. - Kursk, 2013. – 19 s.
13. Chernov V.A. Vliyanie mikrokapsulirovannogo preparata, vklyuchayushhego probiotik i selen, na fiziologicheskij status i formirovanie polovoj funkcii u svinej: kand. biol. nauk. - Kursk, 2015. -19 s.
14. Sarkisov D.S., Perova Yu.L. Mikroskopicheskaya texnika. Rukovodstvo dlya vrachej i laborantov. - M.: Medicina, 1996. – 544 s.