

УДК 663.18:574.44

ФУНКЦИОНАЛЬНО-МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ ПЕЧЕНИ У МОРСКИХ СВИНОК, ПОЛУЧАВШИХ С РАЦИОНОМ МИКРОКАПСУЛИРОВАННЫЙ ПРОБИОТИК ВЕТОМ 1

СЕИН О.Б.,

доктор биологических наук, 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. В статье приводятся результаты исследований крови и гистологической структуры печени у морских свинок после скормливания пробиотика Ветом 1, микрокапсулированного по способу, разработанному авторами (патент РФ № 2781792. -2022 г., авт. Сеин О.Б. и др.). Показано, что ежедневное включение в рацион микрокапсулированного препарата в течение 14 дней оказывало положительное влияние на организм подопытных животных. У морских свинок опытной группы в конце эксперимента в крови регистрировалось более высокое содержание эритроцитов ($6,10 \pm 0,10 \cdot 10^{12}/л$) и гемоглобина ($139,5 \pm 5,03$ г/л). Отмечалось достоверное ($p < 0,05$) увеличение общего белка в среднем на 4,5 г/л, альбуминов – на 2,9 г/л, глюкозы – на 1,79 ммоль/л по сравнению с контрольными животными. В содержании билирубина и холестерина достоверных различий выявлено не было ($p > 0,05$). Показатели ферментативной активности аминотрансфераз и щелочной фосфатазы у контрольных и опытных животных находились в пределах физиологических границ (АСТ – $83,4 \pm 5,16$ – $87,0 \pm 6,12$ Ед/л; АЛТ – $65,0 \pm 4,48$ – $70,5 \pm 5,05$ Ед/л; ЩФ – $78,3 \pm 6,37$ – $85,6 \pm 4,11$ Ед/л). Существенных различий в морфологической структуре печени у опытных и контрольных животных не отмечалось, за исключением увеличения площади гепатоцитов и более выраженного кровенаполнения печёночных структур у морских свинок, получавших микрокапсулированный препарат Ветом 1. Полученные данные свидетельствуют о том, что изготовленный препарат не токсичный и оказывает выраженное стимулирующее влияние на метаболизм подопытных животных.

Ключевые слова: морские свинки, гематологические показатели, морфологические показатели, печень, микрокапсулированный пробиотик, биохимические компоненты крови, метаболизм.

FUNCTIONAL AND MORPHOLOGICAL STATE OF THE LIVER IN GUINEA PIGS RECEIVED MICROCAPSULATED PROBIOTIC VETOM 1 WITH THE DIET

SEIN O.B.,

Doctor of Biological Sciences, 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 article presents the results of blood tests and the histological structure of the liver in guinea pigs after feeding the probiotic Vetom 1, microencapsulated according to the method developed by the authors (RF patent No. 2781792. -2022, author Sein O.B. and others). It was shown that the daily inclusion of a microencapsulated preparation in the diet for 14 days had a positive effect on the body of experimental animals. In guinea pigs of the experimental group, at the end of the experiment, a higher content of erythrocytes ($6.10 \pm 0.10 \cdot 10^{12}/l$) and hemoglobin (139.5 ± 5.03 g/l) was recorded in the blood. There was a significant ($p < 0.05$) increase in total protein by an average of 4.5 g/l, albumin - by 2.9 g/l, glucose - by 1.79 mmol/l compared with control animals. There were no significant differences in the content of bilirubin and cholesterol ($p > 0.05$). Indicators of enzymatic activity of aminotransferases and alkaline phosphatase in control and experimental animals were within the physiological limits (AST - 83.4 ± 5.16 - 87.0 ± 6.12 U/l; ALT - 65.0 ± 4.48 - 70.5 ± 5.05 U/l, ALP - 78.3 ± 6.37 – 85.6 ± 4.11 U/l). There were no significant differences in the morphological structure of the liver in experimental and control animals, except for an increase in the area of hepatocytes and a more pronounced blood filling of the liver structures in guinea pigs treated with the microencapsulated preparation Vetom 1. The data obtained indicate that the prepared preparation is not toxic and has a pronounced stimulating influence on the metabolism of experimental animals.

Keywords: guinea pigs, hematological parameters, morphological parameters, liver, microencapsulated probiotic, blood biochemical components, metabolism.

Введение. Печень выполняет важную роль в организме человека и животных, что связано с её многофункциональностью. В частности печень участвует в большинстве физиологических и биохимических процессов: в кроветворении, синтезе специфических белков, в переработке гормонов и выведении токсинов. Печень тесным образом связана с кишечником, из которого она получает более 70% крови через портальную вену. В этой связи печень постоянно подвергается воздействию метаболитов образующихся в кишечнике, объём которых зависит от бактериального фона кишечника, наличия эндотоксинов, пептидогликанов и других продуктов обмена. Имеются сведения, указывающие на локализацию в клетках печени рецепторов, реагирующих на продукты метаболизма микроорганизмов, содержащихся в кишечнике [1-3]. В то же время нарушения происходящие в печени могут привести к дисфункции кишечника [4,5].

По метаболитам образующихся в печени и поступающих в кровь можно судить не только о её функциональном состоянии, но и состоянии всего организма в целом. В этой связи исследование морфофункциональных особенностей печени при использовании различных биологически активных препаратов, в том числе и пробиотиков, имеет большое научно-прикладное значение.

Цель и задачи исследований. Учитывая вышеизложенное целью исследований являлось изучение функционально-морфологических особенностей печени у лабораторных животных при использовании микрокапсулированного пробиотика Ветом 1.

Материал и методы исследований. Исследования проводили на беспородных половозрелых морских свинок обоего пола с массой тела 400-420 г, которые содержались в типовых клетках и получали рацион соответствующий возрасту. Гематологические и гистологические исследования осуществляли в условиях клинической больницы МЕДСИ г. Отрадное Московской области.

Было сформировано две группы подопытных животных по 7 голов в каждой. Свинок 1 контрольной группы получали основной рацион, сбалансированный по питательным, минеральным и витаминным компонентам. Свинок 2 опытной группы получали основной рацион и пробиотик Ветом 1, микрокапсулированный по способу, разработанному авторами (Патент РФ №2781792. - 2022 г., авт. Сеин О.Б. и др.).

Дачу пробиотического препарата подопытным свинкам осуществляли индивидуально с болюсами из хлебного мякиша в дозе 15 мг/гол один раз в день в течение 14 дней.

У всех животных при постановке на эксперименты брали кровь из сосудов ушных вен. В конце эксперимента, перед усыплением животных, кровь получали из левого желудочка сердца. В крови определяли общие гематологические показатели (скорость оседания эритроцитов, гематокрит, содержание эритроцитов, лейкоцитов, гемоглобина) и биохимические показатели (общий белок, альбумины,

глобулины, глюкозу, билирубин общий, холестерин общий, ферментативную активность АСТ, АЛТ, ЩД). Исследование крови проводили с использованием общепринятых методик, автоматического гематологического анализатора и наборов биохимических реактивов «Био-ла-тест» (Чехия), «Клини-Тест» (Россия).

Печень у подопытных животных получали после их усыпления с учётом требований Директивы Европейского Совета по соблюдению этических принципов в работе с лабораторными животными (The European Council Directive 86/609/EEC).

Гистологические исследования печени осуществляли по общепринятой схеме включающей фиксацию отобранного материала в 10%-ном нейтральном формалине, проводку в спиртах возрастающей концентрации, приготовление парафиновых блоков, изготовление гистосрезов на санном микротоме толщиной 4-5 мкм и окрашивание гематоксилин-эозином. Для оценки гистопрепаратов использовали микроскоп XSP-107E и окулярмикрометр МОВ-1-15М. Фотосъёмку препаратов осуществляли цифровой фотокамерой.

Биометрическую обработку полученных данных проводили с использованием программы Microsoft Excel 2003. Достоверность различий сравниваемых величин определяли с учётом t-критерия Стьюдента (Рокицкий П.Ф., 1973).

Результаты исследований. Лабораторный анализ крови показал, что общие гематологические параметры у контрольных и опытных животных в период эксперимента находились в пределах физиологических границ (таблица 1). При этом относительно высокое содержание в крови животных опытной группы эритроцитов и гемоглобина можно объяснить более интенсивным обменом веществ в их организме по сравнению с контрольными животными.

Со стороны лейкограммы (таблица 2) существенных различий выявлено не было, за исключением достоверного ($p < 0,05$) увеличения базофилов, эозинофилов и моноцитов у морских свинок опытной группы.

Что касается биохимических компонентов крови (таблица 3), то здесь отмечалось достоверное ($p < 0,05$) повышение у животных получавших микрокапсулированный пробиотик по сравнению с контролем общего белка в среднем на 4,5 г/л и альбуминов – на 2,9 г/л. В определённой степени это свидетельствует о более активном поступлении в печень с кровью пластического материала из кишечника. В то же время повышение общего содержания глобулинов у животных опытной группы (на 1,6 г/л) имело недостоверный характер ($p > 0,05$). Уровень глюкозы, энергетического материала обеспечивающего биохимические процессы, в крови животных получивших микрокапсулированный Ветом 1 был выше ($8,94 \pm 0,45$ ммоль/г) по сравнению с контролем ($7,15 \pm 0,54$ ммоль/г). Однако выявленные различия были недостоверными ($p > 0,05$). Содержание в крови морских свинок опытной

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

группы билирубина, холестерина, а также показатели ферментативной активности аминотрансфераз (АСТ, АЛТ) и щелочной фосфатазы (ЩФ) находились на уровне с контрольными животными. Это

указывает на то, что изготовленный микрокапсулированный препарат не оказывал функциональной нагрузки на печень подопытных животных.

Таблица 1 – Общие гематологические показатели у морских свинок, получавших микрокапсулированный пробиотик Ветом 1

Показатели	Время исследования	
	до скармливания препарата	на 14 день эксперимента
1 контрольная группа		
СОЭ, мм/час	2,5±0,07	2,4±0,08
Гематокрит, %	41,5±3,10	40,0±3,41
Эритроциты, •10 ¹² /л	5,30±0,18	5,25±0,14
Лейкоциты, •10 ⁹ /л	8,16±0,54	8,20±0,69
Гемоглобин, г/л	135,0±5,12	130,5±4,25
2 опытная группа		
СОЭ, мм/час	2,6±0,06	2,5±0,07
Гематокрит, %	40,0±3,55	42,7±3,06
Эритроциты, •10 ¹² /л	5,44±0,18	6,10±0,10*
Лейкоциты, •10 ⁹ /л	8,25±0,71	8,17±0,52
Гемоглобин, г/л	134,5±5,46	139,5±5,03

Примечание: *- при $p < 0,05$ по сравнению с показателями полученными до скармливания препарата

Таблица 2 – Лейкограмма и лейкоцитарный профиль у морских свинок, получавших микрокапсулированный пробиотик Ветом 1

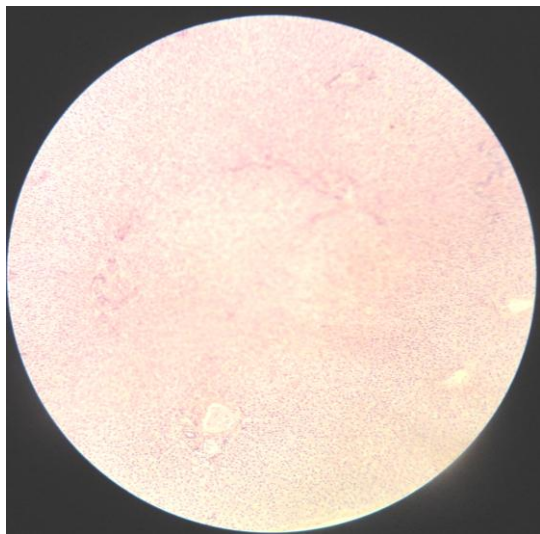
Показатели	Время исследования			
	до скармливания препарата		на 14 день эксперимента	
	1 контрольная группа	2 опытная группа	1 контрольная группа	2 опытная группа
Б	<u>2,4±0,10</u> 195,8	<u>2,0±0,09</u> 165,0	<u>2,2±0,11</u> 180,4	<u>3,9±0,11*</u> 318,6
Э	<u>6,3±0,23</u> 514,1	<u>7,2±0,38</u> 594,0	<u>5,4±0,30</u> 442,8	<u>8,9±0,25*</u> 727,1
Ю	<u>0</u> 0	<u>0</u> 0	<u>0</u> 0	<u>0</u> 0
П	<u>4,0±0,14</u> 326,4	<u>4,2±0,10</u> 346,5	<u>3,3±0,25</u> 270,6	<u>4,0±0,32</u> 326,8
С	<u>32,0±4,8</u> 2611,2	<u>34,1±3,9</u> 2813,1	<u>32,2±4,0</u> 2640,4	<u>32,0±3,8</u> 2614,4
Л	<u>51,3±5,9</u> 4186,1	<u>49,1±4,4</u> 4051,5	<u>53,7±5,7</u> 4403,4	<u>46,2±4,9</u> 3774,5
Мон	<u>4,0±0,17</u> 326,4	<u>3,4±0,22</u> 280,5	<u>3,2±0,19</u> 262,4	<u>5,0±0,18*</u> 408,5

Примечание: *-при $p < 0,05$ по сравнению с показателями полученными до скармливания препарата

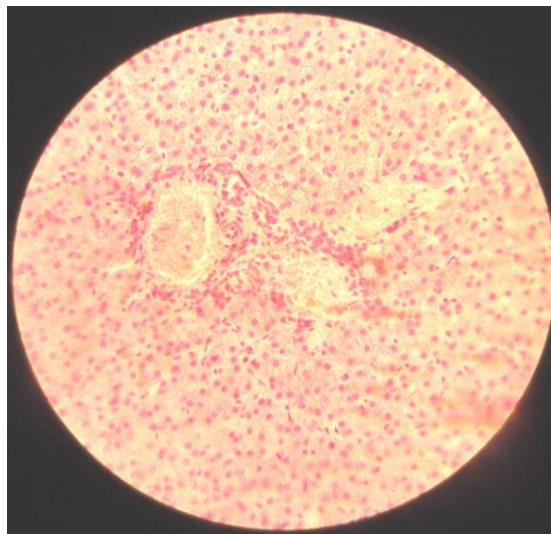
Таблица 3 – Биохимические компоненты крови у морских свинок, получавших микрокапсулированный пробиотик Ветом – 1 (на 14 день эксперимента)

Показатели	Группа	
	1 контрольная	2 опытная
Общий белок, г/л	51,5±1,46	56,0±1,18*
Альбумины, г/л	22,5±0,89	25,4±0,76*
Глобулины, г/л	31,3±1,12	32,9±1,03
Соотношение А/Г	0,72±0,41	0,72±0,39
Глюкоза, ммоль/л	7,15±0,54	8,94±0,45*
Билирубин общий, мкмоль/л	1,28±0,14	1,30±0,11
Холестерин, ммоль/л	1,07±0,10	1,11±0,15
АСТ, ЕД/л	83,4±5,16	87,0±6,12
АЛТ, Ед/л	65,0±4,48	70,5±5,05
ЩФ, Ед/л	78,3±6,37	85,6±4,11

Примечание: *- при $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой



а



б

Рисунок 1 – Гистоструктура печени у морской свинки, получавшей микрокапсулированный пробиотик Ветом 1: а – ув. 4×18; б – ув. 10×18

При гистологическом исследовании печени у свинок обеих групп были выявлены структура и архитектура характерные для данного вида животных. Поверхность органа покрыта соединительнотканной капсулой, дольчатость органа, плохо выражена. Гепатоциты имеют неправильную, многоугольную форму, структуры цитоплазмы плохо просматриваются. В центре клеток располагается ядро овальной формы с четкими контурами. Гепатоциты хорошо воспринимают красители, поэтому окрашиваются в большинстве случаев интенсивно и равномерно. Размеры гепатоцитов колебались в значительных границах, их диаметр составлял в среднем $11,0 \pm 0,15$ мкм, а ядер – $5,60 \pm 0,18$ мкм. Из кровеносных сосудов наиболее хорошо просматриваются центральные вены. Встречаются желчные протоки, располагающиеся рядом с кровеносными сосудами.

Существенных различий в морфологической структуре печени у контрольных и опытных животных выявлено не было. В то же время у морских свинок, получавших микрокапсулированный препарат (рисунок 1) гепатоциты имеют округлую форму, капилляры умеренно наполнены кровью, что в определённой степени свидетельствует о более высокой функциональной активности печени у животных опытной группы.

Заключение. Полученные результаты проведенных исследований свидетельствуют о том, что микрокапсулированный пробиотик Ветом 1 оказывает стимулирующее влияние на функциональную активность печени и обмен веществ у подопытных животных.

Положительное влияние микрокапсулированного пробиотика на печень связано с его биологической активностью. После поступления препарата в тонкий отдел кишечника оболочка микрокапсул разрушается под действием щелочной среды и пробиотические бактерии проникают в толстый кишечник, где пополняют и усиливают местную микрофлору. Под влиянием пробиотической микрофлоры повышается всасывание в кишечнике белков, углеводов и минеральных веществ рациона и активизируется работа пищеварительного тракта в целом. При этом *Bacillus subtilis* в толстом кишечнике продуцируют антибиотикоподобные вещества и ферменты, которые участвуют в обмене веществ и формировании неспецифической резистентности организма. Учитывая, что при использовании микрокапсулированного пробиотика его потери после прохождения пищеварительного тракта значительно меньше по сравнению с немикрoкапсулированным препаратом, то указанные выше процессы у животных протекают на более интенсивном уровне.

Активизация обмена веществ, отсутствие существенных различий в морфологической структуре печени у животных опытной и контрольной группы свидетельствует о том, что микрокапсулированный пробиотик Ветом 1 не обладает токсичностью, оказывает выраженное стимулирующее действие на метаболизм животных и его можно рекомендовать к широкому применению в практике животноводства.

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

Список использованных источников

1. Созинов А.С., Поздеев О.К., Лапшина Г.Н. Микрофлора кишечника крыс в условиях хронического токсического поражения печени // Микробиология, вирусология и эпидемиологии. - 2002. - № 3. - С. 60-63.
2. Козлов С.В. Новые методы фармакологической коррекции и профилактики заболеваний печени у сельскохозяйственных животных: дисс. докт. вет. наук. – Саратов, 2018. - 350 с.
3. Wieland A., Frank D., Harnke B., Bambha K. Sistematic review: microbial dysbiosis and nonalcoholic fatty liver disease. – Aliment Pharmacol. Ther. – 2015. -42(9). – P.1051 – 1063.
4. Пугатина А.Е. Эффективность средства янтовет при заболеваниях печени у животных. Автореф. дисс. канд. вет. наук. – Казань, 2019. – 24 с.
5. Резниченко А.А. Терапевтическое действие карофлавина при гепатозах поросят: автореф. дисс. канд. вет. наук. – Белгород, 2017. – 24 с.
6. Рокицкий П.Ф. Биологическая статистика. – Минск: Высшая школа, 1973. - 320 с.

Spisok ispol'zovanny`x istochnikov

1. Sozinov A.S., Pozdeev O.K., Lapshina G.N. Mikroflora kishechnika kry`s v usloviyax xroni-cheskogo toksicheskogo porazheniya pecheni // Mikrobiologiya, virologiya i e`pidemiologii. - 2002. - № 3. – S. 60-63.
2. Kozlov S.V. Novy`e metody` farmakologicheskoy korrekcii i profilaktiki zabolevanij pe-cheni u sel'skoxozyajstvenny`x zhivotny`x: diss. dokt. vet. nauk. – Saratov, 2018. - 350 s.
3. Wieland A., Frank D., Harnke B., Bambha K. Sistematic review: microbial dysbiosis and nonalcoholic fatty liver disease. – Aliment Pharmacol. Ther. – 2015. -42(9). – P.1051 – 1063.
4. Pugatina A.E. E`ffektivnost` sredstva yantovet pri zabolevaniyax pecheni u zhivotny`x. Avtoref. diss. kand. vet. nauk. – Kazan`, 2019. – 24 s.
5. Reznichenko A.A. Terapevticheskoe dejstvie karoflavina pri gepatozax porosyat: avtoref. diss. kand. vet. nauk. – Belgorod, 2017. – 24 s.
6. Rokiczkiy P.F. Biologicheskaya statistika. – Minsk: Vy`sshaya shkola, 1973. - 320 s.