УДК 636.22/.28.053:612.32

**УЛЬТРАСТРУКТУРА РАЗВИВАЮЩИХСЯ ЭПИТЕЛИОЦИТОВ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ СЫЧУГА ТЕЛЯТ С РАЗНОЙ СТЕПЕНЬЮ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЙ ЗРЕЛОСТИ ПРИ РОЖДЕНИИ**

**В.В. Малашко, Г.А. Тумилович, Д.Н. Харитоник,**

**Е.И. Хомутинник, А.А. Арабкович**

УО «Гродненский государственный аграрный университет»,

г. Гродно, Республика Беларусь

*(Поступила в редакцию 31.05.2010 г.)*

***Аннотация.*** *В статье**приведены результаты исследований особенностей ультраструктурной организации эпителиоцитов сычуга новорожденных телят с разной степенью физиологической зрелости при рождении. У телят с низкой живой массой при рождении отмечаются деструктивные процессы эпителиоцитов сычуга.*

***The summary.*** *In article results of researches of features of the ultrastructural organisation of epithelial cells of a rennet bag of neonatal calves with different degree of a physiological maturity are resulted at a birth. At calves with low alive mass at a birth destructive processes of epithelial cells of a rennet bag become perceptible.*

**Введение.** По литературным данным [1, 6, 7, 8, 10] и собственным результатам исследований [5, 9] на современном этаперазвития молочного скотоводства основной проблемой является рождение телят с признаками антенатального недоразвития (телят-гипотрофиков). Исходя из этого, важным научным направлением в ветеринарной морфологии является исследование ультраструктурных особенностей организации многокамерного желудку новорожденных телят с разной степенью физиологической зрелости, что приблизит нас к пониманию механизмов развития компенсаторно-приспособительных реакций у животных данной категории и даст возможность корректировать их течение [3, 4, 5, 11]. Исследования ряда авторов показывают, что степень тяжести протекания адаптационных процессов в органах пищеварения новорожденных телят напрямую зависит от их морфофункциональной зрелости телят [2, 5, 9, 11, 12].

У новорожденных телят с признаками антенатального недоразвития органы пищеварения характеризуются значительной незрелостью цитологических и железистых структур, т.е. незавершенностью дифференциации [2, 11, 12]. В связи с этим структура слизистой оболочки новорожденных животных во многом совпадает с таковой у плодов позднего внутриутробного периода развития [3, 4]. Незавершенная дифференциация и зрелость тканевых компонентов приводит к расстройству функционирования органов пищеварения и, как следствие, к высокой заболеваемости и снижению сохранности [1, 6, 7, 9, 10, 12].

Вместе с тем, как отмечают M.Asari et al., 1984 [13], дифференцировка клеток слизистой оболочки сычуга полностью заканчивается на 8 месяце стельности. Ультраструктурная характеристика эпителия слизистой оболочки сычуга новорожденных телят с различной степенью антенатального недоразвития практически не изучена. Данные, имеющиеся по этому вопросу, единичны, неполны, противоречивы и не дают общего представления о важной биологической проблеме.

**Цель работы** – выяснить особенности ультраструктурной организации эпителиоцитов слизистой оболочки сычуга телят с разной степенью физиологической зрелости при рождении.

**Материал и методика исследований.** Научные исследования по решению поставленной задачи осуществлялись в 2006 – 2009 г. в условиях СПК «Демброво» Щучинского района Гродненской области, НИЛ УО «ГГАУ», на кафедре анатомии животных УО «ГГАУ», РУП «Институт физиологии НАН Беларуси».

Клинические исследования новорожденных телят проводили согласно общепринятому в ветеринарии плану [А.М. Смирнов и др., 1988], а также исходя из нами разработанной методики определения морфофункциональной зрелости новорожденных телят [Г.А. Тумилович и др., 2008]. Данная методика в себя включает следующие критерии: живая масса при рождении; упитанность; поведенческий статус (время реализации позы стояния, время проявления сосательного рефлекса, количество сосательных движений, состояние мышечного тонуса, физиологические рефлексы, положение тела в пространстве); температура тела, состояние кожного покрова, количество резцовых зубов, гематологические и биохимические показатели, а также в методику входят некоторые зоотехнические показатели: косая длина туловища, высота в холке, высота в крестце, обхват груди за лопатками.

В оценке степени физиологической зрелости (антенатального недоразвития) ранее и по сей день важнейшим критерием является живая масса теленка при рождении [Д.А.Саврасов, 2003, А.А.Катаранов, 2005, М.А.Каврус, 2008, Г.А.Тумилович, 2008; 2009]. Исходя из этого, новорожденные телята в зависимости от живой массы были разделены на четыре группы: телята-нормотрофики – живая масса свыше 37 кг; телята-гипотрофики с низкой степенью антенатального недоразвития – живая масса 28-37 кг, телята-гипотрофики со средней степенью антенатального недоразвития – живая масса 22-27 кг, телята-гипотрофики с высокой степенью антенатального недоразвития – живая масса 18-21 кг. У телят-гипотрофиков со средней степенью антенатального недоразвития дефицит живой массы при рождении составлял 25-35%, а у телят-гипотрофиков с высокой степенью антенатального недоразвития – 40-50% по отношению к живой массе новорожденных телят-нормотрофиков.

Для электронно-микроскопического исследования брали соответствующие участки сычуга около 3-6 см, которые были лигированы, и внутрилюминально вводился методом диффузии 2%-ый раствор глютарового альдегида. В последующем ткани помещали в 5%-ый раствор глютарового альдегида на 2 часа. Глютаровый альдегид готовился на 0,1М фосфатном буфере рН 7,2-7,4 и фиксировали при t+4°С. Затем делали вертикальные разрезы по отношению к оси камеры желудка и изготовляли кубики с длиной края 1-1,5 см. После 3-кратной промывки в 0,1М фосфатном буфере материал обрабатывали 2%-ым раствором четырехокиси осмия, дегидрировали в спиртах, возрастающей концентрации, контрастировали уранил ацетатом и заключали в аралдит. Срезы готовили на ультрамикротоме ЛКБ (Швеция), контрастировали цитратом свинца и просматривали под микроскопом JЕМ -100В и JEМ-100СХ «JEOL» (Япония).

**Результаты исследований и их обсуждение.** Слизистая оболочка сычуга выстлана цилиндрическим эпителием. Надъядерная часть клеток выглядит более прозрачной. Помимо диффузной окраски апикальной части клеток можно увидеть супра- и субнуклеарные гранулы. Высота эпителия глубоких отделов ямок меньше на 14,8 – 27,9% по сравнению с клетками поверхностных отделов ямок.

При электронно-микроскопическом исследовании поверхностного эпителия выявляются микроворсинки, покрытые гликокаликсом. Эпителиоциты – морфофункциональная поляризованная система, имеющая цилиндрическую форму, несколько расширенную в апикальной части, покрытую липопротеиновой плазматической мембраной. Характерной особенностью эпителиоцитов является наличие щеточной каймы, образованной микроворсинками – плазматическими выростами, ограниченные мембраной. Микроворсинки являются динамичными структурами. Это показывают проведенные стереологические исследования микроворсинок эпителиоцитов телят с разной степенью физиологической зрелости при рождении. Динамика изменения микроворсинок представлена в таблице.

Как показывают данные таблицы, количество микроворсинок на один эпителиоцит колеблется в зависимости от степени антенатального недоразвития от 97,09±4,11 – у новорожденных телят-гипотрофиков с высокой степенью недоразвития и до 187,71±3,99 – у новорожденных телят-нормотрофиков. Высота микроворсинок колеблется от 0,37±0,08 мкм до 0,63±0,05 мкм. Данный показатель характеризует всасывающую площадь слизистой оболочки. Наибольшая высота микроворсинок характерна для телят-нормотрофиков и телят-гипотрофиков с низкой степенью недоразвития.

Такой показатель, как толщина микроворсинок у телят-гипотрофиков с высокой степенью антенатального недоразвития составляет 0,17±0,06 мкм, что на 37,0% и 56,4% (P<0,05) меньше, чем у телят-гипотрофиков со средней и низкой степенью недоразвития. Наиболее гипертрофированные микроворсинки выявлены у новорожденных телят-нормотрофиков. По нашему мнению, это свидетельствует об высоких адаптационных процессах эпителиоцитов.

Таблица – Стереологические показатели микроворсинок покровного эпителия слизистой оболочки сычуга новорожденных телят с разной степенью антенатального недоразвития

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Показатель | Степень антенатального недоразвития | | | |
| высокая | средняя | низкая | нормотро-фики |
| Количество микроворсинок  на 1 клетке | 97,09±4,11 | 121,93±  5,67\*\* | 164,01±  3,81\*\*\* | 187,71±  3,99\*\*\* |
| Высота микроворсинок, мкм | 0,38±0,06 | 0,37±0,08 | 0,57±0,07 | 0,63±0,05\* |
| Толщина  микроворсинок, мкм | 0,17±0,06 | 0,27±0,07 | 0,39±0,06\* | 0,43±0,05\* |
| Расстояние между микроворсинками, нм | 39,01±0,54 | 37,98±0,67 | 30,71±0,89 | 29,68±0,71 |

\*P<0,05;\*\*P<0,01; \*\*\*P<0,001

Плотность расположения микроворсинок является важным регулятором в предохранении проникновения токсических веществ, микроорганизмов в глубину слизистой оболочки, тем самым защищая её от антигенного воздействия. Наибольшая плотность микроворсинок на эпителиальных клетках установлена у телят-нормотрофиков и телят-гипотрофиков с низкой степенью антенатального недоразвития, где этот показатель равняется 29,68±0,71 нм и 30,71±0,89 нм. У телят-гипотрофиков других групп расстояние между микроворсинками составило 37,98±0,67 нм и 39,01±0,54 нм.

Некоторые микроворсинки характеризуются наличием трехслойной плазматической оболочки. Внутри микроворсинок проходят волокна, которые переплетаются с поперечно ориентированной фибриллярной сетью в апикальных частях клеток, формируя образования, известные как «терминальная соединительная ткань». Волокна состоят из актина, а миозиновые волокна соединяют активные пучки отдельных микроворсинок таким образом, что щеточная кайма выполняет контрактильную функцию. Щеточная кайма лучше развита на вершине клеток, где наступает их апоптоз. Эту часть называют «зоной отторжения». Благодаря микроворсинкам экстрацеллюлярная (люминальная) поверхность клеток увеличивается.

Плазматическая мембрана считается внешней границей клетки, однако у клеток имеются еще связанные с этой мембраной экстрацеллюлярные компоненты, так называемая буферная структура – гликокаликс. Микроворсинки покрыты надмембранным слоем, который выглядит «пушистым» и состоит из фибриллярного материала с низкой электронной плотностью. У новорожденных телят в зависимости от степени антенатального недоразвития толщина этого непрерывного слоя колеблется от 0,1 мкм до 0,3 мкм. Именно состояние гликокаликса характеризует функциональное состояние желудочно-кишечного тракта. В частности, атрофия гликокаликса является причиной повреждающего действия токсических веществ химуса на липопротеиновую мембрану. У телят-гипотрофиков с высокой степенью антенатального недоразвития отмечаются нарушения состояния гликопротеидного и гликозаминогликанового компонентов надмембранного слоя и мембран эпителиоцитов. Клетки эпителия кажутся голыми, лишенными оболочек. Некоторые эпителиоциты набухшие с мутной или грубозернистой цитоплазмой, нередко наблюдаются вакуоли. Межклеточная связь эпителиоцитов нарушена, между ними появляются щели.

В концевых отделах желез телят-гипотрофиков с высокой степенью недоразвития отмечают либо пустоты, либо секрет с примесью слущенных секреторных клеток. Также имеют место кистозные и атрофические изменения желез. Встречаются железы, представленные скоплением эпителиоцитов с пузырковидными ядрами, что свидетельствует о незаконченной дифференциации желез.

Главным ультраструктурным признаком поверхностных эпителиоцитов телят-нормотрофиков и телят-гипотрофиков с низкой степенью недоразвития является наличие большого количества овальных и круглых гранул, окруженных мембранами. Для эпителиоцитов характерно слабое развитие гранулярной эндоплазматической сети, мало митохондрий, они локализуются преимущественно вокруг ядер, гранул рибонуклеопротеидов немного, они находятся обычно в свободном состоянии.

**Заключение.** Таким образом, у новорожденных телят с разной степенью физиологической зрелости поверхностный эпителий сычуга претерпевает некоторые морфофункциональные изменения, связанные с перестройкой структурной организации. Степень развития тканевых компонентов слизистой оболочки сычуга зависит от живой массы телят при рождении. Наибольшая плотность микроворсинок на эпителиальных клетках установлена у телят-нормотрофиков и телят-гипотрофиков с низкой степенью антенатального недоразвития, где этот показатель равняется 29,68±0,71 нм и 30,71±0,89 нм. У телят-гипотрофиков других групп расстояние между микроворсинками составило 37,98±0,67 нм и 39,01±0,54 нм. Наибольшая поверхность отмечена у эпителиоцитов телят-нормотрофиков, поскольку у них большая плотность микроворсинок и наименьшее расстояние между ними.

ЛИТЕРАТУРА

1. Афанасьева, А.И. Показатели физиологически зрелых и незрелых телочек красной степной породы при разных условиях выращивания /А.И.Афанасьев, К.Н.Лотц //Зоотехния. –2009. –№ 5. –С. 19-21.
2. Гомбоев, Д.Д. Неонатальная незрелость телят и её последствия /Д.Д.Гомбоев //Эпизоотология, диагностика, профилактика и меры борьбы с болезнями животных: сб. науч. тр. –Новосибирск, 1997. –С. 340-341.
3. Ильин, П.А. К возрастной морфологии и гистохимии органов ротоглотки, пищевода и преджелудков у плодов крупного рогатого скота красной степной породы: автореф. дис. … канд. биол. наук /П.А.Ильин; Омский гос. вет. ин-т. –Омск, 1965. – 20 с.
4. Ильин, П.А. Морфофункциональная дифференциация тканей органов ротоглотки, пищевода и многокамерного желудка крупного рогатого скота в онтогенезе: автореф. дис. … докт. биол. наук: 03.099 /П.А.Ильин; Омский вет. ин-т. –Омск, 1972. – 43 с.
5. Каврус, М.А. Морфофункциональный статус телят-гипотрофиков и коррекция обменных процессов с использованием катозала /М.А.Каврус, Д.В.Малашко //Сельское хозяйство - проблемы и перспективы: сб. науч. тр. /Гродн. аграр. ун-т. –Гродно, 2008. –Т. 2. –С.54-62.
6. Катаранов, А.А. Клинико-иммунологическая характеристика новорожденных телят и немедикаментозные методы коррекции у них иммунодефицита: автореф. дис. … канд. вет. наук: 16.00.07 /А.А.Катаранов; Сарат. гос. аграр. ун-т им. Н.И. Вавилова. –Саратов, 2005. – 29 с.
7. Криштофорова, Б.В. Внутрикостные инъекции у телят с различной степенью пренатального развития /Б.В.Криштофорова, П.Н.Гаврилин //Ветеринария.–2000. –№ 5. –С. 39-42.
8. Криштофорова, Б.В. Концепция этиологии недоразвития новорожденных телят и их ранней гибели /Б.В.Криштофорова, И.В.Хрусталева //Аграрная наука. –2000. –№ 5. –С. 23-24.
9. Малашко, В.В. Гипотрофия молодняка сельскохозяйственных животных и пути реализации компенсаторных возможностей организма /В.В.Малашко, Н.В.Троцкая, Т.М.Скудная //Сельское хозяйство - проблемы и перспективы: сб. науч. тр. /Грод. гос. аграр. ун-т. –Гродно, 2005. –Т.4, ч.2. –С.98-101.
10. Саврасов, Д.А. Влияние тенториума плюс, ганасупервита, седатина на клинико-гематологические показатели телят при антенатальной гипотрофии: автореф. дис. … канд. вет. наук: 16.00.01. / Д.А. Саврасов; Всеросс. науч.-иссл. вет. ин-т патологии, фармакологии и терапии. – Воронеж, 2003. – 20 с.
11. Ульянов, В.Г. Морфогенез органов пищеварения телят в онтогенезе, норме и патологии /В.Г.Ульянов //Диагностика и профилактика болезней с.-х. животных: сб. науч. тр. –Саратов, 1992. –С. 64-66.
12. Ульянов, В.Г. Морфометрия слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта у телят-гипотрофиков / В.Г. Ульянов //Диагностика, патоморфология, патогенез и профилактика болезней в пром. животноводстве: сб. науч. тр. – Саратов, 1990. –Ч. 1. – С. 45-46.
13. Asari, M. Fine structure of developing gastric harietal cells in the bovine abomasums /M.Asari, K.Fukaya, V.Kano //Res. Vet. Sci. –1984. –Vol. 36, №. –P. 127-128.