

MACIEJ GAJEŃKI, BARBARA PRZYBYLSKA-GORNOWICZ*, MIECZYŚLAW GUZ**,
KATARZYNA PIRUS, WŁODZIMIERZ PRZEWOSKI***, FRANCISZEK PRZAŁA

Badania nad wpływem preparatu ziołowego podawanego maciorom na ultrastrukturę komórek trzustki zewnątrzwydzielniczej u prosiąt

Katedra Profilaktyki Weterynaryjnej i Higieny Pasz Wydziału Medycyny Weterynaryjnej AR-T, ul. Oczapowskiego 13, 10-718 Olsztyn

*Katedra Histologii i Embriologii Wydziału Medycyny Weterynaryjnej AR-T, ul. Oczapowskiego 13, 10-718 Olsztyn

**Lecznica Zwierząt, ul. Antonowska 19, 11-500 Giżycko

***Wojewódzki Zakład Weterynarii, ul. Na Stoku 50, 80-985 Gdańsk

Summary

Studies on the influence of a herbaceous preparation administered to sows on the piglet exocrine pancreas cells ultrastructure

The aim of the studies was to establish on the basis of ultrastructural examinations whether the tested herbaceous preparation added to the feed of sows may influence pancreas activity (*pars vesicularis*) of suckling piglets. The tested preparation contained: *Folium urticae*, *Fructus Silybi mariani* and *Exocarpium fagopyri*. The preparation was added to feed once daily at a dose of 20 g/animal from the 90th day of pregnancy to the 28th day of lactation. Pancreas for ultrastructural examinations were collected immediately after slaughter from randomly selected 1 and 21 day-old-piglets. It was found that the examined preparation had a positive effect on sows and also on the pancreas ultrastructure of piglets. Active substances of the examined preparation acting both directly and in interaction with endogenous factors stimulated pancreatic secretion. In older piglets the preparation also intensified exocytose.

Działalność zewnątrzwydzielnicza trzustki wyraża się produkcją enzymów trawiennych takich jak amylazy, lipazy czy proteazy. Fakt przystosowania się tej działalności do zmian w diecie jest powszechnie znany zarówno u ludzi (4) jak i u zwierząt (3, 7, 15, 18, 24). Wielkość produkcji tych enzymów zależy od udziału w dawce pokarmowej podstawowych składników odżywczych – białek, węglowodanów oraz tłuszczu (13, 26). Oprócz głównych składników pokarmowych na egzokrynną działalność trzustki mają również wpływ fitoinhibitory i fitostymulatory zawarte w paszach (22). Fizjologiczne znaczenie procesów adaptacyjnych trzustki do aktualnego składu dawki pokarmowej nie jest całkowicie wyjaśnione. Wiadomo, że wiele hormonów i metabolitów może po-

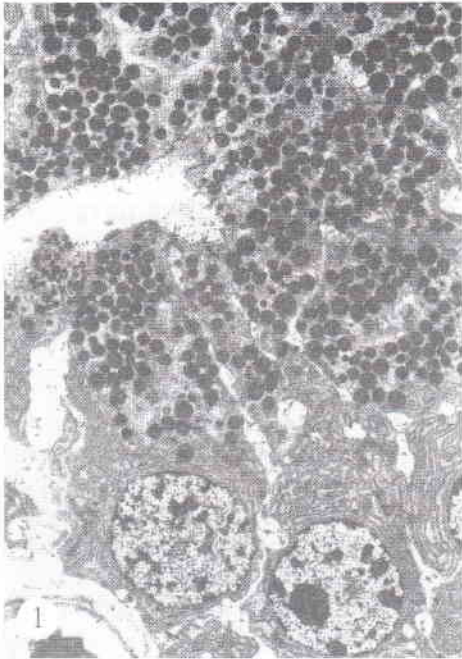
średniczyć w mechanizmie przystosowawczym trzustki do określonej diety (23, 29), lecz przebieg tego procesu nie jest dokładnie poznany (1, 16). Teoretycznie wpływ składników pokarmowych na proces regulacji wydzielania enzymów trawiennych mógłby optymalizować trawienie i utylizację tych składników. Z drugiej strony wiadomo jednak, że trzustka syntetyzuje i wydziela 10-krotnie więcej enzymów trawiennych niż wynika to z potrzeb (6). Stopień aktywności wydzielniczej trzustki można określić na podstawie zmiany poziomów mRNA (4, 14, 27, 28) oraz cholecystokininy (8, 17). Jedną z możliwości oceny stopnia aktywności trzustki jest również sposób pośredni poprzez ocenę zawartości ziaren zymogenu w komórkach pęcherzykowych (20).

Celem pracy było określenie wpływu preparatu ziołowego własnej receptury podawanego maciorom na ultrastrukturę komórek trzustki zewnątrzwydzielniczej u ssących prosiąt.

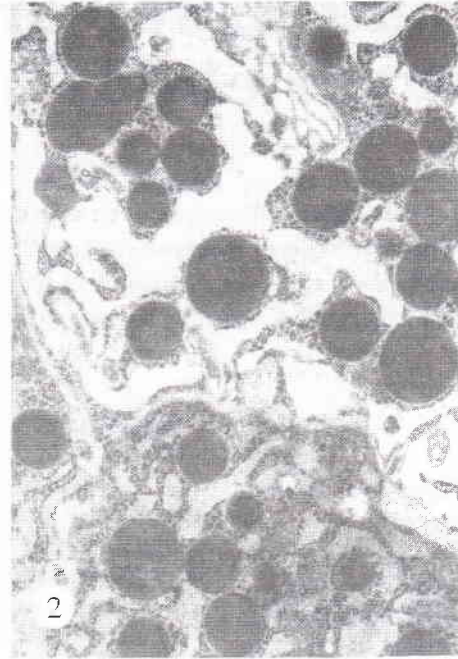
Materiał i metody

Badania wykonano w Fermie Przemysłowego Tuczcu Trzody Chlewnej typu Agrokomplex. W doświadczeniu użyto 169 wybranych losowo macior wielorasowych (wpb × pbz × duroc) wraz z przychowkiem. Do kompozycji badanego preparatu ziołowego użyto następujących surowców zielarskich: *Folium urticae* (liść pokrzywy): *diureticum*, *haemostaticum*, *stomachicum*, *metabolicum*, *digestivum*, *antiphlogisticum* i *antidiarrhoicum* (10, 12); *Fructus Silybi mariani* (owoc ostropestu plamistego): *hypertonicum*, *spasmoliticum*, *haemodepurativum*, *cholagogum* i *cholekineticum* (21, 22); *Exocarpium fagopyri* (łuska gryki): *adstringens*, *antidiarrhoicum* i *laxativum* (2). Surowce te otrzymano za pośrednictwem Zjednoczonych Zakładów Zielarskich „Herbapol” a *Exocarpium fagopyri* ze Szczytnowskich Zakładów Kaszarskich. Wielkość dawek poszczególnych komponentów i sposób ich podawania zostały ustalone na podstawie nieopublikowanych badań własnych oraz Bakuły (2) i Gajęckiego (10). Preparat (20 g) podawano 136 maciorom raz dziennie do paszy, w czasie porannego odpasu, w okresie od 90 dnia ciąży do 28 dnia laktacji. Grupa kontrolna (33 maciory) nie otrzymywała preparatu.

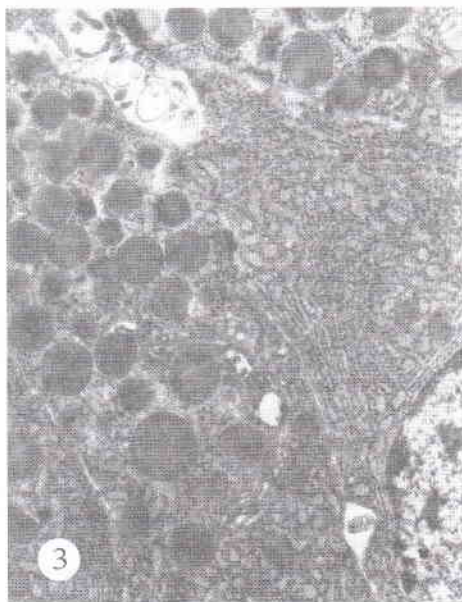
Trzustki do badań ultrastrukturalnych pobierano od 1- i 21-dniowych (wybranych losowo) prosiąt, bezpośrednio po uboju. Czas pobrania tkanek nie przekraczał 3 minut od wykrwienia. Ogółem pobrano wycinki 24 trzustek (po 6 w grupie kontrolnej i doświadczalnej w obu terminach). Wycinki utrwalono w mieszaninie 2,5% aldehydu glutarowego i 2% paraformaldehydu w 0,2M buforze cacodylowym (pH 7,2) w temp. pokojowej przez 2 godziny. Dotrwalono je w 2% czterotlenku osmu. Odwadniano w ciągu alkoholu etylowego i tlenku propylenu. Zatapiano w żywicy Epon 812. Skrawki ultracienkie kontrastowano i badano w TEM Tesla BS 500.



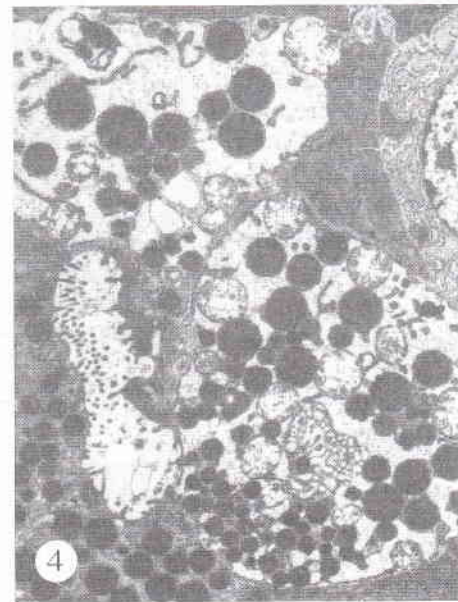
Ryc. 1. Prosięta jednodniowe, grupa doświadczalna. Charakterystyczna struktura pęcherzyka wydzielniczego oraz budujących go komórek. Pow. 5200x



Ryc. 2. Prosięta jednodniowe, grupa doświadczalna. Fragment komórek pęcherzykowych. Widoczne dojrzałe i formujące się ziarna zymogenu, diktiosomu, aparatu Golgiego, cysty z ziarnistej siateczki śródplazmatycznej z drobnokłaczkowatą zawartością. Pow. 16 000x



Ryc. 3. Prosięta jednodniowe, grupa kontrolna. Fragment ściany pęcherzyka z komórką pozbawioną ziarnistości. Pow. 6000x



Ryc. 4. Prosięta 21-dniowe, grupa doświadczalna. Komórki pęcherzykowe z ziarnami wydzieliny o zróżnicowanej wielkości. Powierzchnia apikalna komórek z widocznymi wgłobieniami po egzocytozie. Pow. 6000x

Wyniki i omówienie

Ogólna submikroskopowa budowa trzustki zewnątrzwydzielniczej u zwierząt kontrolnych i doświadczalnych była typowa dla tego gruczołu. Trzustka 1-dniowych prosiąt doświadczalnych (ryc. 1, 2) charakteryzowała się obecnością komórek o zróżnicowanej gęstości elektronowej cytoplazmy (ciemne, jasne). Komórki z elektronowo jasną cytoplazmą zdecydowanie przeważały i stanowiły około 90% wszystkich komórek pęcherzykowych. Komórki te charakteryzowały się

stożkowatym, przeważnie regularnym kształtem oraz jądrem położonym w centralnym obszarze cytoplazmy. Występowało klasyczne zróżnicowanie budowy pomiędzy ich częścią bazalną i apikalną. Część apikalna wypełniona była ziarnami zymogenu o zróżnicowanej średnicy. Powierzchnia apikalna komórek charakteryzowała się obecnością licznych mikrokosmków, a wielkość powierzchni styku komórek ze światłem pęcherzyków była zróżnicowana. Proces egzocytozy był obserwowany tylko w nielicznych przypadkach. Dobrze wykształcone międzykomórkowe kapilary wydzielnicze także nie zawierały oznak przebiegu procesu egzocytozy. Część bazalna zawierała obfitą ziarnistą siateczkę śródplazmatyczną, o rozszerzonych cysternach z drobnokłaczkowatą zawartością lub formującymi się ziarnami. Aparat Golgiego przeważnie w postaci pojedynczego diktiosomu usytuowany był ponad jądrem w jego bezpośrednim sąsiedztwie. Mitochondria o elektronowo gęstej macierzy, z nielicznymi grzebieniami były równomiernie rozmieszczone w cytoplazmie. Na przekrojach komórek obserwowano poza tym nieliczne lizosomy, cysty, siateczki gładkiej oraz elementy cytoskeletonu.

Trzustka zwierząt kontrolnych charakteryzowała się zazwyczaj słabszą kondensacją ziaren zymogenu oraz mniejszym wypełnieniem części apikalnej komórek. Na przekrojach pęcherzyków obserwowano 1 do 2 komórek z bardzo małymi ziarnami lub zupełnie ich pozbawionych (ryc. 3). Kapilary wydzielnicze były słabo wykształcone. Część pęcherzyków posiadała tylko nieliczne komórki o dobrze wykształconych ziarnach. Komórki pęcherzykowe posiadające ziarnistości nie różniły się od analogicznych komórek grupy doświadczalnej. Komórki pozbawione ziaren charakteryzowała dobrze rozwinięta siateczka ziarnista w postaci pakietów utworzonych przez wąskie, ściśle do siebie przylegające cysty. Nie występowało

wało zróżnicowanie na część apikalną i bazalną. Pozostałe cechy budowy nie wykazywały istotnych różnic w porównaniu z komórkami ziarnistymi.

W 21 dniu życia zaobserwowano w trzustce prosiąt doświadczalnych większe zróżnicowanie wielkości ziaren oraz stopnia kondensacji (ryc. 4). Na powierzchni apikalnej obserwowano liczne wgłębienia po procesie egzocytozy. Komórki posiadały dobrze rozwinięty aparat Golgiego z licznymi wakuolami kondensującymi. Pomiędzy komórkami występowały dobrze wykształcone kapilary wydzielnicze.

Grupa kontrolna, podobnie jak w przypadku prosiąt jednodziowych, charakteryzowała się obecnością komórek pozbawionych ziarnistości lub posiadającymi bardzo słabo wykształcone ziarna. Ponadto obserwowano słabo rozbudowane kapilary wydzielnicze oraz nieliczne figury egzocytozy.

W ciągu ostatnich lat wzrosło w Polsce zainteresowanie lekami pochodzenia roślinnego. Złożyło się na to wiele czynników między innymi lepsza jakość leków, większa produkcja i większy ich asortyment, jak również dokładniejsza informacja o ich właściwościach farmakologicznych i leczniczych. Dotychczasowe wyniki badań własnych wykazały, że podawanie opracowanego przez nas preparatu powodowało: poprawę stanu zdrowotnego macior, uzyskiwania lepszych efektów produkcyjnych u tych macior i ich potomstwa nie wywołując jednocześnie widocznych skutków ubocznych (11, 12, 13). Uzyskane efekty zdrowotno-produkcyjne były możliwe dzięki obecności w jego składzie określonych substancji biologicznie czynnych (22). Susz pokrzywy zawiera bowiem wśród substancji biologicznie czynnych witaminy C, K, B₂ i kwas pantotenowy, flawonoidy, karotenoidy, fitosterole oraz związki aminowe (m.in. histaminę, acetylocholinę czy serotoninę). Owoc ostropestu plamistego zawiera: sylimarynę, flawonoidy, kwercyтынę, aminy biogenne, związki białkowe i tłuszczowe. Łuska gryki natomiast duże ilości związków mineralnych, włóknik oraz rutynę. Zawarte w preparacie substancje czynne działają bezpośrednio (5) jak również w interakcji z czynnikami endogennymi dając w efekcie końcowym określone działania stymulujące. Acetylocholina endogenna i egzogenna bierze udział w procesie sprzężenia pobudzeniowo-wydzielniczego, w wyniku którego w komórkach gruczołowych wzrasta poziom Ca⁺² zapoczątkowując proces wydzielania (9, 20). Egzogenna histamina obniża efektywność dekarboksylazy histydynowej i wytwarzanie endogennej histaminy, ponadto uczyła komórki okładzinowe na działanie gastryny oraz acetylocholino (25). Rutyna (flawonoid) przedłuża działanie adrenaliny i noradrenaliny (nieuczynniając oksydazę adrenalinową), podwyższa poziom wapnia we krwi oraz ma właściwości odtruwające podobne do sylimaryny (22).

Wyniki obecnych badań dowodzą, że podawanie maciorom opisanego preparatu ziołowego miało wpływ na budowę ultrastrukturalną trzustki u prosiąt. Zróżnicowanie komórek w obrębie pęcherzyków trzustki wskazuje, że u zwierząt doświadczalnych większa ich liczba jest zaangażowana w proces wydzielniczy, natomiast obraz ultrastruktury komórek wydzielniczych u tych zwierząt świadczy o intensywniejszym przebiegu procesów tworzenia i dojrzewania. U prosiąt 21-dniowych egzocytoza ziaren zymogenu w aktywnych wydzielniczych komórkach pęcherzykowych jest mocniej wyrażona niż u zwie-

rząt kontrolnych. Obserwowane morfologiczne przejawy procesu wydzielniczego pozwalają na stwierdzenie, że podawany preparat działa stymulująco na kształtowanie w komórkach trzustki pęcherzykowej struktur biorących pośredni i bezpośredni udział w procesie sekrecji. U starszych prosiąt powoduje również intensyfikację procesu egzocytozy. Przejawy te są uważane za oznaki zwiększonej działalności egzokrynnej trzustki (19).

Podsumowując przedstawione wyniki należy stwierdzić, że stanowią one ważne uzupełnienie dotychczasowych obserwacji własnych (11, 12, 13) i wskazują na korzystne oddziaływanie preparatu nie tylko na maciory, którym był on podawany, ale także na ich potomstwo.

Piśmiennictwo

1. *Aller G., Beglinger C.*: Eur. J. Clin. Invest. 20, 27, 1990.
2. *Bakula T.*: Profilaktyczne zastosowanie dodatku łuski nasion z gryki w okolicy porodowym żywieniu loch a syndrom MMA. Praca dokt., AR-T Olsztyn, 1991.
3. *Behrman H. R., Kare M. R.*: J. Physiol. 205, 667, 1969.
4. *Brannon P. M.*: Annu. Rev. Nutr. 10, 85, 1990.
5. *Code C. F.*: N. Engl. J. Med. 296, 1459, 1977.
6. *DiMagno E. P., Go V. L. W., Summerskill W. H. J.*: New Engl. J. Med. 288, 813, 1973.
7. *Flores C. A., Brannon P. M., Bustamante S. A., Bezerra J., Butler K. T.*: J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr. 7, 914, 1988.
8. *Folsch U. R.*: Eur. J. Clin. Invest. 20, 40, 1990.
9. *Frick T. W., Spycher M. A., Heitz P. U., Okagaki T., Goodale R. L.*: Pancreas. 7, 287, 1992.
10. *Gajęcki M.*: Profilaktyczne zastosowanie preparatów zielarskich u macior w okresie okołoporodowym. Prac. hab., AR-T Olsztyn, 1988.
11. *Gajęcki M., Steckiwick J., Bakula T., Zduńczyk E., Przała F., Bogusz A.*: Proc. 13th IPVS Congress, Bangkok, Thailand, 26-30 June 1994, s. 418.
12. *Gajęcki M., Steckiwick J., Przała F., Czarnowska B.*: Mat. Jornadas Intern. Reprod. Anim. Insem. Artif., Salamanca, 2-5 Julio 1992, s. 34.
13. *Gajęcki M., Steckiwick J., Przybylska B.*: Mat. Jornadas Intern. Reprod. Anim. Insem. Artif., Salamanca 2-5 Julio 1992, s. 40.
14. *Giorgi D., Renaud W., Bernard J. P., Dagorn J. C.*: Biochem. Biophys. Res. Commun. 127, 937, 1985.
15. *Grossman M. J., Greengard H., Ivy A. C.*: Am. J. Physiol. 138, 676, 1942.
16. *Holst J. J.*: Eur. J. Clin. Invest. 20, 33, 1990.
17. *Imamura M., Lee K. Y., Song Y., Moriyasu M., Chang R. M., Chey W. Y.*: Gastroenterology 105, 548, 1993.
18. *Imondi A. R., Bird F. H.*: J. Nutr. 91, 421, 1967.
19. *Joekel C. S., Herrington M. K., Vanderhoof J. A., Adrian T. E.*: Int. J. Pancreatol. 13, 1, 1993.
20. *Konturek S.*: Fizjologia układu trawiennego, PZWL, Warszawa 1985, s. 372.
21. *Kozłowski J.*: Wiad. zielarskie. 32, 1990.
22. *Ożarówski A.*: Ziolołecznictwo. PZWL, Warszawa 1982.
23. *Pierzynowski S. G., Thaela M. J., Westrm B. R., Nilsson T., Svendsen J., Karlsson B. W.*: Proc. 13th IPVS Congress, Bangkok, Thailand, 26-30 June 1994, s. 304.
24. *Reboud J. P., Marchis-Mouren G., Cozzone A., Desnuelle P.*: Biochem. Biophys. 24, 94, 1966.
25. *Soll A. H.*: J. Clin. Invest. 65, 1922, 1980.
26. *Thaela M. J., Skon-Jensen M., Pierzynowski S. G., Jakobson K., Westrm B. R., Karlsson B. W.*: Proc. 13th IPVS Congress, Bangkok, Thailand, 26-30 June 1994, s. 490.
27. *Wicker C., Scheele G. A., Puigserver A.*: Biochimie 70, 1277, 1988.
28. *Wickier-Planquart C., Puigserver A.*: FEBS-Lett. 296, 61, 1992.
29. *Valette P., Malouin H., Corning T., Savoie, Gueugneau A. M., Berot S.*: Br. J. Nutr. 67, 215, 1992.

Adres autora: dr hab. prof. AR-T Maciej Gajęcki, ul. Morwowa 16, 10-337 Olsztyn