

УДК 636.598:611.3.018:612.3

Кущ М.М., к.вет.н., доцент[©]**Коновалова Н.І.**, к.вет.н., доцент*Харківська державна зооветеринарна академія***Степченко Л.М.**, к.б.н., доцент*Дніпропетровський державний аграрний університет*

ВПЛИВ ГУМІЛІДУ НА АРГІРОФІЛЬНІ І АРГЕНТАФІННІ ЕНДОКРИННІ КЛІТИНИ КИШЕЧНИКА ГУСЕНЯТ

Досліджували особливості топографії, будови і кількості ендокриноцитів тонкого і товстого відділів кишечника гусенят італійської білої породи під впливом використання кормової добавки гуміліду. Встановлено, що в напрямку від дванадцятапалої до прямої кишки збільшується кількість аргірофільних і зменшується кількість аргентафінних апудоцитів. Згодовування гуміліду сприяє збільшенню живої маси гусей і зменшенню кількості аргірофільних і аргентафінних ендокриноцитів кишечника.

Ключові слова: гусенята, кишечник, гумілід, аргірофільні і аргентафінні клітини, апудоцити, ГЕП-система, морфометрія.

Вступ. Як відомо, функціонування травного апарату, сполучення моторики, секреції і всмоктування регулюється складною системою нервових і гуморальних механізмів. Провідну роль у гуморальній регуляції травних функцій відіграють гастроінтестинальні гормони. Ці речовини продукуються ендокринними клітинами слизової оболонки шлунка і кишечника, підшлункової залози і являють собою пептиди та аміни [8]. Ендокриноцити апарату травлення утворюють гастроenterопанкреатичну ендокринну систему (ГЕП-систему), яка, в свою чергу, є складовою дифузної ендокринної системи (ДЕС-системи). Ендокриноцити ГЕП-системи – апудоцити відіграють провідну роль у регуляції процесів травлення і підтримання гомеостазу організму [7, 17].

Методом Грімелюса виявляють аргірофільні клітини, до складу яких входить майже вся популяція апудоцитів, за винятком клітин, які продукують соматостатин, пептид YY і холецистокінін [7]. Завдяки методу Массона-Гамперля виявляються аргентафінні клітини, або Ес-клітини (ентерохромафінні), які складають близько половини усіх апудоцитів ГЕП-системи. Аргентафінні клітини є основним джерелом утворення екстрапінеального серотоніну і мелатоніну [9, 13, 14].

У рослинництві, тваринництві, гуманній і ветеринарній медицині великий інтерес викликають кормові добавки, які одержують із торфу гумат натрію, гумат калію, гідрогумат, оксигумат тощо, ростостимулюючі, адаптогенні та антитоксичні властивості яких забезпечують широкі можливості використання [4, 12]. Але вони мають різну силу і спектр дії [2], тому необхідні комплексні глибокі дослідження особливостей механізму дії кожної з них,

[©] Кущ М.М., Коновалова Н.І., Степченко Л.М., 2012

причому на різні види тварин. Однією з нових таких добавок є гумілід (ТУ У 15.7-00493675-004:2009), запропонований співробітниками Проблемної лабораторії вивчення гумінових речовин ім. проф. Л.А. Христєвої Дніпропетровського ДАУ (завідувач – професор Л.М. Степченко). Їх головними діючими речовинами є гумінові кислоти, їх натрієві солі, а також фульвокислоти [12]. Гумінові речовини отримують з низовинного осокового, очеретяного або осоко-очеретяного торфу методом лужної екстракції з подальшим висушуванням; мають вигляд дрібнодисперсного порошку темно-коричневого кольору без смаку і запаху [4, 6].

Інформації стосовно особливостей топографії і кількості ендокринних клітин кишечника гусей під впливом згодовування гуміліду ми не знайшли, що й обумовило мету нашої роботи.

Матеріал і методи. Досліди виконували на гусенятах італійської білої породи, яких утримували згідно ВНТП-АПК-05.05 в умовах пташника ХДЗВА. Протягом досліду птиця була клінічно здорова, отримувала стандартний повнорационний комбікорм згідно ДСТУ 4120-2002, мала вільний доступ до води, користувалася пасовищем. Гусенята 1 (контрольної) групи отримували лише основний раціон. Гусенятам 2 (дослідної) групи додатково до основного раціону з 5 до 40 доби вирощування згодовували кормову добавку гумілід у дозі 30 мг на кг ж.м. Для досліджень від 5 голів птиці 60 добового віку з кожної групи відбирали кусочки матеріалу дванадцятипалої, порожньої, ободової, сліпих і прямої кишок, який фіксували у 10% розчині нейтрального формаліну і заливали у парафін. Для виготовлення оглядових препаратів парафінові гістозрізи забарвлювали гематоксиліном і еозином, для виявлення загальної популяції ендокриноцитів кишечника (аргірофільних клітин) використовували метод Гримеліуса [5], аргентафінних клітин – Массона-Гамперля у модифікації Singh [16]. Вміст ендокриноцитів визначали за допомогою окулярної морфометричної сітки з наступним перерахунком на 1 мм^2 площі поперечного зрізу слизової оболонки стінки кишки. На кожному препараті визначали кількість апудоцитів у 30 полях зору [1]. Оцінку статистичної вірогідності кількісних показників проводили за критерієм Ст'юдента з використанням програми Microsoft Excel.

Результати дослідження. На початку досліду середня жива маса гусенят італійської білої породи 1-добового віку дорівнювала $112,90 \pm 1,18$ г. Згодовування з комбікорром гуміліду сприяло збільшенню маси тіла птиці. У віці 60 діб середня жива маса гусенят контрольної групи становила $2868,3 \pm 46,36$ г, дослідної - $3420 \pm 92,16$, що було більше на 19,25 % ($p \leq 0,001$).

Ендокринний апарат кишечника представлений апудоцитами, що розташовані серед інших клітин епітеліального шару слизової оболонки. Аргірофільні клітини добре помітні на світло-жовтому тлі структур слизової оболонки кишечника. Апудоцити розташовані поодиноко, іноді групами з 2-3 клітин, на базальній мембрani, мають переважно овальну, іноді видовжену форму, більш широкий базальний полюс. Великі світлі ядра займають приблизно центральну частину цитоплазми. Базальний полюс містить

інтенсивно забарвлені гранули темно-коричневого кольору. Переважна більшість клітин відокремлена від просвіту трубки кишечника тілами інших ентероцитів, тобто належить до «закритого» типу. У складі дванадцятипалої кишки ендокриноцити локалізовані у нижній третині крипт, у порожній, клубовій – на всій їх глибині, у сліпих і прямій кищці – ще й в епітелії, який вкриває ворсинки.

У 60 добових гусенят контрольної і дослідної груп найбільший вміст аргрофільних клітин виявлено в епітеліальному шарі прямої кишки, де їх кількість становила відповідно $34,5 \pm 0,33$ і $32,75 \pm 1,05$ клітин на 1 mm^2 (табл. 1, рис. 1). Найменша концентрація ендокриноцитів встановлена у порожній кищці – $27,75 \pm 0,63$ і $26,96 \pm 0,68$ клітин на 1 mm^2 відповідно. Загальною закономірністю розташування апудоцитів у кишечнику гусенят було поступове збільшення їх кількості в напрямку від дванадцятипалої до прямої кишки.

Таблиця 1
Кількість апудоцитів в епітелії кишечника гусенят контрольної і дослідної груп, $M \pm m$, $n=5$

Група	Кишка				
	12-пала	порожня	клубова	сліпі	пряма
Аргрофільні ендокриноцити					
контрольна, шт./ mm^2	$29,75 \pm 0,48$	$27,75 \pm 0,63$	$31,75 \pm 0,55$	$29,25 \pm 0,42$	$34,5 \pm 0,33$
дослідна, шт./ mm^2	$28,0 \pm 0,63$	$26,96 \pm 0,68$	$27,5 \pm 0,68^{***}$	$27,75 \pm 0,48^*$	$32,75 \pm 1,05$
Аргентафінні ендокриноцити					
контрольна, шт./ mm^2	$17,92 \pm 0,58$	$17,54 \pm 0,75$	$14,17 \pm 0,50$	$13,76 \pm 0,84$	$14,21 \pm 0,58$
дослідна, шт./ mm^2	$12,42 \pm 0,74^{***}$	$15,00 \pm 0,81^{**}$	$15,01 \pm 0,48$	$12,45 \pm 0,54$	$14,04 \pm 0,75$

Примітка: ** - $p \leq 0,01$; *** - $p \leq 0,001$.

Згодовування гуміліду сприяло зменшенню загальної популяції апудоцитів у всіх кишках. Кількість ендокриноцитів у кишечнику гусенят дослідної групи порівняно з контролем становила: у дванадцятипалій кищці – 94,12 %, порожній – 97,07 %, клубовій – 86,61 % ($p \leq 0,001$), сліпих – 94,87 % ($p \leq 0,05$) і прямій – 94,92 %.

Енteroхромафінні клітини добре помітні на світло-коричневому тлі серед облямівкових ентероцитів і ентероцитів без облямівки та келихоподібних клітин епітеліального шару слизової оболонки кишечника, мають темно-коричневого кольору цитоплазму. Ес-клітини є найбільш численним типом апудоцитів кишечника, що, ймовірно, є закономірним біологічним явищем, яке відображає велику роль серотоніну й мелатоніну в виконанні регуляторних реакцій, як у межах шлунково-кишкового тракту, так і організму в цілому [8, 13, 15]. Відомо, що саме енteroхромафінні клітини кишечника є основним джерелом екстрапінеального серотоніну і мелатоніну. Як встановлено, в кишечнику синтезується майже 95 % всієї кількості цих біологічно активних речовин організму [3, 11].

У складі дванадцятапалої кишки енteroхромафінні апудоцити локалізовані тільки в нижній третині крипт, у порожній і клубовій – на всій їх глибині, в сліпих і прямій кишці виявляються й в епітелії ворсинок. Великі світлі ядра ендокриноцитів займають центральну частину клітини, цитоплазматичні гранули містяться на більш широкому базальному полюсі. За ступенем вмісту гранул можна виділити більш і менш насичені клітини. Ес-клітини відокремлені від просвіту трубки кишечника іншими епітеліоцитами, тобто, належать до «закритого» типу.

У 60 добових гусенят контрольної групи найбільший абсолютний вміст аргентафінних клітин встановлений в епітеліальному шарі слизової оболонки тонкого відділу кишечника, де їх кількість дорівнювала $14,17 \pm 0,50 - 17,92 \pm 0,58$ клітин на 1 mm^2 (див. табл. 1). Найменша концентрація ендокриноцитів виявлена в товстому відділі кишечника – $13,76 \pm 0,84$ клітин у сліпих кишках і $14,21 \pm 0,58$ клітин у прямій кишці. Загальною закономірністю розташування апудоцитів у кишечнику гусенят було поступове зменшення їх кількості у напрямку від дванадцятапалої до прямої кишки.

Відносна кількість аргентафінних апудоцитів була більшою у дванадцятапалій і порожній кишці – 60,24 і 63,20 %, меншою – у клубовій, сліпих і прямій кишці – 44,63 %, 45,94 % і 41,19 % (табл. 2).

Під впливом згодовування гуміліду встановлено зменшення кількості аргентафінних ендокриноцитів – у дванадцятапалій кишці на 31,69 % ($p \leq 0,001$), у порожній кишці – на 14,48 % ($p \leq 0,01$), у сліпих кишках – на 9,52 %.

Відносний вміст аргентафінних апудоцитів у складі загальної популяції ендокринних клітин зменшився в дванадцятапалій і порожній кишці з 60,24 до 44,36 і з 63,20 до 55,64 % і збільшився у клубовій кишці – з 44,63 до 54,58 %.

Таблиця 2

Відносна кількість аргентафінних апудоцитів в епітелії кишечника гусенят контрольної і дослідної груп, $M \pm m$, $n=5$, %

Група	Кишка				
	12-пала	порожня	клубова	сліпі	пряма
Контрольна	60,24	63,20	44,63	45,94	41,19
Дослідна	44,36	55,64	54,58	44,86	42,87

Таким чином, виконане дослідження дозволило виявити особливості топографії і вмісту аргірофільних і аргентафінних ендокриноцитів тонкого і товстого відділів кишечника гусенят, які пов'язані з особливостями їх функціонального значення. Особливістю ендокринного апарату кишечника є висока індивідуальна варіабельність клітинного вмісту, що, ймовірно, пов'язано з його високою функціональною лабільністю.

Висновки:

1. Згодовування гуміліду з 5 по 40 добу вирощування в дозі 30 мг на 1 кг живої маси сприяло збільшенню живої маси гусенят 60-добового віку на 19,25 % ($p \leq 0,001$).

2. Особливістю топографії апудоцитів кишечника гусенят італійської білої породи 60-добового віку є збільшення кількості аргірофільних і зменшення кількості аргентафінних ендокриноцитів у напрямку від дванадцятипалої до прямої кишki.

3. Під впливом згодовування гуміліду спостерігається зменшення загальної популяції клітин ендокринного апарату в усіх кишках тонкого і товстого відділів кишечника гусенят, найбільш виражене в клубовій кишці.

4. Використання гуміліду як кормової добавки викликає зменшення як абсолютної кількості аргентафінних ендокриноцитів кишечника, так і їх відносної кількості у дванадцятипалій і порожній кишках.

Література

1. Автандилов Г. Г. Медицинская морфометрия : руководство / Г. Г. Автандилов. – М. : Медицина, 1990. – 384 с.
2. Грибан В. Г. Використання препаратів гумінової природи для стимуляції резистентності і продуктивності тварин / В. Г. Грибан // Гумінові речовини і фітогормони в сільському господарстві : збірник матеріалів V міжнародної науково-практичної конференції, присв. 50-річчю діяльності наукової лабораторії з гумінових речовин ім. проф. Л.А. Христевої. – Дніпропетровськ, 2010. – С. 171–173.
3. Дорофеев В. М. Сравнительные данные по содержанию серотонина в тканях межлинейных животных / В. М. Дорофеев, В. М. Подсосов // Биология лабораторных животных. – М. : Наука, 1971. – С. 28–30.
4. Лотош Т. Д. Гумат натрия из торфа как фактор повышения неспецифической резистентности организма : автореф. дис... ... канд. бiol. наук : 03.00.13 / Т. Д. Лотош. – Львов, 1985. – 19 с.
5. Микроскопическая техника : Руководство / Под ред. Д. С. Саркисова и Ю. Л. Перова. – М. : Медицина, 1996. – 544 с.
6. Муляк Г. М. Терапевтическая эффективность гумата натрия при диспепсии телят / Г. М. Муляк, С. В. Муляк, Ю. М. Семенец // Тканевая терапия: тезисы научной конференции «Применение тканевых препаратов в медицине и ветеринарии». – Одесса, 1983. – Ч. 2. – С. 85–86.
7. Райхлин Н. Т. АПУД-система: структура, функция, патология / Н. Т. Райхлин // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 1997. – № 3. – С. 34–36.
8. Регуляция антиоксидантного гомеостаза и системы детоксикации организма гормоном мелатонином. роль мелатонин-зависимых рецепторов в реализации этой функции [Електронний ресурс] / И. Ф. Беленичев, Ю. И. Губский, Е. Л. Левицкий, С. И. Коваленко, А. Н. Марченко // Режим доступу : http://www.medved.kiev.ua/arhiv_mg/st_2003/03_2_2.htm. – Назва з екрану.
9. Свечников К. В. Периферическая серотониновая система при некоторых физиологических состояниях и стрессе : автореф. дис. ... канд. мед. наук / К. В. Свечников. – Новосибирск, 1988. – 17 с.
10. Серотонинпродуцирующие клетки в периоды нормо- и гипотермии / Л. В. Шестопалова, М. С. Виноградова, О. Н. Пономарёва, Е. В. Дубинин //

Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1993. – № 2. – С. 119–122.

11. Симоненков А. П. Общность клинических проявлений синдрома серотониновой недостаточности и интоксикационного синдрома / А. П. Симоненков, В. Д. Фёдоров // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1997. – Т. 123, № 6. – С. 604–613.

12. Степченко Л. М. Роль гуминовых препаратов в управлении обменными процессами при формировании биологической продукции сельскохозяйственных животных / Л. М. Степченко // Досягнення та перспективи застосування гумінових речовин у сільському господарстві : матеріали міжнар. наук.-практ. конф. – Дніпропетровськ, 2008. – С. 70–74.

13. Уголев А. М. Гормоны пищеварительной системы: физиология, патология, теория функциональных блоков / А. М. Уголев, О. С. Радиль. – М. : Наука, 1995. – 283 с.

14. Шварева О. А. Серотонинпродуцирующие клетки в двенадцатиперстной кишке сибирского бурундуга в различных сезонных условиях / О. А. Шварева, М. С. Виноградова, Л. В. Шестопалова // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2007. – Т. 131, № 6. – С. 709–712.

15. Ponti F. De Pharmacology of serotonin: what a clinician should know / F. De Ponti // Gut. – 2004. – № 53. – P. 1520–1535.

16. Singh I. A. A modification of the Masson- Hamperl method for staining of argentaffin cells / I. A. Singh // Anat. Anz. – 1964. – Bd. 115. – H. 1. – S. 81–82.

17. Yamada J. The relative frequency and topographical distribution of somatostatin-, GRP-, glucagon-, 5-HT-, and neurotensin-immunoreactive cells in the proventriculus of seven species of birds / J. Yamada, N. Kitamura, T. Yamashita // Arch. Histol. Jap. – 1985. – Vol. 48, № 3. – P. 305–314.

Summary

Kushch M.M., Konovalova N.I., Stepchenko L.M.

THE INFLUENCE OF GUMYLYD ON ARGYROPHILIC AND ARGENTAFFIN CELLS OF GOSLINGS' GUT

The topography, amount and microstructure of endocrine cells of small and large gut of Italic white breed goslings under food additives Gumylyd have been studied. The amount argiophilic cells increases and amount argentaffin cells diminish from duodenum to rectum has been established. Feeding Gumylyd promotes to increase of goslings body weight and diminishing amount argiophilic and argentaffin cells of gut.

Key words: goslings, gut, argiophilic and argentaffin cells, APUD cells, GEP-system, morphometric.

Рецензент – д.вет.н., професор Коцюмбас Г.І.