

УДК 636.598:611.3.018:612.3

Кущ М.М., к.вет.н., доцент[©]

Харківська державна зооветеринарна академія, М. Данилівка, Україна

ВПЛИВ ГУМІЛІДУ НА ПРИРІСТ ЖИВОЇ МАСИ І СТАН ЕНДОКРИННОГО АПАРАТУ КИШЕЧНИКА МОЛОДНЯКУ ГУСЕЙ

Визначали живу масу, топографію і кількість ендокриноцитів в епітеліальному шарі слизової оболонки дванадцятиталої, порожньої, клубової, сліпих і прямої кишок молодняку гусей великої сірої породи 8-місячного віку під впливом використання ріст стимулюючої кормової добавки гуміліду. Для оцінки загальної кількості ендокриноцитів (аргірофільних клітин) застосовували реакцію за Грімеліусом, популяції аргентафінних (энтерохромафінних, Ес-клітин) – реакцію за Массоном-Гамперлем у модифікації Singh. Встановлено, що згодовування гуміліду з 180 до 200 доби вирощування сприяє зменшенню живої маси птиці у 8-місячному віці на 5,68 %. У дванадцятиталій кишці апудоцити виявляються переважно в нижній третині кріпт, у напрямку до прямої кишки – на всій їх глибині, а також і у ворсинках. Ендокриноцити лежать на базальній мембрані, великі світлі ядра займають їх центральну частину, цитоплазма містить гранули темно-коричневого кольору. Загальною закономірністю гістотопографії апудоцитів кишечника гусей є збільшення кількості аргірофільних і аргентафінних ендокриноцитів у напрямку від дванадцятиталої до прямої кишки і зменшення відносного вмісту Ес-клітин. За дії речовин гумінової природи спостерігали зменшення кількості аргірофільних і аргентафінних ендокриноцитів в усіх кишках кишечника відповідно на 2,67 – 27,25 % і 4,14 – 34,56 %, найбільш виражене в клубовій і прямій кишках.

Ключові слова: гуси, ріст, жива маса, кишечник, гумілід, аргірофільні і аргентафінні клітини, апудоцити, ГЕП-система.

УДК 636.598:611.3.018:612.3

Кущ Н.Н., к.вет.н., доцент

Харьковская государственная зооветеринарная академия, М. Даниловка

ВЛИЯНИЕ ГУМИЛИДА НА ПРИРОСТ ЖИВОЙ МАССЫ И СОСТОЯНИЕ ЭНДОКРИННОГО АППАРАТА КИШЕЧНИКА МОЛОДНЯКА ГУСЕЙ

Определяли живую массу, топографию и количество эндокриноцитов в эпителиальном слое слизистой оболочки двенадцатиперстной, тощей, подвздошной, слепых и прямой кишок молодняка гусей крупной серой породы 8-месячного возраста под действием ростстимулирующей кормовой добавки гумилид. Для оценки общего количества эндокриноцитов (аргиофильных клеток) применяли реакцию Гримелиуса, популяции аргентафинных (энтерохромафинных, Ес-клеток) – реакцию Массона-Гамперля в модификации

Singh. Установлено, что скармливание гумилида с 180 по 200 сутки выращивания способствует постепенному уменьшению живой массы птицы в 8-месячном возрасте на 5,68 %. В двенадцатiperстной кишке апудоциты расположены преимущественно в нижней трети крипт, в других кишках по направлению к прямой кишке – на всей их глубине, а также и в ворсинках. Эндокриноциты лежат на базальной мембране, большие светлые ядра занимают их центральную часть, цитоплазма содержит гранулы темно-коричневого цвета. Общей закономерностью гистотопографии апудоцитов кишечника гусей является увеличение количества аргирофильных и аргентрафиновых эндокриноцитов в направлении от двенадцатiperстной к прямой кишке и уменьшение относительного количества Ec-клеток. Под влиянием веществ гуминовой природы наблюдается уменьшение количества аргирофильных и аргентрафиновых эндокриноцитов во всех кишках кишечника соответственно на 2,67-27,25 % и 4,14-34,56 %, наиболее выраженное в подвздошной и прямой кишках.

Ключевые слова: гуси, рост, живая масса, кишечник, гумилид, аргирофильные и аргентрафиновые клетки, апудоциты, ГЭП-система.

UDC: 636.598:611.3.018:612.3

Kushch M.M.

Kharkiv state zooveterinary academy, M. Danylivka, Ukraine

THE INFLUENCE OF GUMILID ON BODY WEIGHT AND STATUS ENDOCRINE APPARATUS OF SAPLING GEESE'S GUT

The body weight and topography and amount of endocrine cells of the epithelial layer of intestine mucose of duodenum, jejunum, ileum, caecum and rectum of large grey breed geese of 8-month age under the influence of growth-stimulating food additive Gumylyd have been studied. To estimate the total number of endocrine cells (argyrophilic cells) it used Grimelius reaction, population of argentaffin (enterochromaffin, Ec-cells) – Masson-Gamperl reaction modified by Singh.). It has been found out that feeding Gumilid from 180 to 200 day growing promotes to the gradual diminish of body weight of poultry in 8 months of age on 5.68 %. In the duodenum apud cells located mainly in the lower third of the crypts, in other intestines toward the rectum – along their whole depth and in villi. Endocrinocytes lie on the basement membrane, large light nuclei occupy the central part of their cytoplasm, contain granules of dark brown color. General feature of apud cells histotopography of geese gut to increase the amount of argyrophilic and argentaffin endocrine cells was the direction from the duodenal to the rectum and diminish of the relative amount of Ec-cells. Under the influence of humic substances, the decrease of the number of argyrophilic and argentaffin endocrine cells in all guts intestine, respectively 2.67-27.25 % and 4.14-34.56 %, the most expressed in the ileum and colon.

Key words: гусе, рост, живая масса, кишечник, Гумилид, аргирофильные и аргентрафиновые клетки, апудоциты, ГЭП-система.

Вступ. У тваринництві, гуманній і ветеринарній медицині значний інтерес викликають речовини гумінової природи, які одержують із торфу – гумати натрію і калію, гідрогумат, оксигумат тощо, рістстимулюючі та адаптогенні властивості яких забезпечують широкі можливості використання [6, 12]. У той же час, деякі дослідники повідомляють про відсутність рістстимулюючого впливу речовин гумінової природи на організм сільськогосподарських тварин [13]. В іншому випадку, поряд із збільшенням живої маси свиноматок спостерігали зменшення їх відтворювальної функції [17]. Згідно з даними роботи [7], ефект дії фізіологічно активних речовин залежить від стадії біологічних ритмів організму, під час якої застосовують рістстимулюючі кормові добавки. Враховуючи, що кормові добавки і препарати гумінової природи мають різні спектр і силу дії, необхідні комплексні глибокі дослідження особливостей механізму дії кожного з них, причому на різні види тварин [3].

Однією з нових таких добавок є гумілід (ТУ У 15.7-00493675-004:2009), запропонований співробітниками Проблемної лабораторії вивчення гумінових речовин імені проф. Л.А. Христєвої Дніпропетровського ДАУ (автор – професор Л.М. Степченко). Головними діючими речовинами гуміліду є гумінові кислоти та їх натрієві солі, а також фульвокислоти [12]. Гумінові речовини мають вигляд дрібнодисперсного порошку темно-коричневого кольору без смаку і запаху. Їх одержують з низовинного осокового, очеретяного або осоко-очеретяного торфу методом лужної екстракції [9].

Як відомо, процеси перистальтики, секреції і всмоктування поживних речовин в апараті травлення регулюються складною системою нервових і гуморальних механізмів. Провідну роль у гуморальній регуляції травних функцій відіграють гастроінтестинальні гормони, які являють собою пептиди й аміни. Ці речовини продукують ендокринні клітини слизової оболонки шлунка, кишечника і підшлункової залози, які контролюють фізіологічні процеси через нейрокринний, ендокринний та паракринний механізми дії [16]. Ендокриноцити апарату травлення утворюють гастроентеропанкреатичну ендокринну систему (ГЕП-систему), яка, в свою чергу, є найбільш великою складовою частиною дифузної ендокринної системи (ДЕС-системи). Крім провідної ролі у регуляції процесів травлення, ендокриноцити ГЕП-системи – апудоцити беруть активну участь у підтриманні гомеостазу організму [22].

Методом Грімеліуса виявляють аргірофільні клітини, до складу яких входить майже вся популяція апудоцитів, за винятком невеликої кількості ендокриноцитів, які продукують соматостатин, пептид YY і холецистокінін [15]. Завдяки методу Массона-Гамперля виявляють аргентафінні клітини, або Ес-клітини (ентерохромафінні), які складають близько половини усіх апудоцитів ГЕП-системи. Реакція Масона є специфічною тільки для серотоніну [4, 5, 10]. Клітинам, що синтезують серотонін, соматостатин і глюкагон, належить особлива роль у морфофункціональному статусі ГЕП-системи [14].

Метою роботи було дослідження впливу згодовування гуміліду на інтенсивність росту і вміст аргірофільних і аргентафінних ендокриноцитів в епітелії слизової оболонки кишечника молодняку гусей.

Матеріал і методи. Досліди виконували на гусях великої сірої породи 6-8-місячного віку, яких утримували згідно з ВНТП-АПК-05.05 в умовах пташника ХДЗВА. Протягом досліду птиця була клінічно здорована, отримувала стандартний повнорационний комбікором згідно ДСТУ 4120-2002, мала вільний доступ до води, користувалася пасовищем. Гуси контрольної групи отримували лише основний раціон. Гусям дослідної групи додатково до основного раціону з 180 до 200 доби вирощування згодовували кормову добавку гумілід у дозі 30 мг на кг ж.м. Для гістологічних досліджень від 5 голів птиці 8-місячного віку з кожної групи відбирали кусочки матеріалу із середньої частини 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 (аргірофільних клітин) використовували метод Грімеліуса [11], аргентафінних клітин – Массона-Гамперля у модифікації Singh [21]. Вміст ендокриноцитів визначали за допомогою окулярної морфометричної сітки з наступним перерахунком на 1 мм^2 площині поперечного зрізу слизової оболонки стінки кишки. На кожному препараті визначали кількість апудоцитів у 30 полях зору [1]. Оцінку статистичної вірогідності кількісних показників здійснювали за критерієм Ст'юдента з використанням програми Microsoft Excel.

Результати дослідження. На початку досліду середня жива маса гусей 180-добового віку у контрольній групі дорівнювала $4844,0 \pm 79,51$ г, у дослідній – $4873,0 \pm 54,60$ г. За умови згодовування з комбікором гуміліду спостерігали поступове зменшення маси тіла птиці. У віці 240 діб середня жива маса гусей контрольної групи становила $5188,0 \pm 89,62$ г, дослідної – $4895,0 \pm 66,93$ г, що було менше на 5,68 % ($p \leq 0,05$).

У попередньому нашому дослідженні [6] було встановлено збільшення живої маси гусенят на 19,25 % ($p \leq 0,001$) у 60-добовому віці за використання гуміліду з 5 по 40 добу вирощування у запропонованій нами дозі. Ефект гальмування росту молодняку гусей у 6-8-місячному віці під впливом гуміліду, ймовірно, можна пояснити тим, що біологічно активні речовини гуміліду стимулюють найбільш важливі в конкретний період розвитку фізіологічні процеси організму. У період 6-8 місяців процеси активного росту, збільшення маси тіла майже завершилися. Але домінуючими в даний віковий період життя птиці є процеси розвитку органів статевого апарату. На необхідність враховувати вік птиці під час використання гумінових препаратів звертає увагу ряд дослідників [12]. На суперечливий характер двох взаємно пов'язаних процесів розвитку організму – росту і диференціації вказує І.І. Шмальгаузен: "Посилена диференціація пов'язана з падінням росту і, навпаки, під час особливо швидкого росту диференціювання йде повільно" [18]. Явище антагонізму, протиріччя може бути виражене настільки різко, що спостерігається навіть тимчасове виключення то одного, то іншого процесу [2].

За результатами гістохімічних досліджень встановлено, що ендокриноцити кишечника гусей знаходяться серед інших клітин епітеліального шару слизової оболонки. Апудоцити частіше розташовані поодиноко, мають переважно овальну форму. Їх великі світлі ядра округлої

форми займають центральну частину цитоплазми. Базальний полюс клітин містить інтенсивно забарвлени секреторні включення темно-коричневого кольору. Більшість апудоцитів відокремлена від просвіту трубки кишечника іншими ентероцитами. У дванадцятипалій кишці ендокриноцити містяться у нижній третині крипт, у порожній, клубовій – на всій їх глибині, у сліпих і прямій кишці – також і в епітелії ворсинок.

У 8-місячних гусей контрольної і дослідної груп найбільша кількість аргірофільних клітин виявляється в епітелії прямої кишки, де їх вміст становив відповідно $79,0 \pm 3,54$ і $57,8 \pm 5,75$ клітин на 1 mm^2 (табл. 1). Найменша концентрація ендокриноцитів встановлена у сліпих кишках – $14,5 \pm 0,24$ і $13,9 \pm 2,14$ відповідно. Загальною закономірністю гістотопографії аргірофільних клітин було збільшення їх кількості в напрямку від дванадцятипалої до прямої кишки.

Таблиця 1

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

Група	Кишка				
	дванадцяти пала	порожня	клубова	сліпі	пряма
Аргірофільні ендокриноцити					
контрольна, шт./ mm^2	$42,0 \pm 1,52$	$45,0 \pm 3,51$	$56,0 \pm 5,84$	$42,2 \pm 6,69$	$79,0 \pm 3,54$
дослідна, шт./ mm^2	$36,3 \pm 3,53$	$43,8 \pm 6,25$	$30,7 \pm 4,51^{**}$	$37,0 \pm 3,51$	$57,8 \pm 5,75^*$
Аргентафінні ендокриноцити					
контрольна, шт./ mm^2	$29,0 \pm 3,22$	$29,8 \pm 2,45$	$26,1 \pm 0,47$	$14,5 \pm 0,24$	$38,8 \pm 2,32$
дослідна, шт./ mm^2	$21,8 \pm 2,36$	$19,5 \pm 3,04^*$	$17,5 \pm 2,53$	$13,9 \pm 2,14$	$29,5 \pm 2,72^*$

Примітка: * - $p \leq 0,05$; ** - $p \leq 0,01$ відносно до контролю.

За умови згодовування гуміліду спостерігали зменшення загальної кількості апудоцитів, що виявлялися завдяки забарвленню гранул, у всіх кишках. Кількість аргірофільних ендокриноцитів у кишечнику гусей дослідної групи порівняно з контролем була становила: у дванадцятипалій кишці 86,43 %, порожній – 97,33 %, клубовій – 72,75 % ($p \leq 0,01$), сліпих – 87,68 % і прямій – 73,16 % ($p \leq 0,05$), тобто була меншою на 2,67 – 27,25 %.

Завдяки великому вмісту гранул темно-коричневого кольору Ес-клітини добре помітні серед інших клітин епітеліального шару слизової оболонки кишечника. Енteroхромафінні клітини є найбільш численним типом апудоцитів кишечника, що відображає значну роль серотоніну й мелатоніну в виконанні регуляторних реакцій, як у межах травної трубки, так і всього організму [5, 20].

У дванадцятипалій кишці енteroхромафінні апудоцити, як і аргірофільні, виявляються в нижній третині крипт, в інших кишках тонкого відділу – порожній і клубовій – за всю їх глибиною, а в сліпих і прямій кишці виявляються також в епітелії ворсинок. Їх секреторні включення знаходяться на широкому базальному полюсі.

У 8-місячних гусей контрольної групи найменша кількість аргентафінних клітин виявлена в епітеліальному шарі слизової оболонки сліпих кишок, де їх кількість становила $14,5 \pm 0,24$ клітин на 1 mm^2 (див. табл. 1). Найбільший вміст ендокриноцитів виявлений у прямій кишці – $38,8 \pm 2,32$. Загальною закономірністю гістотопографії апудоцитів у кишечнику гусей було поступове збільшення їх кількості у напрямку від дванадцятипалої до прямої кишки. За аналогічне збільшення кількості апудоцитів у стінці кишечника амфібій, людини вказують інші дослідники [8, 10].

Відносна кількість аргентафінних апудоцитів була більшою у тонкому відділі кишківника – у дванадцятипалій, порожній і клубовій кишках відповідно $69,05$; $66,22$ і $46,61$ %, меншою – у сліпих і прямій кишці – $34,36$ і $36,46$ % (табл. 2). Одержані нами дані співпадають з інформацією стосовно переважаючого вмісту Ес-клітин у складі всієї ендокриноклітинної популяції кишечника людини [19].

Таблиця 2
Відносна кількість аргентафінних апудоцитів в епітелії кишечника молодняка гусей контрольної і дослідної груп, %

Група	Кишка				
	12-пала	порожня	клубова	сліпі	прима
Контрольна	69,05	66,22	46,61	34,36	36,46
Дослідна	60,01	44,52	57,00	37,57	40,66

За умови згодовування гуміліду встановлено зменшення кількості аргентафінних ендокриноцитів, що виявлялися завдяки вмісту гранул – у дванадцятипалій кишці на $24,83$ %, у порожній кишці – на $34,56$ % ($p \leq 0,05$), у клубовій кишці – на $32,95$ %, сліпих кишках – на $4,14$ % і прямій кишці – на $23,97$ % ($p \leq 0,05$).

Відносний вміст аргентафінних апудоцитів у складі загальної популяції ендокринних клітин зменшився в дванадцятипалій і порожній кишці з $69,05$ до $60,01$ % і з $66,22$ до $44,52$ % і збільшився у клубовій кишці – з $46,61$ до $57,00$ %, у сліпих кишках – з $34,36$ до $37,57$ % і прямій кишці – з $36,46$ до $40,66$ %.

Таким чином, виконане дослідження дозволило виявити гальмівний вплив гуміліду на ріст маси тіла молодняку гусей у 6-8-місячному віці, а також зменшення вмісту ендокриноцитів кишечника, що виявляються за гістохімічних реакцій.

Висновки:

1. Згодовування гуміліду з 180 по 200 добу вирощування в дозі 30 мг на 1 кг ж.м. сприяло зменшенню живої маси молодняку гусей 8-місячного віку на $5,68$ % ($p \leq 0,05$).

2. Загальною закономірністю гістотопографії апудоцитів кишечника гусей 8-місячного віку є збільшення кількості аргрофільних і аргентафінних ендокриноцитів у напрямку від дванадцятипалої до прямої кишки і зменшення відносного вмісту Ес-клітин.

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 і прямій кишках.

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

Перспективи подальших досліджень. Перспективним є дослідження впливу використання ріст стимулюючих кормових добавок у період статевого дозрівання на розвиток органів статевого апарату птиці, а також стану ендокриноцитів кишечника за вмістом і розташуванням секреторних гранул з метою оцінки їх функціонального стану.

Література

1. Автандилов Г. Г. Медицинская морфометрия : руководство / Г. Г. Автандилов. – М. : Медицина, 1990. – 384 с.
2. Алпатов В. В. Среда и рост животных / В. В. Алпатов // Рост животных. – 1935. – М. – С. 326-366.
3. 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 імені проф. Л.А. Христевої. – Дніпропетровськ, 2010. – С. 171–173.
4. Дерижанова И. С. Опухоли диффузной эндокринной системы – карциноиды / И. С. Дерижанова. – Ростов-на-Дону, 1991. – 285 с.
5. 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.
6. Ендокринный аппарат кишечника гусей під впливом згодовування гуміліду / М. М. Кущ [та ін.] // Науковий вісник Луганського національного університету. Серія Ветеринарні науки. – Луганськ : Елтон-2, 2012. – № 40. – С. 108-111.
7. Зарытовский А. И. Ритмичность роста цыплят-бройлеров / А. И. Зарытовский // Физиологические, морфологические и биохимические показатели у продуктивных животных. – Ставрополь, 1984. – С. 39-43.
8. Костюкевич С. В. Гистотопография эндокринных клеток эпителия слизистой оболочки толстой кишки у млекопитающих животных и человека / С. В. Костюкевич // Цитология. – 2004. – Т. 46. – № 8. – С. 714–718.
9. Лотош Т. Д. Гумат натрия из торфа как фактор повышения неспецифической резистентности организма : автореф. дис... ... канд. биол. наук : 03.00.13 / Т. Д. Лотош. – Львов, 1985. – 19 с.
10. Матвеева О. Н. Эндокринный аппарат эпителия слизистой оболочки тонкой кишки летней травяной лягушки / О. Н. Матвеева // Морфология. – 1998. – Т. 113. – № 2. – С. 88-94.
11. Микроскопическая техника : Руководство / Под ред. Д. С. Саркисова и Ю. Л. Перова. – М. : Медицина, 1996. – 544 с.
12. Опыт применения препаратов из торфа в технологии выращивания птицы в зависимости от возраста / Л. М. Степченко, Е. А. Лосева, М. В. Скорик,

- Е. В. Гончарова // Торф в решении проблем энергетики, сельского хозяйства и экологии. – Минск, 2006. – С. 146-148.
13. Провоторова В. Г. К вопросу влияния гумата натрия на животных / В. Г. Провоторова // Материалы докладов Всесоюзной научной конференции, посвящённой 90-летию Казанского ветеринарного института. – Казань, 1963. – С. 346.
14. Пузырев А. А. Гастроэнтеропанкреатическая система (развитие, строение, регенерация) / А. А. Пузырев, В. Ф. Иванова // Морфология. – 1992. – Т. 102, вып. 1. – С. 5-28.
15. Райхлин Н. Т. АПУД-система: структура, функция, патология / Н. Т. Райхлин // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 1997. – № 3. – С. 34–36.
16. Свечников К. В. Периферическая серотониновая система при некоторых физиологических состояниях и стрессе : автореф. дис. ... канд. мед. наук / К. В. Свечников. – Новосибирск, 1988. – 17 с.
17. Сокрут В. И. Влияние физиологически активных веществ, получаемых из торфа, на рост молодняка крупного рогатого скота и свиней / В. И. Сокрут, В. Т. Вертушков, П. П. Кротов // Гуминовые удобрения. Теория и практика их применения : сборник научных трудов. – Днепропетровск, 1977. – Т. 6. – С. 116-119.
18. Шмальгаузен И. И. Организм как целое в индивидуальном и историческом развитии / И. И. Шмальгаузен. – М. : Академия наук СССР, 1938. – 144 с.
19. Luis F. / F. Luis, J. C. Thompson // Gastroenterology. – 1988. – Vol. 94. – № 3. – P. 832-844.
20. Ponti F. De Pharmacology of serotonin: what a clinician should know / F. De Ponti // Gut. – 2004. – № 53. – P. 1520–1535.
21. 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.
22. Yamada J. The relative frequency and topographical distribution of somatostatin-, GRP-, glucagon-, 5-HT-, and neuropeptide-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.

Рецензент – д.вет.н., професор Стояновський В.Г.