

УДК 619:636.5:611.18:615.9:615.1
**ЗМІНИ ГІСТОМОРФОЛОГІЧНОЇ СТРУКТУРИ ПЕЧІНКИ ТА СЕЛЕЗІНКИ
КУРЕЙ-НЕСУЧОК ЗА УМОВИ ТРИВАЛОГО НАДХОДЖЕННЯ НАДЛИШКУ
СЕЛЕНУ ТА ВІТАМІНУ Е З КОРМОМ**

Куцан О.Т., Шутченко П.О., Медвідь К.О., Оробченко О.Л.
Національний науковий центр «Інститут експериментальної
і клінічної ветеринарної медицини», м. Харків

Установлено, що п'ятиразове збільшення добавок до раціону селену (у вигляді селеніту натрію) та вітаміну Е за умови тривалого застосування призводить до морфологічних змін у печінці (порушення балочної структури печінки, вакуолізація цитоплазми гепатоцитів, руйнування ядер) та селезінці (розширення периартеріальних лімфоїдних муфт).

Про негативні ефекти, спричинені сполуками селену, свідчать дані, отримані в останні роки різними вченими. До таких ефектів відносять гістологічні зміни в гепатоцитах (внутрішньоклітинний набряк та накопичення жирів), вакуольну дистрофію в тубулярному епітелії нирок [1, 2], цироз печінки, спленомегалію, збільшення підшлункової залози, анемію, гіпербілірубінемію [3], асцит, гідроторакс, жирове переродження печінки з вогнищами некрозу, мідегенерацію серця, жовтушність слизових. Але відсутні дані щодо комплексного впливу селену з вітаміном Е, зокрема, на печінку та селезінку птиці. Досліджено гістологічну структуру печінки курей [4], а також структуру органів водоплавної птиці [5] за умов селенового токсикозу. Нашими попередніми дослідженнями [6] встановлено, що сумісне тривале застосування вітаміну Е та селену призводить до видимих патологоанатомічних змін у печінці та селезінці та вірогідного збільшення маси цих органів.

Тому метою наших досліджень було вивчити особливості гістоморфологічної структури печінки та селезінки курей-несучок за умови тривалого сумісного надходження селену та вітаміну Е з кормом.

Матеріали і методи. Експериментальні дослідження проводили на базі відділу токсикології, безпеки та якості сільськогосподарської продукції та лабораторії патоморфології й імунології ННЦ «ІЕКВМ». Як об'єкт дослідження використовували курей батьківського поголів'я породи «Бірківська барвіста» (n = 45). Однакову за віком і розвитком дорослу птицю перед початком досліду розділили на три групи по 15 курей у кожній. Для годівлі птиці використовували «Суміш кормову КС 1-22» (основний раціон), згідно з нормами годівлі курей яєчного напрямку. Вміст вітаміну Е та селену в основному раціоні визначали експериментально [7, 8].

Дози препаратів, які використовували у досліді (таблиця), були обрані, спираючись на попередньо проведені нами дослідження [9, 10]: перша група була контрольною – птиця отримувала комбікорм без добавок, птиця другої групи одержувала добавку до основного раціону вітаміну Е – 200 г/т і селену – 0,2 г/т корму, птиця третьої групи одержувала добавку до основного раціону вітаміну Е – 1000 г/т і селену – 1,0 г/т корму. Вітамін Е застосовували у вигляді 30 %-вого олійного розчину токоферолу ацетату, селен – у вигляді порошку селеніту натрію, вміст мікроелементу в якому складав 45 %. Добавки вітаміну Е і селену згодовували протягом 47 діб.

Упродовж проведення досліду за птицею вели клінічні спостереження [11]. На 47 добу курей декапітували після попереднього хлороформного наркозу.

Проводили патологоанатомічний розтин забитих курей [12], визначали післязабійну масу птиці та коефіцієнти маси печінки та селезінки. Далі проби печінки та селезінки зафіксували у 10 % розчині нейтрального формаліну з подальшою заливкою у парафін. Гістопрепарати готували за стандартними методиками, прийнятими у гістоморфологічних дослідженнях, фарбували гематоксилін-еозином [13].

Результати досліджень наведені відповідно до Міжнародної системи одиниць, рекомендованої для використання у клінічній та лабораторній практиці і статистично оброблені на ПК з використанням пакету програм Microsoft Excel, вірогідність одержаних результатів оцінювали за критерієм Стьюдента.

Таблиця – Дози препаратів вітаміну Е та селену, що застосовували в досліді на курях-несучках

Дози		Групи		
		Контроль (фон)	Дослідні	
			I	II
دوزи на кг маси, мг/кг	вітамін Е	5,66	19,0	72,33
	селен	0,125	0,130	0,153
добові дози, мг/добу/птицю	вітамін Е	10,2	34,2	130,2
	селен	0,224	0,235	0,276
دوزи на кг корму, мг/кг	вітамін Е	85	285	1085
	селен	1,95	2,04	2,40

Результати дослідження. Клінічні спостереження за птицею протягом 47 діб показали, що загальний стан організму птиці як контрольної, так і дослідних груп був задовільний, тобто кури були рухливі, добре споживали корм і воду.

При патологоанатомічному розтині тушок курей у кінці терміну згодовування препаратів вітаміну Е та селену виявлені наступні органічні зміни. Характерним для тушок курей II групи була мала кількість жирової тканини. У 9-ти курей II дослідної групи (60 %) селезінка була збільшена в об'ємі, щільна, сіро-червоного кольору, на розрізі добре помітні потовщені капсула та трабекули, в 7 курей з групи (50 %) печінка була збільшена в об'ємі, глинистого кольору, м'якої, тістуватої консистенції.

Характерним для тушок курей III групи була велика кількість жирових відкладень. У курей III дослідної групи селезінка була не збільшена в об'ємі, дрябла, темно-червоного кольору. У 10 курей цієї групи (67 %) печінка була збільшена в об'ємі, глинистого кольору, м'якої, тістуватої консистенції, масна на дотик. На розрізі помітні краплинки жиру. На лезі ножа залишався жирний наліт. Жовчний міхур був збільшений в об'ємі у 7 курей (50 % групи).

Вірогідні зміни відмічені при розрахунках коефіцієнтів маси внутрішніх органів курей-несучок. У II дослідній групі коефіцієнт маси печінки був вищим за контроль на 10 %, а селезінки – на 30 %. У III дослідній групі коефіцієнт маси печінки вірогідно не відрізнявся від контролю, тоді як коефіцієнт маси селезінки був нижчим на 10 %.

При гістоморфологічному дослідженні печінки та селезінки курей нами були встановлені наступні зміни:

Птиця контрольної групи. У 50 % курей гістологічна будова печінки відповідала нормі (рис. 1а). Гепатоцити мали рівномірне зафарбування та чітко виражені ядра.

У 35 % зразків спостерігалися переважно гепатоцити нормальної будови, на фоні яких вирізнялися дистрофічно змінені ділянки розміром 100×150 мкм.

У 15 % курей печінка була дистрофічно зміненою. Межі клітин були не чіткими, цитоплазма й ядра зафарбовувались не інтенсивно. Спостерігали вакуолізацію цитоплазми гепатоцитів.

Гістологічна будова селезінки в усіх курей групи відповідала нормі. Лімфоїдні вузлики виявлялися лише в одному зразку. Периартеріальні лімфоїдні муфти були неширокими – 30–50 мкм (рис. 2 а).

Птиця II групи, якій додавали у комбікорм вітамін Е 200 г/т і селен 0,2 г/т. Гістологічна будова печінки у 35 % курей відповідала нормі. Балочна структура була чіткою, гепатоцити мали чіткі межі, інтенсивно зафарбоване ядро та цитоплазму.

У 47 % курей спостерігали дистрофію органу (рис. 1 б). Балочна структура була невиражена, межі клітин нечіткі. Відзначалася велика кількість зруйнованих ядер, інтенсивність фарбування цитоплазми була слабкою.

У 18 % зразків печінки виявляли деяку кількість клітин у стані руйнування або мали дистрофічно змінені ділянки розміром 150×300 мкм.

Слід зазначити, що постійно виявлялися інфільтрати мононуклеарів, головним чином, біля судин великого діаметру. Також вони інфільтрували й їхні стінки, іноді виходячи в просвіт. Такі інфільтрати зустрічалися як у нормальній, так і в дистрофічно зміненій печінці.

Гістологічна будова селезінки в усіх курей групи відповідала нормі, але відзначалися численні периартеріальні лімфодні муфти, переважно шириною 30 мкм, іноді 50 мкм (рис. 2б), а також гермінативні фолікули розміром 50×75 мкм, 50×100 мкм і 100×150 мкм (лише у двох зразках).

Птиця III групи, якій у комбікорм додавали вітамін Е 1000 г/т і селен 1,0 г/т. У 34 % курей гістологічна будова печінки відповідала нормі. Балочна структура була чітко виражена, гепатоцити з чіткими ядрами та вираженою цитоплазмою, інфільтрати відсутні.

У 50 % досліджених зразків печінки відзначалися зміни гепатоцитів: цитоплазма клітин була світлою без чітких меж, спостерігалися зруйновані ядра. Внаслідок таких змін балочна структура порушувалася. Спостерігалися скупчення мононуклеарів біля судин венозного типу. В окремих гістозрізах зустрічалися локальні ураження печінки розміром 300×300 мкм з дистрофічно зміненими гепатоцитами, які мали світлу пінисту цитоплазму.

У 16 % зразків відзначалися обширні ураження (рис. 1 в). Вся тканина була в стані дистрофії. Печінкові балки зруйновані, цитоплазма гепатоцитів світла, піниста з вакуолями. Відзначалися скупчення мононуклеарів біля судин шириною до 50 мкм.

При дослідженні селезінки було встановлено, що лімфодні та гермінативні фолікули відсутні. Периартеріальні лімфодні муфти виражені, шириною 50–100 мкм (рис. 2 в), заповнені клітинами не щільно. Гістологічна будова селезінки в усіх курей групи відповідала нормі.

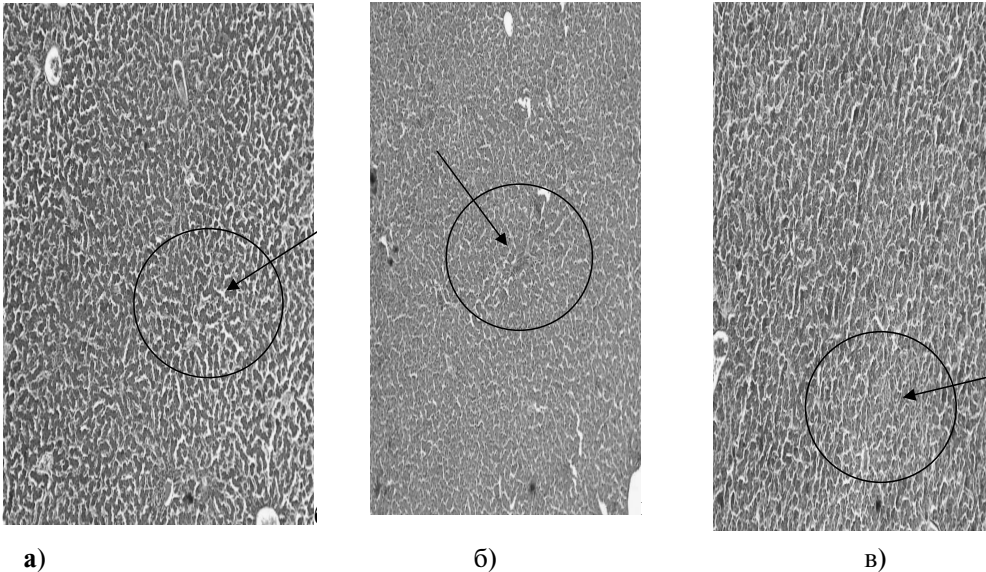


Рис. 1. – Зрізи печінки курей: а) контрольна група: чітко виражені печінкові балки (норма); б) II група: зруйновані печінкові балки; III група: зруйновані печінкові балки, цитоплазма гепатоцитів світла (тканина в стані дистрофії). Зрізи зафарбовані гематоксилін-еозином, збільшення ×100.

Обговорення результатів дослідження. Вивчаючи параметри токсичності селену більшість учених сходяться на тому, що максимально переносима доза селену в кормах для курей становить 4 мг/кг [14], але описаний хронічний селеновий токсикоз у курей і за 2,5 мг/кг корма [15]. Тобто токсичність селену залежить від багатьох факторів, зокрема, наявність у кормах антиоксидантів підвищує її, а сірковмісних амінокислот – зменшує [16]. Наші ж дослідження доводять, що тривале сумісне використання селену з вітаміном Е викликає токсикоз уже в дозах 2,04 і 200 мг/кг, який посилюється при введенні 2,4 і 1000 мг/кг відповідно. Даний ефект можна пояснити, виходячи з синергічних відносин між вітаміном Е та селеном: за

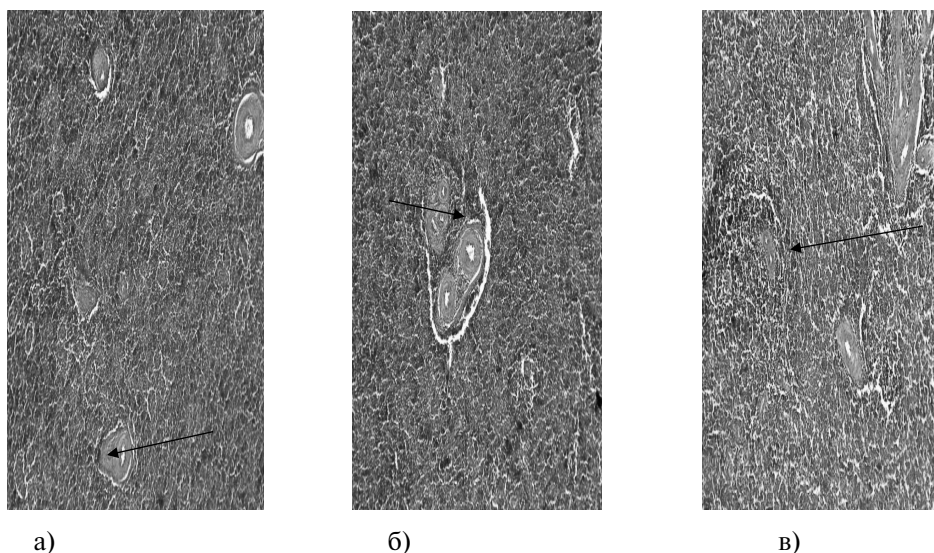


Рис. 2. – Зрізи селезінки курей: а) контрольна група: периартеріальні лімфоїдні муфти неширокі, б) II група: виражені периартеріальні лімфоїдні муфти, в) III група: широкі периартеріальні лімфоїдні муфти Зрізи зафарбовані гематоксилін-еозином, збільшення $\times 100$.

умов забезпечення організму вітаміном Е він швидше вступає в реакції з вільними радикалами, таким чином, можливо, утворюється надлишок селену, який витісняє сірку з сірковмісних сполук, зокрема, амінокислот (метіонін, цистеїн). Утворюючи сполуки з білками, селен викликає порушення обміну сірки, розвиток малокрів'я і тим самим зниження рівню тканинного дихання. Оскільки печінка є центральним органом, в якому проходить синтез білку і розподіл селену [17], зниження рівня тканинного дихання в ній та підвищення навантаження (розподіл вітаміну Е та селену) викликають дистрофічні зміни, що виражаються порушенням балочної структури печінки, вакуолізацією цитоплазми гепатоцитів, руйнуванням ядер. Як наслідок порушується обмін ліпідів [9]. Заслужує на увагу й те, що в 15 % курей контрольної групи виявлено дистрофію печінки. Даний факт може свідчити про недостатність вітаміну Е, оскільки вміст селену знаходиться в межах норми.

В основі організації системи периферичних органів імунної системи лежить регіональний принцип: кожен лімфоїдний орган контролює певну частину тіла. Печінка знаходиться в зоні імунологічного нагляду селезінки [18], цим можна пояснити реакцію з боку селезінки (збільшення в об'ємі та підвищення коефіцієнту маси). Окрім того введення курям-несучкам до раціону надлишку вітаміну Е та селену призводить до збільшення співвідношення агранулоцитів до гранулоцитів крові [10] та викликає зменшення кількості циркулюючих лейкоцитів [19]. Збільшення кількості лімфоцитів, можливо, сприяє розширенню периартеріальних лімфоїдних муфт, оскільки вони є функціональними зонами Т-лімфоцитів [19].

Таким чином, введення надлишку вітаміну Е і селену, як добавки до корму, не впливає на загальний стан організму курей-несучок, але при тривалому застосуванні викликає морфологічні зміни у печінці і селезінці. Виникнення дистрофічних змін у печінці курей батьківського поголів'я несе небезпеку насамперед для ембріону та молодняку, отриманого від такої птиці. Тому введення в раціони батьківського поголів'я вітаміну Е та селену потребує детального вивчення та оптимізації.

Висновки. 1. Надходження надлишку селену та вітаміну Е з кормом у дозах 2,04 і 200 мг/кг та 2,4 і 1000 мг/кг відповідно призводить до змін гістоморфологічної структури печінки курей, а саме: до порушення балочної структури печінки, ваку-

олізації цитоплазми гепатоцитів та руйнування ядер у 50 % птиці дослідних груп, що свідчить про порушення функціонального стану органу.

2. Надходження надлишку селену та вітаміну Е з кормом у дозах 2,04 і 200 мг/кг та 2,4 і 1000 мг/кг, відповідно, не викликає гістоморфологічних змін тканини селезінки, але призводить до розширення периартеріальних лімфоїдних муфт в обох дослідних групах, що може свідчити про підвищення активності органів кровотворення.

Список літератури

1. Heinz, G.H. Toxicity of seleno-L-methionine, seleno-D,L-methionine, high selenium wheat, and selenized yeast to mallard ducklings [Text] / G.H. Heinz, D.J. Hoffman, L.J. LeCaptain // Arch. Environ. Contam. and Toxicol. — 1996. — Vol. 30, № 1. — P. 93–99. 2. Toxicity of sodium selenite and selenized yeast to chicken [Text] / B.M. Mihailović [et al.] // Selenium in Biol. and Med. : 6th Int. Symp., Chinese Hall of Sci. and Technol., Beijing (China), Aug., 18–22, 1996. — Beijing, 1996. — P. 125. 3. Гигиенические критерии окружающей среды. 58. Селен [Текст]. — Женева : ВОЗ, 1989. — 270 с. 4. Фармакология и токсикология препаратов селена [Текст]. — М., 1967. — 108 с. 5. Green, D.E. Diagnostic criteria for selenium toxicosis in aquatic birds: histologic lesions [Text] / D.E. Green, P.H. Albers // J. Wildl. Dis. — 1997. — Vol. 33, № 3 — P. 385–404. 6. Куцан, О.Т. Клінічні та патологоанатомічні зміни в курей-несучок за умови тривалого сумісного надходження надлишкових доз вітаміну Е і селену з кормом [Текст] / О.Т. Куцан, О.Л. Оробченко // Вет. медицина : міждід. темат. наук. зб. — Х., 2008. — Вип. 91. — С. 272–278. 7. Сурай, П.Ф. Методы анализа кормов и продуктов птицеводства [Текст] : Метод. реком. / П.Ф. Сурай. — Х., 1989. — 95 с. 8. PCSpectr. Програмное обеспечение для спектрометров «Спектроскан МАКС» (Качественный и количественный анализ) [Текст]. — СПб., 2000. — 250 с. 9. Оробченко, О.Л. Стан системи перекисного окиснення ліпідів курей-несучок за умови надлишкового надходження вітаміну Е і селену з кормом [Текст] / О.Л. Оробченко, О.Т. Куцан // Вісн. Білоцерківського держ. аграр. ун-ту. — 2008. — Вип. 51. — С. 54–59. 10. Куцан, О.Т. Основні клінічні показники крові у курей-несучок за умови тривалого сумісного надходження вітаміну Е і селену з кормом [Текст] / О.Т. Куцан, О.Л. Оробченко // Проблеми зооінженерії та ветеринарної медицини : зб. наук. праць. — Х., 2008. — Вип. 16 (41), ч. 2, т. 1. — С. 38–43. 11. Коцюмбас, І.Я. Доклінічні дослідження ветеринарних лікарських засобів [Текст] / І.Я. Коцюмбас. — Львів : Тріада плюс, 2005. — 356 с. 12. Жаров, А.В. Вскрытие и патоморфологическая диагностика болезней животных [Текст] / А.В. Жаров, И.В. Иванов, А.П. Стрельников. — М. : Колос, 2003. — 400 с. 13. Меркулов, Г.А. Курс патологистологической техники [Текст] / Г.А. Меркулов. — М. : Медицина, 1969. — 423 с. 14. Касумов, Н.С. Основы применения селена в кормлении сельскохозяйственной птицы [Текст] / Н.С. Касумов. — М. : ВНИИТЭИСХ, 1981. — 62 с. 15. Ермаков, В.В. Биологическое значение селена [Текст] / В.В. Ермаков, В.В. Ковальский. — М. : Наука, 1974. — 300 с. 16. Малинин, О.А. Ветеринарная токсикология [Текст] : учеб. пособ. / О.А. Малинин, Г.А. Хмельницкий, А.Т. Куцан. — Корсунь-Шевченковский : ЧП Майдаченко, 2002. — 464 с. 17. Spallholz, J.E. Free radical generation by selenium compounds and their prooxidant toxicity [Text] / J.E. Spallholz // Selenium in Biol. and Med. : 6th Int. Symp., Chinese Hall of Sci. and Technol., Beijing (China), Aug., 18–22, 1996. — Beijing, 1996. — P. 112. 18. Астахова, Т.М. Изменение пула протеасом в постнатальном развитии и в злокачественно трансформированных клетках грызунов [Текст] : автореф. дис. ... канд. биол. наук : 03.00.30 — биология развития и эмбриология / Астахова Татьяна Михайловна. — М., 2007. — 22 с. 19. Hogan, G.R. Selenate- and selenomethionine-induced leukopenia in ICR female mice [Text] / G.R. Hogan // J. Toxicol. Environ. Health A. — 1998. — Vol. 53, № 2. — P. 113–119.

CHANGES OF HISTOMORPHOLOGICAL STRUCTURE OF LAYERS' LIVER AND SPLEEN UNDER THE CONDITIONS OF LONG-TERM RECEPTION OF SELENIUM AND VITAMIN E OVERDOSES WITH FEED

Kutsan A.T., Shutchenko P.A., Medvid' K.A., Orobchenko A.L.

National Scientific Center "Institute of Experimental and Clinical veterinary Medicine",
Kharkiv

The purpose of our investigations was to study changes of histomorphological structure of layers' liver and spleen under the conditions of long-term reception of selenium and vitamin E overdoses with feed. There was determined, that five time increase of additions to the main selenium ratio (as sodium selenite) and of vitamin E at long-term application causes morphological changes in liver and spleen.