



УДК 619.616.37:636.52/.58.085.12

ЭКЗОКРИННАЯ ФУНКЦИЯ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ КУР-НЕСУШЕК ПРИ ИЗМЕНЕНИИ УРОВНЯ КАЛЬЦИЯ В РАЦИОНЕ

В.Г. Вертипрахов, главный научный сотрудник, д.б.н., зав. отделом физиологии и биохимии, И.В. Кислова - младший научный сотрудник отдела физиологии и биохимии (ФГБНУ Федеральный научный центр «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт птицеводства» РАН)

Ключевые слова: экзокринная функция поджелудочной железы, куры, панкреатические ферменты, щелочная фосфатаза, кальций

Key words: exocrine pancreatic function, laying hens, pancreatic enzymes, alkaline phosphatase, calcium.

РЕФЕРАТ



Вопросы экскреторной функции пищеварительной системы тесно связаны с другими проявлениями работы пищеварительных желез, а именно секреции и межклеточного обмена веществ, поэтому изучение их актуально и требует новых подходов. Целью настоящей работы является изучение экзокринной функции поджелудочной железы при изменении уровня кальция в рационе кур-несушек.

В работе представлены результаты хронических экспериментов на трех курах-несушках кросса Хайсекс белый с фистулой панкреатического протока. Физиологические опыты выполняли методом периода, изменяя в составе рациона уровень кальция (в контроле – 3,6%, опытный 1 период – 3,4%, опытный 2 – 4,2%). Установлено, что изменение уровня кальция в рационе кур-несушек оказывает влияние на экзокринную функцию поджелудочной железы, адаптация которой проявляется увеличением объема панкреатического сока и изменением в его составе активности липазы и общих протеаз. Высокие дозы кальция оказывают влияние в сложнорефлекторную фазу регуляции панкреатической секреции, что проявляется повышением активности протеаз в первые минуты потребления корма по сравнению с контрольным периодом, а уменьшение оптимальной дозы, наоборот, характеризуется снижением протеолитической активности в нейрохимическую фазу регуляции, спустя 90 минут после приема корма. Активность щелочной фосфатазы в панкреатическом соке имеет обратную динамику по сравнению с панкреатическими ферментами в постпрандиальный период, уровень фермента резко снижается после приема корма. Изменение уровня кальция в рационе несушек отражается на базальном уровне активности ЩФ, а в последующем приближается к контрольным показателям секреции. Установлена отрицательная корреляция между протеазами и активностью щелочной фосфатазы ($r=-0,87$) и содержанием в панкреатическом соке общего кальция ($r=-0,64$). Активность щелочной фосфатазы и общего кальция в панкреатическом соке находятся в прямой зависимости при $r=0,81$.

ВВЕДЕНИЕ

Поджелудочная железа выполняет в организме многогранную функцию. Главными считаются экзокринная функция, поскольку панкреатический сок содержит все основные пищеварительные ферменты, инкреторная – обусловлена выработкой гормонов (инсулин, глюкагон, соматостатин), регулирующих углеводный и др. виды обмена веществ. Кроме этого, поджелудочная железа наряду с другими пищеварительными железами (слюнные, желудок, печень) участвует в экскреторной функции, которая направлена на выведение из организма через пищеварительный канал веществ, не используемых организмом, ядовитых для него или находящихся в нем в избыточном количестве (вода, соли и др.). Тем самым обеспечивает нормальное функционирование систем и организма в целом, т.е. выполняет по сути ту же экскреторную функцию, что и почки. Вопросы экскреторной функции пищеварительной системы тесно связаны с другими проявлениями работы пищеварительных желез, а именно секреции и межклеточного обмена веществ, поэтому изучение их актуально и требует новых подходов. Целью настоящей работы является изучение экзокринной функции поджелудочной железы при изменении уровня кальция в рационе кур-несушек.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Опыты выполняли на 3 курах кросса Хайсекс белый 20-28-недельного возраста, оперированных по методу [1] в соответствии с требованиями Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (ETS №123, Страсбург, 1986) [2]. Куры содержались в виварии ВНИТИП с соблюдением оптимальных условий содержания: температура в помещении составляла 18-20°C, продолжительность освещения 14 часов в сутки, влажность в помещении и рацион питания соответствовали рекомендациям ВНИТИП (2014).

Физиологический опыт начинали утром в состоянии кур натошак после 14-

часового голодания. Кур помещали в специальный станок, в котором они находились в течение трех часов. К фистуле из изолированного отрезка прикрепляли с помощью специального резинового переходника микропробирку для сбора панкреатического сока. В первые 30 минут собирали сок после голодания, а затем птиц кормили комбикормом в количестве 30 г и продолжали собирать секрет через каждые 30 минут в течение 180 минут. Эксперименты выполняли методом периодов: первые 7-10 дней птицы получали контрольный корм (содержание кальция 3,6%), а затем после предварительного периода (2-3 дня) их переводили на корм опытный 1 с содержанием кальция 3,4% и определяли уровень секреторной функции поджелудочной железы в течение 7-10 дней. Аналогичным образом изучали дозу кальция в рационе 4,2% (опытный период 2).

Биохимические исследования выполняли в лаборатории физиологии ФНЦ «ВНИТИП» РАН, используя классические методы по определению активности панкреатических ферментов и современные приборы [3].

Для статистической обработки результатов использовали программное обеспечение JMP Trial 14.1.0, с помощью которого выполняли расчет среднего значения (M) и стандартные ошибки среднего ($\pm m$), определяли достоверность различий по t-критерию Стьюдента. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Уровень кальция в корме оказывает влияние на панкреатическую секрецию у кур-несушек (таблица 1).

Данные представленные в таблице показывают, что при изменении количества кальция в рационе отмечается реакция со стороны секреции панкреатического сока за опыт. При снижении кальция в корме до 3,4% количество сока поджелудочной железы увеличивается на 35,0% ($p \leq 0,05$). При добавлении кальция в рацион несушек в количестве 4,2% количество панкреатического сока возрас-

Таблица 1

Показатели панкреатического сока кур кросса Хайсекс белый при использовании в их рационе корма с разным содержанием кальция

Показатель	Содержание кальция в рационе, %		
	3,6 (контроль)	3,4(опыт 1)	4,2 (опыт 2)
Количество панкреатического сока за опыт, мл	4,0±0,19	5,4±0,17*	4,7±0,16
	Активность ферментов в 1 мл сока за опыт		
амилаза мг/мл.мин	9342±729,6	8683±720,9	8669±397,5
липаза, ед/л	18517±865,8	15009±717,7	19667±601,4
протеазы, мг/мл.мин	320±30,4	262±26,8	440±10,5
	Суммарная активность ферментов за 180 минут опыта		
амилаза мг/мл.мин	37022±2733,5	46735±4057,3	39350±1418,3
липаза, ед/л	73133±3105,4	79598±4702,2	94387±5487,8
протеазы, мг/мл.мин	1289±179,1	1352±100,4	1996±96,9
Щелочная фосфатаза, ед/л	4282±251,4	11932±773,1*	8374±726,7*
Кальций, ммоль/л	2,3±0,07	2,2±0,08	2,5±0,07
Фосфор, ммоль/л	1,2±0,10	1,0±0,11	1,1±0,12

тает по сравнению с контрольным периодом на 17,5% ($p \leq 0,05$). Увеличение количества панкреатического сока связано с выработкой в двенадцатиперстной кишке гормона секретин, стимуляция которого обусловлена кислым содержимым желудка.

Адаптация активности панкреатических ферментов к количеству кальция в рационе кур наблюдается в снижении липолитической активности в опытный 1 период на 19,0% ($p \leq 0,05$) и увеличении протеолитической активности в опытный 2 период на 37,5% ($p \leq 0,05$). В суммарной активности панкреатического сока за 180 минут опыта снижение липазы в опытный 1 период компенсируется увеличением секреции сока поджелудочной железы.

Щелочная фосфатаза относится к тканевым ферментам, который проявляет

свою активность при разрушении клеток, в которых идет их синтез (печень, костная ткань). Особенно высокий уровень щелочной фосфатазы отмечен в наших исследованиях в полости 12-перстной кишки кур-несушек. Щелочная фосфатаза участвует в гидролизе моноэфирных связей фосфорных соединений, поэтому её участие связано с кальций-фосфорным обменом в организме птицы. Результаты свидетельствуют о том, что активность щелочной фосфатазы резко возрастает в 2,8 раза при уменьшении кальция в рационе кур до 3,4%. Высокий уровень активности данного фермента наблюдается при увеличении кальция в рационе несушек до 4,2% - почти в 2 раза превышает уровень контрольного периода ($p \leq 0,05$). Следует отметить, что уровень кальция и фосфора в панкреатическом соке во все периоды эксперимента остается без существенных изменений.

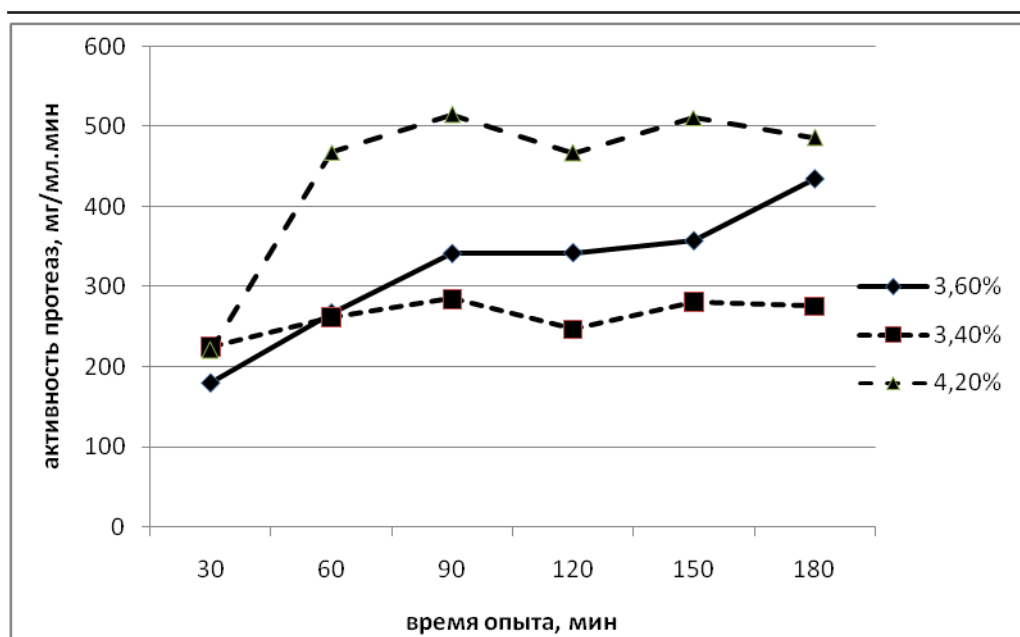


Рис.1. Динамика активности протеаз панкреатического сока кур при использовании в рационе разных доз кальция.

Таким образом, экспериментальное изменение оптимального количества кальция в рационе кур-несушек отражается на секреторной функции поджелудочной железы и усилении активности щелочной фосфатазы в панкреатическом соке. Для более полного понимания механизма данного процесса мы выполнили анализ изменений активности ферментов за период опыта (рис.1,2) и рассчитали корреляцию между основными показателями панкреатического сока.

Анализ динамики активности протеаз показывает, что прием корма для птицы является мощным стимулятором секреции. Активность протеаз в постпрандиальную фазу (первые 60 минут после приема корма) увеличивается в контрольный период в 1,9 раза. Затем со 120 минуты опыта наблюдается повышение активности, обусловленное нейрохимической фазой регуляции секреции поджелудочной железы, которое способствует увеличению активности ферментов в 2,4 раза по сравнению с базальной секреци-

ей. При снижении уровня кальция в рационе кур до 3,4% кривая активности протеаз располагается значительно ниже контрольной, а при увеличении дозы кальция в корме до 4,2%, наоборот, имеет более выраженную динамику на прием корма. Интенсивный рост активности протеаз в опытный период 2 указывает на то, что куры воспринимают вкус известняка, в котором находится большая часть кальция и реагируют повышением активности протеаз в соке поджелудочной железы. Динамика выделения щелочной фосфатазы отличается от протеолитической активности (рис.2).

Анализ динамики активности ЩФ показывает, что её уровень снижается в постпрандиальную фазу. В контрольный период, когда исходная активность фермента невысокая активность уменьшается в первые 60 минут опыта на 31,6% по сравнению с базальным уровнем. При изменении уровня кальция в рационе активность ЩФ резко увеличивается в базальный период и достигает при 3,4% кальция в рационе отметки 21036 ед/л с

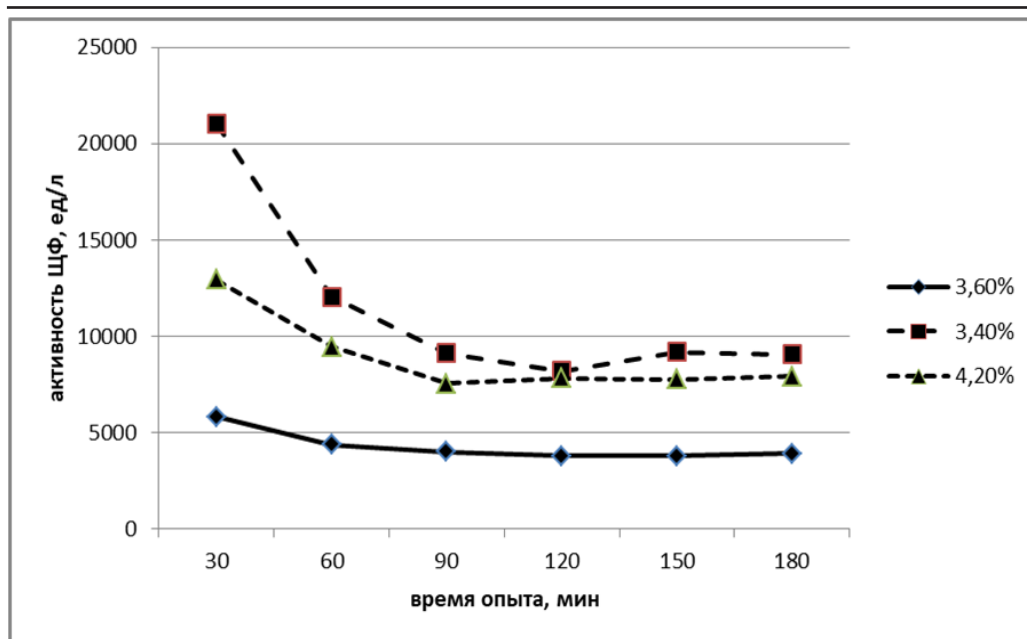


Рис.2. Динамика активности щелочной фосфатазы на прием корма при изменении уровня кальция в рационе кур-несушек.

последующим снижением к 120 минуте опыта до 8204, т.е в 2,6 раза. При добавке кальция в количестве 4,2% к рациону кур динамика сохраняется на более скромном уровне: максимальная точка соответствует 12937 ед/л, а минимальная – через 90 минут опыта – 7539 (в 1,7 раза ниже). Расчет корреляции показывает, что между протеазами и ЩФ связь противоположная и составляет $r=-0,87$, между протеазами и кальцием – также отрицательная $r=-0,64$. Корреляция между ЩФ и кальцием положительная и составляет $r=0,81$.

ОБСУЖДЕНИЕ

Вопросы изучения метаболизма кальция в организме кур-несушек имеют актуальность на протяжении нескольких десятков лет, поскольку от этого зависит продуктивность кур-несушек [4]. Существует обширная литература о значении роли кальция в секреторной функции поджелудочной железы [5-7]. Опыты, проводимые на изолированных органах, в том числе поджелудочных железах со-

бак, показали, что существенное уменьшение в препаратах пептидов содержания внеклеточного кальция вызывает увеличение сока поджелудочной железы и его энзимов [8]. Изучение физико-химических свойств панкреатического сока кур позволило Смолину С.Г. [9] установить, что содержание кальция составляет в секрете кур $2,43 \pm 0,135$ ммоль/л, неорганического фосфора – $0,97 \pm 0,186$ ммоль/л. Результаты наших исследований согласуются с данными Смолина С.Г. и позволяют взглянуть на механизм метаболизма кальция глубже в динамике после приема корма. Это стало возможным благодаря уникальной методике [1] получения панкреатического сока от кур в хроническом эксперименте в период опытов, а вне его – возвращать назад в дуоденум. Благодаря этому мы решили изучить разные дозы кальция в рационе кур-несушек и получили впервые новые знания, позволяющие разрабатывать схемы для коррекции нарушений кальциевого обмена в организме несушки, а также способы продления её продуктивного использования.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании полученных данных можно сделать следующие выводы:

1. Изменение уровня кальция в рационе кур-несушек оказывает влияние на экзокринную функцию поджелудочной железы, адаптация которой проявляется увеличением объема панкреатического сока и изменением в его составе активности липазы и общих протеаз.

2. Высокие дозы кальция оказывают влияние в сложнорефлекторную фазу регуляции панкреатической секреции, что проявляется повышением активности протеаз в первые минуты потребления корма по сравнению с контрольным периодом, а уменьшение оптимальной дозы, наоборот, характеризуется снижением протеолитической активности в нейрохимическую фазу регуляции, спустя 90 минут после приема корма.

3. Активность щелочной фосфатазы в панкреатическом соке имеет обратную динамику по сравнению с панкреатическими ферментами в постпрандиальный период, уровень фермента резко снижается после приема корма. Изменение уровня кальция в рационе несушек отражается на базальном уровне активности ЩФ, а в последующем приближается к контрольным показателям секреции.

4. Установлена отрицательная корреляция между протеазами и активностью щелочной фосфатазы ($r=-0,87$) и содержанием в панкреатическом соке общего кальция ($r=-0,64$). Активность щелочной фосфатазы и общего кальция в панкреатическом соке находятся в прямой зависимости при $r=0,81$.

The exocrine pancreatic function in laying hens fed different calcium levels. V.G.Vertiprakhov, I.V.Kislova, FGBU Federal Scientific Center «All Russian scientific-research technological center of poultry» RASc

ABSTRACT

The excretory activity of the digestive system is closely correlated with other aspects of the activity of the digestive glands including: secretion and metabolism of intermediate substances. The studies of this activity are therefore urgent and require new

approaches. The aim of the study was to investigate exocrine pancreatic function in laying hens, fed diets with different calcium (Ca) level.

The experiment was performed on three Hisex White hens with chronic fistulae of main pancreatic duct. The method of periods was used; dietary Ca content during control period was 3.6%, during experimental period I - 3.4%, experimental period II - 4.2%. The changes in dietary Ca content were found to affect the exocrine pancreatic function; the evidence to these changes were stated via the increases in the secretion volume and changes in the activities of lipase and total proteases. The effects of higher Ca dose were stated during the complex-reflex phase of regulation of the pancreatic secretion: during the diet with higher Ca level the activity of total proteases increased during the first postprandial minutes in comparison to the control period. On the contrary, during the diet with lower Ca level, this activity decreased during the neurohumoral phase of the pancreatic regulation, in 90 min after the feeding. The dynamics of the activity of alkaline phosphatase (AP) in pancreatic juice during the postprandial period was reversed in compare to proteases: this activity abruptly decreased immediately after the feeding. The changes in dietary Ca level affected the basal levels of AP activity; postprandial activity levels were similar to those for the control period. The negative correlations were found between the activity of total proteases and activity of AP ($r=-0,87$) and Ca content in pancreatic juice ($r=-0,64$), while the activity of AP and Ca content in pancreatic juice correlated positively ($r=0,81$).

ЛИТЕРАТУРА

1. Батоев Ц.Ж. Физиология пищеварения птиц// Улан-Удэ. Изд-во Бурятского государственного университета. 2001. С. 72-92.
2. Электронный ресурс: <https://www.msu.ru/bioetika/doc/konv>
3. Фисинин В.И., Вертипрахов В.Г., Грозина А.А. Внешнесекреторная функция поджелудочной железы кур (*Gallus Gallus L.*) в зависимости от ингредиентов рациона //

- Сельскохозяйственная биология. 2018. Т. 53. № 4.- С. 811-819.
4. Бауман В. К. Кальций и фосфор: обмен и регуляция у птиц / АН Латв. ССР. Ин-т биологии. - Рига :Зинатне, 1968. - 270 с.
 5. Case R.M., Clausen T. The relationship between calcium exchange and enzyme secretion in the isolated rat pancreas // J.Physiol.(Gr.Brit.).1973. Vol.235.P.75-102.
 6. Williams J.A., Chandler D. Ca⁺⁺ and pancreatic amylase release // Amer.J.Physiol. 1975.Vol.228.P.1729-1732.
 7. Домшке С., Контурек С., Домшке В. Роль «вторичного передатчика» во внешнесекреторной функции поджелудочной железы // Физиологический журнал СССР, 1981, т.68. С.423-430.
 8. Климов П.К., Фокина А.А. Физиология поджелудочной железы. Регуляция внешнесекреторной функции. Л.: Наука, 1987. -152 с.
 9. Смолин С.Г. Физико-химические показатели и активность ферментов сока поджелудочной железы у кур, свиней и собак: монография. Красноярск: Краснояр. гос. аграр. ун-т, 2008. -155с.

ИНФОРМАЦИЯ

По заявкам ветспециалистов, граждан, юридических лиц проводим консультации, семинары по организационно-правовым вопросам, касающихся содержательного и текстуального анализа нормативных правовых актов по ветеринарии, практики их использования в отношении планирования, организации, проведения, ветеринарных мероприятий при заразных и незаразных болезнях животных и птиц.

Консультации и семинары могут быть проведены на базе Санкт-Петербургской академии ветеринарной медицины или с выездом специалистов в любой субъект России.

**Тел/факс (812) 365-69-35,
Моб. тел.: 8(911) 176-81-53, 8(911) 913-85-49,
e-mail: 3656935@gmail.com**