

К ВОПРОСУ О ХИМИЧЕСКОМ СОСТАВЕ ПАНКРЕАТИЧЕСКОГО СОКА КУР

А.А. ГРОЗИНА

(ФНЦ «Всероссийский научно-исследовательский
и технологический институт птицеводства» РАН)

Поджелудочная железа является центральным органом пищеварения как у млекопитающих, так и птиц. Длительное время (вплоть до 1961 г.) экзокринная функция поджелудочной железы птиц была плохо изучена. Причиной этому являлась анатомическая особенность – соединение трех панкреатических протоков и одного желчного протока в одну папиллу, которая в свою очередь, открывается в просвет двенадцатиперстной кишки, что стало препятствием к получению чистого панкреатического сока без примеси желчи. Длительное время принимались попытки получения чистого панкреатического сока (Поляков, 1961; Сосина, 1965; Алиев, 1970 и др.), однако все они имели ряд существенных недостатков. И только методика Ц.Ж. Батоева и С.Ц. Батоевой (1970), основанная на имплантации главного панкреатического протока в изолированный отрезок кишечника стала успешно применяться и актуальна по сей день. Преимущество данной методики в том, что панкреатический сок собирается только в небольшой промежуток времени, а в остальное время перенаправляется в кишечник, что способствует сохранению продуктивности птицы. Уникальность данной работы в том, что мы исследовали многочисленные показатели панкреатического сока птиц, такие как активность амилазы, липазы, протеазы, общий белок, кальций, фосфор, желчные кислоты, фруктозамин, цинк и медь. Многие из этих показателей у птиц ранее не были изучены. Полученные результаты свидетельствуют о том, что состав панкреатического сока кур сильно изменяется после кормления. Стабильным оказалось наличие кальция и фосфора, а также желчных кислот. Данные являются фундаментальными и могут быть использованы в дальнейшем для изучения физиологии панкреатической секреции птиц.

Ключевые слова: куры, поджелудочная железа, панкреатический сок, амилаза, липаза, протеазы, биохимия крови

Введение

Поджелудочная железа – один из центральных органов пищеварительной системы. Панкреатический сок представляет собой прозрачную слегка опалесцирующую жидкость с сероватым оттенком и содержит в себе огромный набор ферментов, гидролизующих белки, жиры и углеводы пищи [2, 5].

Экзокринная функция поджелудочной железы птиц долгое время оставалась малоизученной из-за методических трудностей получения панкреатического сока. Анатомической особенностью птиц является то, что панкреатические и желчные протоки открываются в просвет двенадцатиперстной кишки одной общей папиллой, что затрудняет получение чистого панкреатического сока [3, 4].

Ранее И.И. Поляков (1961) и З.М. Сосина (1965) разработали методику получения панкреатического сока у кур в смеси с желчью, вводя канюлю в кишечную стенку рядом с папиллой, в связи с чем данный метод не нашел широкого применения [7, 8]. Затем в условиях хронических опытов при помощи тонкой трубочки в просвете панкреатического протока Vargo et al. (1968) и А.А. Алиев (1970) удалось получить чистый панкреатический сок, однако при данном способе допускается потеря панкреатического сока, что негативно сказывается на клиническом состоянии кур [1, 11].

Наиболее перспективным на сегодняшний день методом исследования внешнесекреторной функции поджелудочной железы является методика Ц.Ж. Батоева и С.Ц. Батоевой (1970). Она основана на имплантации главного протока поджелудочной железы в изолированный отрезок кишечника и образование панкреадуденального анастомоза [3].

Ранее физические и химические свойства панкреатического сока кур изучал С.Г. Смолин (1998). Были определены показатели вязкости, плотности, реакция pH, общий белок, кальций, неорганический фосфор, натрий и калий, однако данных о химическом составе панкреатического сока птиц современных кроссов в отечественной литературе нет [9, 10]. В иностранной литературе экзокринная функция поджелудочной железы у птиц была исследована Ren et al. (2012), Brzek et al. (2013), но для биохимических исследований использовали гомогенат поджелудочной железы, а не чистый панкреатический сок [12, 14].

Известно, что панкреатические ферменты циркулируют по крови и возвращаются в поджелудочную железу, участвуя в секреции новой порции панкреатического сока (Коротько Г.Ф., 2013)[6]. Поэтому связь плазмы крови и секрета поджелудочной железы очевидна. Для подтверждения наличия в панкреатическом соке элементов инкреторной деятельности поджелудочной железы мы выполнили изучение в нем наличия фруктозамина – белка плазмы крови с глюкозой. По немногочисленным публикациям концентрация фруктозамина – продукта гликолизирования белков плазмы в сыворотке крови попугаев ара является показателем начала у птиц сахарного диабета [13], однако данный показатель ранее не определяли ни в гомогенате железы, ни и в панкреатическом соке. Информация о наличии желчных кислот в панкреатическом соке птицы практически отсутствует.

Материал и методы исследований

Операцию для получения чистого панкреатического сока выполняли на двух курах кросса «Хайсекс белый» в возрасте 1 год. Сущность хирургической операции сводилась к «выкраиванию» из двенадцатиперстной кишки отрезка длиной 4–5 см и трансплантации в него главного панкреатического протока с вживлением двух Г-образных фистул и образование внешнего анастомоза, позволяющего возвращать панкреатический сок в период вне опытов в двенадцатиперстную кишку.



Рис. 1. Курица после операции

После операции (рис. 1) у клинически здоровых кур сок брали натощак и после кормления в течение каждые 30 минут 6 раз. Рацион кормления птиц составлялся

соответственно нормам ВНИТИП, суточный рацион делился на 3 равные части. Биохимические исследования выполняли следующими методами: определение амилазы – по Смит–Рою в модификации для определения высокой активности фермента [15], протеаз – по гидролизу казеина, липазы, общего белка, кальция, фосфора – на полуавтоматическом биохимическом анализаторе (SINNOWA, Китай) BS-3000P с набором ветеринарных диагностических реагентов для определения концентрации липазы, общего белка, кальция, фосфора в крови животных компании «ДИАКОН–ВЕТ» (РФ). Наличие желчных кислот, фруктозамина, цинка и меди определяли на автоматическом биохимическом анализаторе ChemWell – T (2900), США с набором диагностических реагентов для определения желчных кислот, фруктозамина, цинка и меди компании BSBE, Китай.

Статистическую обработку результатов исследований выполняли, используя компьютерную программу Excel, определяя среднее значение (M) и стандартные ошибки средней (m). Достоверность различий оценивали по t-критерию Стьюдента. Различия считали статистически значимыми при $P < 0,05$.

Результаты исследований

Из данных таблицы 1 видно, что активность амилазы в панкреатическом соке кур после кормления увеличивалась. Так, через час после кормления она возрастала практически в 2 раза, а еще через полчаса – на 10,8%. Однако уже через 2 часа после кормления активность амилазы в соке поджелудочной железы снизилась на 2,8%, а еще через полчаса – повысилась на 1,3%. По прошествии 3-х часов после кормления данный показатель увеличился еще на 9,2%, что практически в 2,2 раза выше базового уровня активности амилазы панкреатического сока в период до кормления. Таким образом, из полученных данных следует, что активность амилазы в соке поджелудочной железы кур резко увеличивалась после приема корма и снижалась через 2 часа, а затем незначительно увеличивалась. По данным Смолина С.Г. (2008) активность амилазы панкреатического сока у кур в возрасте 1,5–2,0 года составляла 5619 ± 851 мг/мл·мин. Полученные нами значения свидетельствуют о том, что активность амилазы сильно варьировала в зависимости от поступления корма, однако таких значений достигала только после кормления.

Активность липазы в соке поджелудочной железы кур уже через час после кормления увеличилась на 52,8%. На этом уровне липолитическая активность находилась в течение одного часа, а затем снижалась на 27,3%. Далее, через 2,5 часа после кормления активность данного фермента увеличилась на 39,5%, что на 26,4% превышало базовый уровень липазы до кормления. В отличие от амилазы, активность липазы панкреатического сока через 1,5–2 часа после кормления снижалась, а затем возрастала, что обусловлено нейрохимической фазой регуляции панкреатической секреции.

Содержание протеаз в панкреатическом соке кур через час после кормления увеличилось практически в 2,2 раза, а еще через полчаса – на 21,2%. По прошествии 2-х часов после кормления, концентрация данных ферментов увеличилась еще на 5,8%, а через 30 минут – осталась на том же уровне. Через 3 часа после кормления содержание протеаз в соке поджелудочной железы кур увеличилось на 11,6%, что превышает базовый уровень до кормления в 3,2 раза. Таким образом, в отличие от амилазы и липазы, протеазы имеют четкую тенденцию постепенного увеличения. По данным С.Г. Смолина (2008) в панкреатическом соке кур содержится $480 \pm 65,4$ мг/мл·мин. Полученные нами данные были значительно ниже, что возможно связано с различиями в возрасте птицы и рационе.

Таблица 1

Динамика содержания амилазы, липазы и протеаз в панкреатическом соке кур

Периоды опыта	Активность ферментов панкреатического сока кур		
	Амилаза мг/(мл·мин)	Липаза мкмоль/(мл·мин)	Протеазы мг/(мл·мин)
0–30 мин (до кормления)	2570±434,0	5,3±0,65	108±17,5
30–60 мин (прием корма)	4600±266,7	8,1±1,24	240±16,5
60–90 мин	5101±216,5	7,3±0,95	291±20,2
90–120 мин	4954±398,5	6,6±1,35	308±22,7
120–150 мин	5018±453,2	4,8±1,60	308±24,5
150–180 мин	5479±246,0	6,7±1,3	344±25,2

По данным таблицы 2 видно, что количество общего белка в панкреатическом соке кур резко увеличилось уже через час после кормления и со временем постепенно возрастало, но более плавно. Так, уже через час после кормления содержание общего белка в соке поджелудочной железы увеличилось на 22,2%, через 1,5 часа – на 24,2%, через 2 часа – на 28,2%, через 2,5 часа – на 33,7%, через 3 часа – на 36,1% по сравнению с базовым уровнем общего белка в панкреатическом соке до кормления кур.

Таблица 2

Динамика содержания общего белка, желчных кислот, фруктозамина, кальция, фосфора, цинка и меди в соке поджелудочной железы кур

Периоды опыта	Биохимические показатели панкреатического сока кур						
	Общий белок, г/л	Желчн. к-ты мкмоль/л	Фруктоз-н мкмоль/л	Кальций, ммоль/л	Фосфор, ммоль/л	Цинк мкг/дЛ	Медь мкмоль/л
0–30 мин (до кормления)	25,9±0,93	65,7±0,1	255,1±0,8	2,7±0,08	1,0±0,17	116,0±28,2	4,2±0,2
30–60 мин (прием корма)	30,8±1,50	65,7±0,1	260,2±1,3*	2,6±0,06	0,7±0,06	104,3±12,9	Не обн.
60–90 мин	31,3±0,87	65,7±0,1	262,5±1,1**	2,7±0,03	0,7±0,08	46,7±20,7	12,5±2,3
90–120 мин	32,3±1,22	65,8±0,1	260,8±1,1*	2,8±0,08	0,7±0,11	96,9±18,9	13,3±4,8
120–150 мин	33,7±1,02	65,8±0,1	259,0±1,0	2,7±0,04	0,8±0,08	59,6±16,6	6,4±1,9
150–180 мин	34,3±1,91	65,7±0,1	259,0±1,5	2,7±0,03	1,4±0,19	56,5±8,2	17,6±7,4

Примечание. * – достоверно при $p \leq 0,01$; ** – достоверна при $p \leq 0,001$.

Содержание фруктозамина в панкреатическом соке кур через час после кормления достоверно (при $p \leq 0,001$) увеличилось на 1,9%, а через 1,5 часа – на 2,9% (при $p \leq 0,01$) по сравнению с уровнем этого показателя до кормления. Однако уже через 2 часа после поступления корма концентрация фруктозамина снизилась на 0,7%, через 2,5 часа – еще на 0,7% и затем не изменялась, что может быть связано с увеличением содержания глюкозы в сыворотке крови и требует дальнейших исследований. Содержание желчных кислот и кальция в панкреатическом соке кур было постоянным и не зависело от приема корма.

Содержание фосфора в панкреатическом соке кур через час после кормления снизилось на 30% и оставалось на таком же уровне и через 1,5 часа после кормления и через 2 часа, затем по прошествии 2,5 часов после кормления этот показатель вырос на 10% и через 3 часа – увеличился еще на 35%.

Содержание цинка в панкреатическом соке кур после кормления постепенно снижалось сначала на 10,1% через 1 час после кормления, а затем еще через полчаса резко снизилось еще на 55,2%. По прошествии 2-х часов после кормления концентрация цинка в соке поджелудочной железы увеличилась на 49,9%, однако первоначального уровня не достигла. Через 2,5 часа после кормления содержание цинка резко снизилось на 38,5%, а еще через 30 минут – на 3,5%.

Крайне нестабильным было и содержание меди в панкреатическом соке кур, поскольку через час после кормления этот показатель был обнаружен лишь в следовых концентрациях, а через 1,5 часа после кормления – увеличился практически в 3 раза. По прошествии 30 минут было отмечено увеличение концентрации меди в соке поджелудочной железы на 6,4%. Через 2,5 часа после кормления содержание данного элемента снизилось на 48,1%, а через 3 часа – резко увеличилось практически в 3 раза, что в 4 раза превышает уровень меди до кормления кур.

Заключение

Таким образом, прием корма у птицы является мощным стимулом повышения активности ферментов поджелудочной железы. Наряду с активностью ферментов в постпрандиальную фазу изменяется содержание в панкреатическом соке общего белка, фруктозамина, фосфора, цинка, меди. Удалось обнаружить, что количество протеолитических ферментов в соке поджелудочной железы кур возрастало после приема корма, так же как и количество общего белка, в то время как активность панкреатической амилазы резко увеличивалась (на 10,8%) сразу после приема корма, затем в течение 3-х часов после кормления наблюдались незначительные скачки. Резко увеличивалась активность липазы (на 52,8%) сразу после кормления, затем она также менялась скачкообразно. Также незначительно увеличивалось содержание фруктозамина в панкреатическом соке. На постоянном уровне после приема корма оставались показатели желчных кислот и кальция, что указывает на отсутствие их связи с ферментативной активностью. Также нестабильным было содержание цинка и меди, которые не были обнаружены в некоторых пробах.

Библиографический список

1. Алиев А.А. Методы фистулирования желудочно-кишечного тракта и взятие крови у птиц. Калуга. 1970. С. 35–37.
2. Батоев Ц.Ж. Физиология пищеварения птиц // Улан-Удэ: Издательство Бурятского университета, 2001. 214 с.

3. Батоев Ц.Ж., Батоева С.Ц. Методика наложения фистул для изучения секреции поджелудочной железы и желчевыделения у птиц // Физиологический журнал СССР. 1970. № 12. С. 1867–1868.

4. Вертипрахов В.Г., Грозина А.А., Долгорукова А.М. Активность ферментов поджелудочной железы у цыплят-бройлеров на разных этапах пищеварения // Сельскохозяйственная биология. 2016. № 4. С. 509–515.

5. Вертипрахов В.Г. Применение ферментных препаратов на цеолитовой основе для коррекции пищеварения у животных. Монография // ГНУ НИИ ветеринарии Восточной Сибири СО РАСХН Забайкальский аграрный институт. 2004. 104 с.

6. Коротько Г.Ф. Формирование ферментного компонента секретов пищеварительных желез (обзор) // Физическая культура, спорт – наука и практика. 2013. № 1. С. 51–57.

7. Поляков И.И. Пищеварение у кур: Автореферат диссертации на соискание ученой степени д-ра биол. наук, Москва, 1961. 31 с.

8. Сосина З.М. Методика исследования дуоденального пищеварения у домашних птиц // Физиологический журнал СССР. 1965. № 11. С. 1391.

9. Смолин С.Г. Физико-химические показатели и активность ферментов сока поджелудочной железы у кур, свиней и собак // Красноярский государственный аграрный университет, Красноярск, 2008. 155 с.

10. Смолин С.Г. Физико-химические показатели и содержание ферментов панкреатического сока у кур, свиней, и собак в сравнительно-видовом аспекте // Дисс. на соиск. Ученой степени д-ра биол. наук, Улан-Удэ. 1998. 296 с.

11. Bargo G.D., Harrison P.S., Mc Ginnis J.A. A method for cannulation of pancreatic in rong chicks // Poultry Science. 1968. V. 47. P. 1818.

12. Brzek P., Ciminari M.E., Kohl K.D. Effect of age and diet composition on activity of pancreatic enzymes in birds // J. Comp. Physiol. B. 2013. V. 183(5). P. 685–697.

13. Gancz A.Y., Wellehah J.F., Boutette J. Diabetes mellitus concurrent with hepatic haemosiderosis in two macaws (*Ara severa*, *Ara militaris*) // Avian Pathol. 2007. V. 36(4). P. 331–336.

14. Ren L.Q., Zhao F., Tan H.Z. Effects of dietary protein source on the digestive enzyme activities and electrolyte composition in the small intestinal fluid of chickens // Poultry Sci. 2012. V. 91(7). P. 1641–1646.

15. Smith B., Roe J. A photometric method for determination of amylase in blood and urine with the use of Starch–Iodinecolour // J. Biol. Chem. 1949. V. 179. P. 53.

ON THE CHEMICAL COMPOSITION OF HENS' PANCREATIC JUICE

A.A. GROZINA

(Federal Scientific Center “All-Russian Research and Technological Institute of Poultry Breeding” at RAS)

The pancreas is the central digestive organ in both mammals and birds. For a long time (until 1961), the exocrine function of the pancreas in birds was poorly understood. The reason was an anatomical feature, i.e. the connection of three pancreatic ducts and one bile duct into one papilla, which in turn opens into the lumen of the duodenum, which became an obstacle to obtaining a pure pancreatic juice without a bile admixture. For a long time, attempts were made to obtain pure pancreatic juice (Polyakov, 1961; Sosina, 1965; Aliyev, 1970, etc.), but all of them had a number of significant drawbacks. Only the method of Ts.Zh. Batoyev and S. Ts. Batoyeva (1970) based on the implantation of the main pancreatic duct into an isolated segment

of the intestine, was successfully used and is still relevant today. The advantage of this technique is that the pancreatic juice is collected only for a short period of time, and is redirected to the intestines for the rest of the time, which contributes to the preservation of bird productivity. The uniqueness of this work is that the authors have studied numerous indicators of birds' pancreatic juice, such as the activity of amylase, lipase, protease, total protein, calcium, phosphorus, bile acids, fructosamine, zinc, and copper. Many of these indicators have not been previously studied in birds. The results suggest that the composition of the pancreatic juice of chickens varies greatly after feeding, while the content of calcium and phosphorus, as well as bile acids remains stable. The obtained data are fundamental and can be used further to study the physiology of pancreatic secretion in birds.

Key words: chickens, pancreas, pancreatic juice, amylase, lipase, proteases, blood biochemistry.

References

1. Aliyev A.A. Metody fistulirovaniya zheludochno-kishechnogo trakta i vzyatie krovi u ptits [Methods of fistulation of the gastrointestinal tract and taking blood from birds]. Kaluga. 1970. Pp. 35–37.
2. Batoyev Ts.Zh. Fiziologiya pishchevareniya ptits [The digestion physiology of birds] // Ulan–Ude: Izdatelstvo Buryatskogo Universiteta, 2001. 214 p.
3. Batoyev Ts.Zh., Batoyeva S.Ts. Metodika nalozheniya fistul dlya izucheniya sekretsii podzheludochnoy zhelezy i zhelchevydeleniya u ptits [Methods of imposing fistulas for studying the pancreas secretion and biliary excretion in birds]. Fiziologicheskiy zhurnal SSSR. 1970. Vol. 12. Pp. 1867–1868.
4. Vertiprakhov V.G., Grozina A.A., Dolgorukova A.M. Aktivnost fermentov podzheludochnoy zhelezy u tsyplyat-broylerov na raznykh etapakh pishchevareniya [Pancreatic enzyme activity in broiler chickens at different stages of digestion] // Selskohozyaistvennaya biologiya. 2016. Vol. 4. Pp. 509–515.
5. Vertiprakhov V.G. Primenenie fermentnykh preparatov na tseolitovoy osnove dlya korrektsii pishchevareniya u zhivotnykh. Monografiya [The use of enzyme preparations on a zeolitic basis for digestion correction in animals. Monograph]. GNU NII Veterinarii Vostochnoy Sibiri SO RASKHN Zabaykalskiy Agrarniy Institut. 2004. 104 p.
6. Korotko G.F. Formirovanie fermentnogo komponenta sekretov pishchevaritelnykh zhelez (obzor) [The formation of the enzyme component of secretions of the digestive glands (review)] // Fizicheskaya kultura, sport – nauka i praktika. 2013. Vol. 1. Pp. 51–57.
7. Polyakov I.I. Pishchevarenie u kur [Digestion in chickens]: Avtoreferat dissertatsii na soiskanie uchenoy stepeni doctora biol. nauk, Moskva, 1961. 31 p.
8. Sosina Z.M. Metodika issledovaniya duodenalnogo pishchevareniya u domashnih ptits [Methods of studying duodenal digestion in poultry] // Fiziologicheskiy zhurnal SSSR. 1965. Vol. 11. Pp. 1391.
9. Smolin S.G. Fiziko-himicheskie pokazateli i aktivnost fermentov soka podzheludochnoy zhelezy u kur, sviney i sobak [Physical-and-chemical indicators and enzyme activity of pancreatic juice in chickens, pigs and dogs]. Krasnoyarskiy Agrarniy Universitet, Krasnoyarsk, 2008. 155 p.
10. Smolin S.G. Fiziko-himicheskie pokazateli i sodержanie fermentov pankreaticheskogo soka u kur, sviney, i sobak v sravnitel'no-vidovom aspekte [Physical-and-chemical parameters and the content of pancreatic juice enzymes in chickens, pigs, and dogs in a comparatively specific aspect] //Diss. na soiskaniye uchenoy stepeni doktora biol. nauk, Ulan–Ude. 1998. 296 p.

11. *Bargo G.D., Harrison P.S., Mc Ginnis J.A.* A method for cannulation of pancreatic in rong chicks// *Poultry Science*. 1968. Vol. 47. P. 1818.
12. *Brzek P., Ciminari M.E., Kohl K.D.* Effect of age and diet composition on the activity of pancreatic enzymes in birds // *J. Comp. Physiol. B*. 2013. Vol. 183(5). Pp. 685–697.
13. *Gancz A.Y., Wellehah J.F., Boutette J.* Diabetes mellitus concurrent with hepatic haemosiderosis in two macaws (*Ara severa*, *Ara militaris*) // *Avian Pathol*. 2007. Vol. 36(4). Pp. 331–336.
14. *Ren L.Q., Zhao F., Tan H.Z.* Effects of dietary protein source on the digestive enzyme activities and electrolyte composition in the small intestinal fluid of chickens//*Poultry Sci*. 2012. Vol. 91 (7). Pp. 1641–1646.
15. *Smith B., Roe J.* A photometric method for determination of amylase in blood and urine with the use of Starch–Iodine colour // *J. Biol. Chem*. 1949. Vol. 179. P. 53.

Грозина Алена Андреевна – к.б.н. ст. науч. сотр. отдела физиологии и биохимии, Федеральный научный Центр «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт птицеводства» РАН (141300, Московская область, г. Сергиев Посад, ул. Птицеградская, д.10; тел/факс: (496) 551-21-38; e-mail: alena_fisinina@mail.ru).

Alena A. Grozina – PhD (Bio), Senior Research Associate, Department of Physiology and Biochemistry of Federal Scientific Center “All-Russian Research and Technological Poultry Institute” at RAS (141300, Moscow region, Sergiev Posad, Ptitsegradskaya Str., 10; phone/fax: +7 (496) 551-21-38; e-mail: alena_fisinina@mail.ru).