



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **154646** (13) **U**
(51) МПК (2023.01)
G01N 33/483 (2006.01)
G01N 1/00

НАЦІОНАЛЬНИЙ ОРГАН
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ ВЛАСНОСТІ
ДЕРЖАВНА ОРГАНІЗАЦІЯ
"УКРАЇНСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ
ОФІС ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ ТА ІННОВАЦІЙ"

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

<p>(21) Номер заявки: u 2023 01782</p> <p>(22) Дата подання заявки: 17.04.2023</p> <p>(24) Дата, з якої є чинними права інтелектуальної власності: 30.11.2023</p> <p>(46) Публікація відомостей про державну реєстрацію: 29.11.2023, Бюл.№ 48</p>	<p>(72) Винахідник(и): Куц Микола Миколайович (UA), Шершнев Віктор Пилипович (UA), Паращенко Віталій Анатолійович (UA), Фесенко Ірина Анатоліївна (UA), Бирка Олена Вікторівна (UA), Куц Людмила Леонідівна (UA), Малюкіна Ольга Сергіївна (UA)</p> <p>(73) Володілець (володільці): ДЕРЖАВНИЙ БІОТЕХНОЛОГІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, вул. Алчевських, 44, м. Харків, 61002 (UA)</p>
---	---

(54) СПОСІБ ОЦІНКИ МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ КИШЕЧНИКУ СІЛЬСЬКОГОСПОДАРСЬКОЇ ПТИЦІ

(57) Реферат:

Спосіб оцінки морфофункціонального стану кишечника сільськогосподарської птиці включає визначення на гістологічних препаратах показників висоти, ширини і площі поверхні ворсинок, глибини крипт, відношення висоти ворсинок до глибини крипт тонкого відділу кишечника.

UA 154646 U

UA 154646 U

Корисна модель належить до тваринництва та може бути використана в наукових дослідженнях для оцінки морфологічного і функціонального стану кишечника сільськогосподарської птиці, а саме за впливу на організм зовнішніх факторів, в першу чергу компонентів раціону, а також може бути використана у селекційній роботі для визначення потенційної продуктивності птиці.

Відомі способи оцінки стану кишечника сільськогосподарської птиці [2, 4, 7, 9, 14, 15], зокрема вони застосовуються у фізіологічних, біохімічних, мікробіологічних, морфологічних дослідженнях для постановки діагнозу за його хвороб, для оцінки росту і розвитку тварин, функціональної активності в дослідженнях впливу на організм біотичних і абіотичних факторів, у першу чергу, компонентів раціону. Крім того, за станом органів травлення можна давати оцінку і самим компонентам раціону. Але в даних способах не можна візуалізувати і оцінити стан основної морфофункціональної одиниці кишечника - комплексу крипта-ворсинка, що характеризує його морфофункціональний стан і забезпечує виконання майже всіх функцій кишечника [1, 12, 13]. Здатність перетравлювати і всмоктувати велику кількість поживних речовин корму є лімітуючим фактором, що обумовлює інтенсивність росту і продуктивність сільськогосподарських тварин [6, 11]. Процес всмоктування відбувається завдяки кишковим ворсинкам, від стану яких залежить його інтенсивність. Морфологічними маркерами більш інтенсивних процесів всмоктування є більший розмір ворсинок: їх довжина, ширина, а також площа поверхні [5]. У криптах відбувається утворення епітеліальних клітин, що вкривають ворсинки і забезпечують процеси всмоктування. Глибина крипт є одним з показників "кишечникового здоров'я" [8]. За дії несприятливих чинників глибина крипт є більшою, а відношення висоти ворсинки до глибини крипти є меншим [3].

Найближчим аналогом корисної моделі є метод визначення морфофункціонального стану кишечника або певної кишки за допомоги описового способу оцінки мікроскопічної будови стінки кишечника на гістологічному препараті певної кишки, що полягає в тому, що послідовно описуються оболонки стінки кишки, їх шари, а також крипти і ворсинки [10]. При цьому звертається увага на форму цих структур, гістологічний і клітинний склад, можливі порушення мікроскопічної будови. Але при цьому методі описується стан мікроструктур кишечника, за якими можна оцінити ступінь їх ураження під час хвороби, що важливо для постановки діагнозу, або дати загальну гістологічну характеристику, що не дають детальної оцінки морфофункціонального стану, а саме його кількісної оцінки.

Задачею корисної моделі є удосконалення способу оцінки морфофункціонального стану кишечника сільськогосподарської птиці. Спосіб оцінки морфофункціонального стану кишечника сільськогосподарської птиці полягає в тому, що за допомогою мікроскопа на гістологічних препаратах зі зрізу тонкого відділу кишечника птахів контрольної і дослідної груп визначають морфометричні показники стінки кишків і порівнюють між собою. За наявності достовірних відмінностей між ними роблять висновок про більшу або меншу функціональну активність кишечника.

Поставлена задача вирішується тим, що у способі оцінки морфофункціонального стану кишечника сільськогосподарської птиці, який включає визначення морфометричних показників мікроструктур тонкого відділу кишечника, згідно з корисною моделлю, на гістологічних препаратах визначають показники висоти, ширини і площі поверхні ворсинок, глибини крипт, а також такого показника, як відношення висоти ворсинок до глибини крипт тонкого відділу кишечника.

Для здійснення способу, що пропонується, на гістологічних препаратах з поперечного зрізу тонкого відділу кишечника птиці контрольної і дослідної групи під світловим мікроскопом за допомогою окуляр-мікрометра або цифрової камери з відповідним програмним забезпеченням, що дозволяє робити виміри, визначають такі морфометричні показники мікроскопічних структур слизової оболонки дванадцятипалої або/і порожньої, або/і клубової кишки, як висоту і ширину ворсинок, а також глибину крипт. Для визначення площі поверхні ворсинок використовують таку формулу [5]:

$$S=(a+b)/2xc, (1)$$

де: S - площа поверхні ворсинки; a - ширина ворсинки біля верхівки; b - ширина ворсинки біля основи; c - висота ворсинки.

Отримані певні морфометричні показники мікроструктур певної кишки птиці дослідної групи порівнюють з відповідними показниками тієї ж кишки птиці контрольної групи, і після математичної обробки достовірності різниці роблять висновок щодо збільшення, зменшення або відсутності зміни функціональної активності кишечника, а саме процесів всмоктування поживних речовин.

Приклади практичного виконання способу

Приклад 1. Спосіб оцінки морфофункціонального стану кишечника свійських гусей середньої і важкої породи здійснювали наступним чином: Під мікроскопом за допомогою окулярної цифрової камери Sigeta MCMOS 5100 5.1MP і програми ToupView до неї на гістологічних препаратах з поперечного зрізу дванадцятипалої кишки гусей середньої породи Горьківської і важкої породи Легарт (n=5) визначали наступні морфометричні показники мікроскопічних структур: висоту ворсинок, їх ширину і висоту біля основи і біля верхівки, а також глибину крипт (табл. 1). Від кожної з 5 особин кожної групи робили по 30 промірів.

1. Згідно з формулою (1) визначали площу поверхні ворсинок, а також відношення висоти ворсинок до глибини крипт.

Таблиця 1

Показники маси тіла і морфометричні показники дванадцятипалої кишки гусей горьківської породи і легарт 6-місячного віку, г, M±m, n=5

Показник	Порода		
	горьківська	легарт	легарт до горьківської, %
Маса тіла, г, n=20	4870,0±137,0	4285,0±62,4	113,7**
Висота ворсинки, мкм	588,9±14,2	673,7±16,3**	114,4
Ширина ворсинки біля основи, мкм	99,3±2,8	121,8±3,8**	122,7
Ширина ворсинки біля верхівки, мкм	132,2±3,3	135,9±4,2	102,8
Середня ширина ворсинки, мкм	115,8±3,2	128,9±4,2*	111,3
Площа поверхні ворсинки, x10 ³ , мкм ²	67,9±3,3	86,4±2,8**	115,6
Глибина крипт, мкм	292,8±5,8	308,5±6,6**	105,4
Відношення висоти ворсинки до глибини крипт	2,0±0,2	2,2±0,2	101,9

Примітка: * - p≤0,05, ** - p≤0,01 - показники дванадцятипалої кишки гусей породи легарт до горьківської.

Результат: гуси середньої породи горьківської мали масу тіла 4870,0±137,0 г, маса тіла гусей важкої породи - легарт становила 4285,0±62,4 г, що було більше на 13,7 % (p≤0,05). Порівняно з показниками дванадцятипалої кишки гусей горьківської породи показники гусей породи легарт були більшими: висота ворсинки на 22,7 % (p≤0,01), ширина ворсинки біля основи - на 22,7 %, біля верхівки - на 2,8 %, середня ширина ворсинки - на 11,3 %, площа поверхні ворсинки - на 15,6 % (p≤0,01), глибина крипт - на 5,4 %. Отже, у гусей більш важкої породи були достовірно більшими такі морфометричні показники дванадцятипалої кишки, як висота ворсинки, ширина ворсинки біля основи і середня ширина ворсинки, а також площа поверхні ворсинки, що свідчить про більш високу морфофункціональну активність даного органа, а також про те, що дані показники можуть бути маркерами більш високої продуктивності птиці.

Приклад 2. Спосіб оцінки морфофункціонального стану кишечника курчат-бройлерів за використання рістстимулюючої кормової добавки здійснювали наступним чином:

1. Для проведення дослідів було сформовано 2 групи курчат-бройлерів кросу Кобб-500 - контрольну і дослідну (n=20). Курчатам контрольної групи давали тільки стандартний кормовий раціон і чисту питну воду, дослідної групи - додатково з водою застосовували фітобіотичний препарат ДостоЛіквід. Даний препарат містить натуральну ефірну олію рослини Материнка звичайна, яка стимулює травлення, сприяє розвитку здорової мікрофлори кишечника, активує синтез ферментів травлення. Біологічно активні речовини, що входять до складу препарату, мають протизапальну, знеболювальну, спазмолітичну, антибактеріальну, протигрибкову, антисептичну та протипухлинну дію [10-13].

2. За результатами визначення маси тіла курчат-бройлерів 42-добового віку встановлено, що у птиці контрольної групи вона дорівнювала 2314,8±58,0 г, дослідної групи - 2512,7±71,2 г, що було більше на 8,5 % (p≤0,05). Після забою курчат були відібрані зразки порожньої кишки, з яких згідно з класичною методикою були виготовлені гістологічні препарати.

3. Аналогічно до попереднього опису під мікроскопом на гістологічних препаратах з поперечного зрізу порожньої кишки курчат-бройлерів (n=5) визначали наступні морфометричні показники мікроскопічних структур: висоту ворсинок, їх ширину біля основи і біля верхівки, а також глибину крипт. Від кожної з 5 особин кожної групи робили по 30 промірів.

4. Згідно з формулою (1) визначали площу поверхні ворсинок, а також відношення висоти ворсинок до глибини крипт (табл. 2).

Таблиця 2

Показники маси тіла і морфометричні показники порожньої кишки курчат-бройлерів контрольної і дослідної груп 42-добового віку, г, $M \pm m$, $n=5$

Показник	Група		
	контрольна	дослідна	к/д, %
Маса тіла, г, $n=20$	2314,8±58,0	2512,7±71,2*	108,5**
Висота ворсинки, мкм	554,3±18,1	640,1±23,6*	108,5
Ширина ворсинки біля основи, мкм	113,0±3,2	129,8±3,6**	114,9
Ширина ворсинки біля верхівки, мкм	92,4±3,4	97,6±4,0	105,6
Середня ширина ворсинки, мкм	102,7±4,3	113,7±4,0	110,7
Площа поверхні ворсинки, $\times 10^3$, мкм ²	56,9±3,5	72,8±3,3*	127,9
Глибина крипти, мкм	262,3±5,2	231,4±5,3**	88,2
Відношення висоти ворсинки до глибини крипти	2,1±0,2	2,8±0,1	1,33

Примітка: * - $p \leq 0,05$, ** - $p \leq 0,01$ - показники порожньої кишки курчат дослідної групи до контрольної.

5 Результат: курчата-бройлери контрольної групи мали масу тіла 2314,8±58,0 г, маса тіла курчат дослідної групи становила 2512,7±71,2 г, що було більше на 8,5 % ($p \leq 0,05$). Порівняно з показниками порожньої кишки курчат контрольної групи показники дослідної групи були більшими: висота ворсинки на 8,5 % ($p \leq 0,05$), ширина ворсинки біля основи - на 14,9 % ($p \leq 0,01$), біля верхівки - на 5,6 %, середня ширина ворсинки - на 10,7 %, площа поверхні ворсинки - на 27,9 % ($p \leq 0,05$). Глибина крипт була меншою на 11,8 % ($p \leq 0,01$).

10 Отже, у курчат дослідної групи, яким застосовували кормову добавку ДостоЛіквід, були достовірно більшими такі морфометричні показники порожньої кишки, як висота ворсинки, ширина ворсинки біля основи, а також площа поверхні ворсинки, що свідчить про більш високу морфофункціональну активність даного органу, а також те, що дані показники можуть бути маркерами високої продуктивності птиці. Менший показник глибини крипти і показник відношення висоти ворсинки до глибини крипти свідчить про більш сприятливі умови для функціонування кишечних ворсинок, що відбулось через позитивний вплив біологічно активних речовин фітобіотичного препарату.

15 Таким чином, запропонований спосіб оцінки морфофункціонального стану кишечника сільськогосподарської птиці дозволяє:

- 20 1) давати оцінку впливу раціону або його складових на інтенсивність всмоктування поживних речовин і, таким чином, на функціональну активність кишечника;
- 2) давати дотичну оцінку інтенсивності росту і стану продуктивності;
- 25 3) за морфофункціональним станом кишечника давати характеристику компонентам раціону як поживним, так і біологічно активним речовинам.

Джерела інформації:

1. Alshamy Z., Richardson K.C., Hünigen H., Hafez H.M., Plendl J., Al Masri S. Comparison of the gastrointestinal tract of a dual-purpose to a broiler chicken line: a qualitative and quantitative macroscopic and microscopic study. PLoS One. 19.2018. Vol. 13(10): e0204921.
- 30 2. Forder R.E.A., Natrass G.S., Geier M.S., Hughes R.J., Hynd P.I. Quantitative analyses of genes associated with mucin synthesis of broiler chickens with induced necrotic enteritis. Poultry Science. 2012. Vol. 91. P. 1335-1341.
3. Gehart H., Clevers H. Tales from the crypt: new insights into intestinal stem cells. Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology. 2019. 16(1). P. 19-34.
- 35 4. Hill K.J. Physiology of the digestive tract. Physiology and Biochemistry of the Domestic Fowl. D. J. Bell and B. M. Freeman. New York: Academic Press, 1979. P. 31-47.
5. Iji P.A., Saki A., Tivey D.R. Body and intestinal growth of broiler chickens on a commercial starter diet. 1. Intestinal weight and mucosal development. Br. Poultry Science. 2001. Vol. 42. P. 505-513.
- 40 6. Joseph N.M., He S., Quintana E., Kim Y., Núñez G., Morrison S. J. Enteric glia are multipotent in culture but primarily form glia in the adult rodent gut. The Journal of Clinical Investigation. 2011. Vol. 121(9). P. 3398-3411.

7. Krogdahl A., Sell J.L. Influence of age on lipase, amylase and protease activities in pancreatic tissue and intestinal contents of young turkeys. *Poultry Science*. 1989. Vol. 68. P. 1561-1568.

8. Lilburn M.S., Loeffler, S. Early intestinal growth and development in poultry. *Poultry Science*. 2015. Vol. 94 (7). P. 1569-1576.

5 9. Mitchell M.A., Smith M.W. The effects of genetic selection for increased growth rate on mucosal and muscle weights in the different regions of the small intestine of the domestic fowl (*Gallus domesticus*). *Comparative Biochemistry and Physiology*. 1991. Vol. 99. P. 251-258.

10 10. Mitjans M.G., Barniol G., Ferrer R. Mucosal surface area in chicken small intestine during development. *Cell and Tissue Research*. 1997. Vol. 290. P. 71-78.

11 11. Ravindran V., Abdollahi M.R. Nutrition and digestive physiology of the broiler chick: state of the art and outlook. *Animals* 2021, 11, 2795.

12 12. Walton K.D., Kolterud A., Czerwinski M.J., Bell M.J., Prakash A., Kushwaha J., Grosse A.S., Schnell S., Gumucio D.L. Hedgehog-responsive mesenchymal clusters direct patterning and emergence of intestinal villi. *Proceedings National Academy of Sciences of the United States of America*. 2012. Vol. 109(39). P. 15817-15822.

13 13. Wang X., Peebles E.D., Morgan T.W., Harkess R.L., Zhai W. Protein source and nutrient density in the diets of male broilers from 8 to 21 d of age: effects on small intestine morphology. *Poultry Science*. 2015. Vol. 94(1). P. 61-67.

14 14. Wu G. Intestinal mucosal amino acid catabolism. *The Journal of Nutrition*. 1998. Vol. 128. P. 1249-1252.

15 15. Ziswiler V. Function and structure of the alimentary tract as an indicator of evolutionary trends. *Fortschritte der Zoologie*. 1985. Vol. 130. P. 295-303.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

25 Спосіб оцінки морфофункціонального стану кишечника сільськогосподарської птиці, що включає визначення морфометричних показників мікроструктур тонкого відділу кишечника, який відрізняється тим, що на гістологічних препаратах визначають показники висоти, ширини і площі поверхні ворсинок, глибини крипт, а також такого показника, як відношення висоти ворсинок до глибини крипт тонкого відділу кишечника.