

mals (experimental group) and 10 healthy cows (control group) in the dry period for 2 months before the expected calving biochemical blood tests were carried out. In the blood of animals determined: calcium, phosphorus, copper, zinc, iron, magnesium, alkaline reserve blood serum level, as well as the level of parathyroid hormone, calcitonin and calcitriol, the active in mineral metabolism. When analyzing the diet of animals, it was found that due to the feed ration incalf cows in calcium availability was 46.3 %, phosphorus - 61.1 %, magnesium - 98.8 %, potassium - 213.0 %, sulphur - 74.3 %, iron - 484.2 %, copper - 88.2%, zinc - 63.6 %, cobalt - 25.3 %, manganese - 69.3 %, iodine - 29.4 %, karotine - 84.2 %, vitamin D - 38.9 %, vitamin E - 293.1 %. At 42.3 % of sick animals there were obvious clinical signs of osteodistrophiaa, 38.5 % had subclinical for osteodistrophiaa. 19.2 % of cows all livestock were clinically healthy. Osteodistrofia patients in subclinical cows in the blood has been found to a significant reduction in the level of calcium, phosphorus, copper, zinc and reserve alkalinity, calcitonin, calcitriol and increased levels of parathyroid hormone.

Key words: cow osteodistrofia, mineral metabolism, hormones.

УДК 636:612.33

ТРАНСПОРТ МЕДИ В СОЛЕВОЙ И ХЕЛАТНОЙ ФОРМАХ КИШЕЧНИКОМ ЖВАЧНЫХ В УСЛОВИЯХ IN VITRO

Ковалёнок Ю.К.

УО «Витебская ордена «Знак Почёта» государственная
академия ветеринарной медицины», Беларусь

Аннотация. В условиях модельного эксперимента *in vitro* установлены значимые ($P < 0,001$) различия механизмов кишечного транспорта меди в солевых и хелатных формах. Предполагается, что хелатирование меди этилендиаминтетраацетатом приводит к всасыванию элемента по парацеллюлярному пути.

Ключевые слова: медь, всасываемость, биодоступность, телята.

Введение. База современных знаний о минеральных веществах, их

свойствах, влиянии на продуктивность, плодовитость и здоровье сформирована трудом многих выдающихся учёных (А.П. Виноградов, В.В. Ковальский, Г.А. Бабенко, А.П. Авцын, В.И. Георгиевский, А.А. Кабыш и др.).

Благодаря научному наследию, обществом достигнут значительный прогресс в деле минерального питания животных и профилактики болезней данного происхождения. Вместе с тем, современная интенсификация животноводства, изменения технологий земледелия, заготовки, хранения и использования кормов привели к увеличению распространения микроэлементозов животных. Данные обстоятельства привели к тому, что на рубеже XX–XXI столетий интерес учёных к проблеме микроэлементозов значительно возрос.

Актуальнейшим научным направлением ведущих мировых ветеринарных фармацевтических производителей является конструирование новых ветеринарных препаратов и добавок хелатного типа, в которых медь содержится в виде комплекса с лигандом, улучшающим транспорт элемента через стенку кишки [2; 6; 9; 10]. Известно, что современные ветеринарные минеральные препараты хелатного типа обладают более высоким эффектом в сравнении с солями, при этом предполагается, что данный феномен сопряжен с большей биодоступностью. Вместе с тем, системных, модельных исследований механизмов, обеспечивающих высокий эффект в современном информационном поле ветеринарии, нами не обнаружено. Более того, некоторые авторы [2; 9] указывают на гипотетическую опасность хелатов ввиду возможных социальных последствий, противоречивости всасываемости ионов из соединений хелатного типа и сорбции лигандами других, находящихся в химусе элементов.

Базовые знания о микроэлементах указывают, что всасываемость минералов зыблется в основном на 2 линиях: диссоциация ионов и их транспорт через кишечный эпителий. Транспорт при этом осуществляется по механизму вторичного активного и реализуется посредством специальных систем энтероцита. В зависимости от различных вариантов констелляции факторов, влияющих на всасываемость, может определяться как преимущественно за счет первой или второй стадии.

В данном контексте целью настоящих исследований явилось определение истоков значимых различий в уровнях всасываемости меди из желатных и солевых форм микроэлемента.

Материал и методы исследований. Работа проводилась на базе кафедры клинической диагностики УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины» и лаборатории физиологии питания Института физиологии им. И.П. Павлова РАН. В опытах использовалось разработанное устройство (рисунок) для изучения всасываемости веществ кишечником животных [7].

В основе модели лежит принцип изучения всасываемости веществ *in vitro* на изолированном из организма кишечном сегменте, исходные положения которого выдвинул основоположник мембранного пищеварения академик Александр Михайлович Уголев.

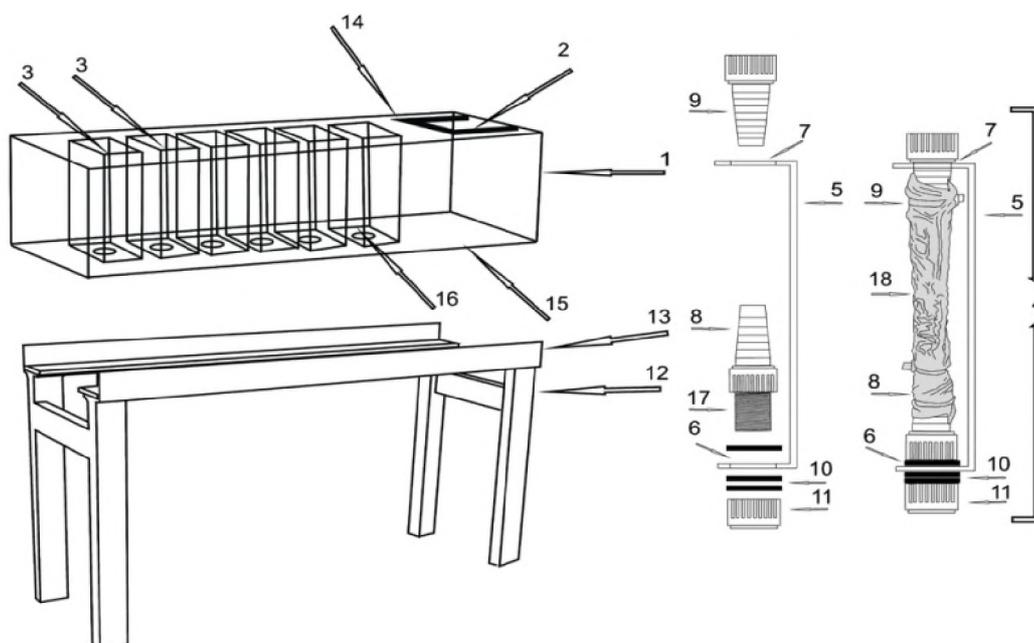


Рисунок – Устройство для изучения всасываемости веществ кишечником животных:

- 1 – корпус устройства; 2 – отверстие для погружного циркуляционного термостата;
- 3 – автономные рабочие камеры; 4 – фиксирующая пластина; 5 – собственно пластина;
- 6 – нижнее и 7 – верхнее отверстие собственно пластины; 8 – нижний и 9 – верхний штуцер;
- 10 – уплотнительные кольца; 11 – глухая гайка; 12 – основание станины;
- 13 – платформа станины; 14 – верхнее и 15 – нижнее основание корпуса;
- 16 – отверстие для нижнего штуцера, 17 – резьба нижнего штуцера; 18 – участок кишечника

Основываясь на сложившейся концепции взглядов о механизме усвояемости микроэлементов по пути вторичного активного транспорта, исследования, представленные в настоящей работе, строилась на модели, в которой инкубация кишечных препаратов с испытуемыми веществами осуществлялась в условиях аноксии, поскольку известно [1; 8], что подача азота в инкубационную смесь влечет окислительный стресс и блокирует механизмы активного транспорта веществ, поскольку помимо кинетической энергии подобное движение требует дополнительного энергетического источника [1; 8].

Таким образом, в условиях аноксии принципиально невозможно движение элемента против энергетического градиента в комбинации с белком-переносчиком.

Объектом в настоящих исследованиях выступала медь, находящееся в составе соли (CuSO_4) и хелатного его соединения с этилендиаминтетрауксусной кислотой ($\text{NaCuH}(\text{edta})$).

Количество меди в исследуемых субстратах определяли методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой (ICP-MS), используя спектрометр Varian ICP-810-MS.

Анализ полученных данных осуществляли с помощью статистических пакетов SAS 9.2, STATISTICA 9 и SPSS-19. Критическое значение уровня статистической значимости при проверке нулевых гипотез принималось равным 0,05. Выбор критерия оценки значимости парных различий проверяли соответствием формы распределения нормальному, используя критерий χ^2 , а также контролировали равенство генеральных дисперсий с помощью F-критерия Фишера, дополнительно при этом нормальности распределения признака по выборкам осуществлялась посредством критериев Колмогорова и Шапиро-Уилки. Реализация данных статистических процедур показала, что более 83 % всех количественных значений в группах сравнения не имели нормального распределения. В этой связи для сравнения центральных параметров групп использовались непараметрические методы: дисперсионный анализ Краскела-Уоллиса с ранговыми метками Вилкоксона и критерий Ван дер Вардена, а также медианный крите-

рий. Для всех количественных признаков в сравниваемых группах проводилась оценка средних арифметических (M) и среднеквадратических (стандартных) ошибок среднего (m) и 95 % доверительного интервала (95 % ДИ) выборочных средних.

Автор выражает благодарность научным консультантам, курировавшим данные исследования, профессорам Г. Г. Щербакову и А. А. Груздкову.

Результаты исследований. Инкубирование свежеполученных участков тощей кишки крупного рогатого скота в условиях оксигенации и аноксии (таблица) в разработанном устройстве по методике его функционирования [7] показала, что позиции кишечного транспорта меди в разных химических формах имеют принципиальные отличия.

Подача кислорода в рабочие камеры устройства вела к констатации 34-40 % снижения уровня испытуемого элемента в контрольных растворах. Если же в рабочие камеры устройства подавался азот (аноксия), снижение концентрации меди из сульфата составило 5,82 %, в тоже время из контрольного раствора NaCuH(Hedta) уровень элементы снизился на 40 %, что сопоставимо с условиями оксигенации.

Таблица – Показатели кишечного транспорта меди в различных химических формах (M±m; P; n=36)

Испытуемый субстрат	Условия опыта			
	Оксигенация		Аноксия	
	CuSO ₄	NaCuH(Hedta)	CuSO ₄	NaCuH(Hedta)
Контрольный раствор ^а	4,81±0,346	5,20±0,433	4,81±0,346	5,20±0,433
Серозный раствор ^б	0,036±0,0022	0,053±0,0031	0,040±0,0032	0,059±0,0041
Мукозный раствор ^в	3,18±0,266	3,08±0,173	4,53±0,312	3,07±0,238*
Контрольный кишечник ^г	4,20±0,247	4,52±0,336	3,72±0,327	4,04±0,287
Опытный кишечник ^д	12,4±0,90	16,1±0,88*	5,01±0,323	16,92±1,123***

Примечание:

1) ^а Контрольный раствор – исходный испытуемый раствор соответствующего препарата; ^б Серозный раствор – раствор со стороны серозной оболочки после экспозиции устройства; ^в Мукозный раствор – раствор со стороны слизистой оболочки после экспозиции устройства; ^г Контрольный кишечник – участок тощей кишки крупного рогатого скота в начале проведения исследований; ^д Опытный кишечник – участок

тощей кишки крупного рогатого скота после его инкубации;

2) * – $P < 0,05$ и *** – $P < 0,001$ – результаты проверки гипотезы о равенстве межгрупповых средних в сравнении с соответствующими значениями проб солей посредством параметрического F-критерия Фишера и непараметрических критериев Ван дер Вардена, Краскала-Валлиса и медианного критерия.

Вместе с тем, следует отметить, что уровень сквозной диффузии элемента (через кишечную стенку) в серозный раствор практически отсутствовал. Концентрация меди в растворе со стороны серозной оболочки как при оксигенации, так и в условиях аноксии варьировала в ничтожно малом диапазоне от 0,036 до 0,059 мкг/кг, причем это справедливо как для солевой, так и хелатной форм. Данный экспериментально полученный результат в целом не логичен, поскольку выше указано на $\approx 40\%$, статистически значимые различия убывания элемента из мукозного раствора хелатной формы меди.

Представленные данные концентрации меди в серозной жидкости демонстрирует незначительную сквозную диффузию испытуемого вещества. Можно предположить также, что индуктором этого движения не являются законы диффузии и осмоса (или их роль весьма низка в своем удельном значении). Гипотетически можно допустить, что представленные изменения связаны с наличием барьеров для транспорта веществ в виде стромы ворсинок, подслизистой основы, более мощной, в сравнении с лабораторными животными, мышечной и серозной оболочками, не являющимися барьером для всасывания в естественных условиях. Так как в здоровом организме всасываемые вещества непосредственно поступают в кровь и лимфу сети капилляров, находящихся под кишечным эпителием, резонно предполагать, что отсутствие кровотока и лимфотока на пути транспортируемой меди приводит к её кумуляции в кишечной стенке (гипотетически в мышечной или серозной оболочке) при транспорте элемента через нее.

Исследование количества меди в тканях кишки в начале эксперимента показали, что в исследуемых образцах содержание данного элемента балансировало в диапазоне от 3,72 до 4,52 мкг/кг. После инкубации в условиях оксигенации данные значения статистически значимо выросли

причем для хелатной формы элемента на 356 %, а для солевой – на 295 %. Надо отметить, что при межгрупповом сравнения данные различия имели статистическую значимость ($P < 0,05$).

Наиболее яркие, статистически значимые ($P < 0,001$) различия коснулись кумуляции испытуемого субстрата кишечной стенкой после ее инкубации в условиях аноксии. Количественные значения испытуемого элемента в кишечной стенке, кумулирующей медь из солевой формы, возросли до 95 % ДИ 4,76-5,26 мг/кг, что в среднем превышало исходные значения на 26 % и в сравнении с условиями эксперимента, осуществляемого в условиях оксигенации, можно охарактеризовать как ничтожно малый рост показателя, поскольку в последнем увеличение количества элементов констатировано нами на уровне 295 %. Вместе с тем, анализируя полученные числовые значения концентрации меди в составе хелатного соединения с этилендиаминтетраацетатом, можно констатировать сохранившуюся (в сравнении с условиями оксигенации) закономерность.

Так, 95 % ДИ для меди, аккумулярованной кишечной стенкой составил 16,1-17,7 мг/кг. Указанные значения превышали исходные на 418 %, что определило весьма значимый ($P < 0,001$) уровень различий как в сравнении с исходными величинами, так и с конечными, полученными для солей.

Подвергая анализу полученные результаты следует отметить, что существующее научное наследие [1; 8; 9], указывает на преимущественно вторичный активный, белково-опосредованный механизм кишечного транспорта меди, поступающей в желудочно-кишечный тракт в виде солей, с результатами собственных исследований (практическое отсутствие всасываемости элемента из $\text{NaCuH}(\text{Hedta})$ в условиях аноксии), можно предположить, что кишечный транспорт солевых форм элемента реализуется преимущественно по трансцеллюлярному пути вторичного активного транспорта.

Вместе с тем, экспериментально полученный кишечный транспорт меди из $\text{NaCuH}(\text{Hedta})$ в тех же условиях аноксии выступает свидетельством принципиально иных путей и механизмов его всасываемости. Гипотетически можно предположить, что всасываемость элемента из испытуемой хелатной формы не сопряжена активными механизмами трансцеллю-

лярного транспортного пути, поскольку подача азота в инкубационную смесь по сути не повлияла кишечные транспортные позиции данного элемента (таблица). Возможно данный феномен реализуется по парацеллюлярному пути.

Заключение. Исследования всасываемости меди в условиях аноксии позволяют предполагать вторичный активный, белково-опосредованный механизм кишечного транспорта элемента в солевой форме и его блокировку подачей в систему азота. Условия аноксии не показали значимого влияния на всасываемость натрийэтилендиаминтетраацетата меди, что может выступать свидетельством существенных различий в механизмах всасывания солей и хелатов.

Список литературы

1. Всасывание и секреция в тонкой кишке: субмикроскопические аспекты / И.А. Морозов [и др.]. – Москва: Медицина, 1988. – 224 с.
2. Кабиров Г.Ф. Хелатные формы биогенных металлов в животноводстве / Г.Ф. Кабиров, Г.П. Логинов, Н.З. Хазипов. – Казань: ФГОУ ВПО «КГАВМ», 2004. – 248 с.
3. Ковалёнок Ю.К. Микроэлементозы крупного рогатого скота и свиней в Республике Беларусь : монография / Ю.К. Ковалёнок. – Витебск : ВГАВМ, 2013. – 196 с.
4. Ковалёнок, Ю.К. Механизмы всасывания микроэлементов кишечником жвачных в условиях *in vitro* / Ю.К. Коваленок // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины. – Казань, 2012. – Т. 211. – С. 269–274.
5. Ковалёнок, Ю.К. Микроэлементозы крупного рогатого скота на откорме в условиях северо- и юго-востока Беларуси / Ю. К. Коваленок // Ветеринарная медицина. – 2012. – № 1. – С. 28–30.
6. Ковалёнок, Ю.К. Совершенствование диагностики, лечения и профилактики микроэлементозов крупного рогатого скота : рекомендации / Ю.К. Ковалёнок. – Горки: БГСХА, 2012. – 72 с.
7. Ковалёнок, Ю.К. Устройство для изучения всасываемости веществ кишечником животных/ Ю.К. Коваленок // Международный вестник ветеринарии. – 2012. – № 1. – С. 16-20.

8. Кузнецов, С. Микроэлементы в кормлении животных [Электронный ресурс] / С. Кузнецов, А. Кузнецов. – Режим доступа: <http://www.webpticeprom.ru/ru/articles-birdseed.html?pageID=1273837506> - дата обращения - 07.02.2015.

9. Мазо, В.К. Новые пищевые источники эссенциальных микроэлементов-антиоксидантов / В.К. Мазо, И.В. Гмошинский, Л.И. Ширина // Москва: Миклош, 2009. – 208 с.

10. Surai, P. F. Selenium in poultry nutrition: a new look at an old element. Antioxidant properties, deficiency and toxicity / P. F. Surai // World's Poultry Science Journal. – 2002. – Vol. 58. – P. 333–347.

11. Wu L., Gokden N., Mayeux P. R. Evidence for the Role of Reactive Nitrogen Species in Polymicrobial Sepsis-Induced Renal Peritubular Capillary Dysfunction and Tubular Injury. J. Am. Soc. Nephrol., 2007, v. 18, p. 1807 - 1815.

TRANSPORT OF COPPER IN SALT AND CHELATE FORMS BY INTESTINE OF RUMINANTS IN VITRO

Kovalionok Y.K.

EI «Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine», Belarus

The summary. In a condition of model experiment in vitro it has been stated significant ($P < 0,001$) differences of mechanism of intestinal transport of Cu that were in salted and chelate forms. It is assumed that chelating of Cu by ethylenediaminetetraacetate leads to the absorption of element on paracellular way.

Key words: copper, absorption, bioavailability, cattle.

УДК 619:616.34-002:615.246:636.2.053

ПРОИЗВОДСТВЕННО-ЭКОНОМИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ОФЛАМИКСА ПРИ АБОМАЗОЭНТЕРИТЕ ТЕЛЯТ

Ковалёнок Ю.К., Напреенко А.В.

УО «Витебская ордена «Знак Почёта» государственная академия
ветеринарной медицины», Беларусь