11. Iwahashi H. Prostaglandin E2 stimulates AP-1-mediated CD14 expression in mouse macrophages via cyclic AMP-dependent protein kinase A / H. Iwahashi, A. Takeshita, S. Hanazawa // J Immunol 2000; 164: 5403-5408.].
12. Lee M. Y. Lipid rafts play an important role for maintenance of embryonic stem cell self-renewal / M. Y. Lee, J. M. Ryu, S. H. Lee// J Lipid Res2010; 51: 2082-2089.
13. Yamazaki S. Cytokine signals modulated via lipid rafts mimic niche signals and induce hibernation in hematopoietic stem cells / S. Yamazaki, A. Iwama, S. Takayanagi // EMBO J 2006; 25: 3515-3523.
14. Кладницкая Л. В. Получение культуры стволовых клеток из жировой ткани собаки / Л. В. Кладницкая, А. Й. Мазуркевич, С. В. Величко, О. В. Жигунова// Вестник Сумского национального аграрного университета; серия «Ветеринарная медицина», выпуск 6(38), – Сумы 2016, – С.19-24
15. ДСТУ ISO 5508-2001 Жири тваринні і рослинні та олії. Аналіз методом газової хроматографії метилових ефірів жирних кислот.
16. ДСТУ ISO 5509-2002 Жири тваринні і рослинні та олії. Приготування метилових ефірів жирних кислот.
17. Синяк К. М. Метод приготовления липидов крови для газохроматографического исследования / К. М. Синяк, М. Я. Оргела, В. И. Крук // Лаб. дело. Киев, 1976; 1: – С. 37-41.
18. Grundy S. M. What is the desirable ratio of saturated, polyunsaturated, and monounsaturated fatty acids in the diet? / S. M. Grundy // Am. J. Clin. Nutr. - 1997. - Vol.66. -P. 988-990.

УДК 636:612.33

КИШЕЧНЫЙ ТРАНСПОРТ ЖЕЛЕЗА В СОЛЕВОЙ И ХЕЛАТНОЙ ФОРМАХ КИШЕЧНИКОВ ЖВАЧНЫХ В УСЛОВИЯХ IN VITRO

Ю. К. Ковалёнок

УО «Витебская ордена «Знак Почёта» государственная академия ветеринарной медицины»
г. Витебск, Республика Беларусь
(Республика Беларусь, 210026, г. Витебск, ул. Доватора 7/11
e-mail: uovgavm@vitebsk.by)

Ключевые слова: *железо, всасываемость, биодоступность, телята.*

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

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

Y. K. Kovalionok

EI «Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine»
(Republic of Belarus, Vitebsk, 210026, 7/11 Dovatora st.
uovgavm@vitebsk.by)

Key words: *iron, absorption, bioavailability, cattle*

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

(Поступила в редакцию 01.06.2016 г.)

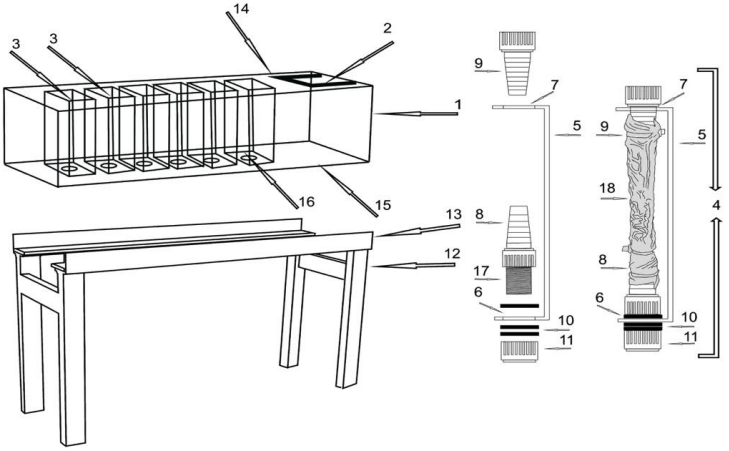
Введение. Микроэлементозы животных продолжают оставаться распространенной проблемой современного животноводства [3, 5, 6]. Разработка новых ветеринарных препаратов хелатного типа, в которых элемент содержится в виде комплекса с лигандом, улучшающим транспорт элемента через кишечную стенку, является актуальным научным направлением в исследованиях [2, 6, 9, 10] и производстве ведущих мировых производителей минеральных препаратов и добавок.

Ветеринарные препараты современного хелатного поколения обладают более высоким производственным эффектом в сравнении с солями, при этом предполагается, что данный эффект сопряжен с большей биодоступностью. Некоторые ученые [1, 2, 4, 8] указывают на значительную производственную эффективность хелатных форм микроэлементов для лечения и профилактики микроэлементозов у животных и птиц. Следует отметить, что системных, модельных исследований механизмов, обеспечивающих высокий эффект, в современном информационном поле ветеринарии нами не обнаружено. Вместе с тем 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. Вышеизложенное сопряжено с низкой изученностью механизмов кишечного транспорта хелатных соединений.

Имеющееся научное наследие показывает, что всасываемость минералов главным образом зыблется на 2 позициях: диссоциация ионов и собственно их транспорт через кишечный эпителий. Транспорт при этом реализуется по механизму вторичного активного и осуществляется посредством специальных систем энтероцита. В зависимости от различных вариантов сочетания факторов, влияющих на всасываемость, ассимиляция может определяться преимущественно за счет первой или второй стадии.

Цель работы: определить истоки значимых различий в уровнях кишечного транспорта железа из хелатных и традиционно используемых солевых форм микроэлемента.

Материал и методика 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].



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

Рисунок – Устройство для изучения всасываемости веществ кишечником животных

В принципиальной основе модели лежит изучение всасываемости веществ in vitro на изолированном из организма кишечном сегменте, исходные положения которого выдвинул основоположник мембранного пищеварения академик А. М. Уголев.

Базируясь на сложившейся позиции 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 веще-

ствами осуществлялась в условиях аноксии, поскольку известно [1, 8], что подача азота в инкубационную смесь неизбежно приводит к окислительному стрессу и блокирует возможные механизмы активного транспорта веществ, поскольку подобное движение, помимо кинетической энергии, требует дополнительного ее источника [1, 8].

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

Объектом исследования в настоящих исследованиях выступало железо, находящееся в составе соли ($Fe(C_3H_5O_3)_2$) и хелатного его соединения с этилендиаминтетрауксусной кислотой (NaFeH(edta).

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

Процедуры анализа 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 осуществлялось 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 критерий. 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 Григорию Гавриловичу Щербакову и Андрею Андреевичу Груздкову.

Результаты исследований и их обсуждение. Инкубация 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 изучаемого элемента в разных его химических формах имеют принципиальные отличия.

Таблица – Показатели кишечного транспорта кобальта в различных его химических формах (M±m, P, n=36)

Испытуемый субстрат	Условия опыта			
	Оксигенация		Аноксия	
	$Fe(C_3H_5O_3)_2$	NaFeH(Hedta)	$Fe(C_3H_5O_3)_2$	NaFeH(Hedta)
Контрольный раствор [а]	185±13,9	218±15,9	185±13,9	218±15,9
Серозный раствор [б]	0,177±0,0087	0,333±0,0186	0,198±0,0104	0,372±0,0191
Мукозный раствор [в]	139±7,79	160±9,1	169±11,0	173±8,5
Контрольный кишечник [г]	21,1±1,31	27,5±1,71	24,1±1,65	31,7±2,92
Опытный кишечник [д]	65,7±3,88	108±6,3***	31,1±1,78	101±5,6***

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<0,001 – 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.*

Подача кислорода в рабочие камеры устройства вела к констатации 25-27% снижения уровня испытуемого элемента в контрольных растворах. Если же в рабочие камеры устройства подавался азот (аноксия), снижение концентрации Fe из лактата составило 8,7%, в то же время из контрольного раствора NaFeH(Hedta) уровень железа уменьшился на 20,7%, что в целом сопоставимо с условиями оксигенации.

Вместе с тем следует отметить, что уровень сквозной диффузии элемента (в серозный раствор) практически отсутствовал. Концентрация железа в серозном растворе при оксигенации варьировала в ничтожно малом диапазоне от 0,18 до 0,33 мкг/кг, причем это справедливо как для солевой, так и хелатной форм, а в условиях же аноксии сквозное (через кишечную стенку) движение элемента балансировало в среднем диапазоне от 0,20 до 0,37 мг/кг. Указанный экспериментально полученный результат в целом не логичен, поскольку выше представлено на ≈ 25-27% статистически значимых различий убывания элемента из мукозного раствора хелатной формы.

Приведенные данные концентрации Fe в серозной жидкости демонстрируют весьма незначительную сквозную диффузию испытуемо-

го вещества и, возможно, являются свидетельством того, что законы диффузии и осмоса не являются индуктором этого движения (или их роль весьма низка в своем удельном значении). В качестве гипотезы можно допустить, что указанные изменения связаны с наличием барьеров для транспорта веществ: строма ворсинок, подслизистая основа более мощная, в сравнении с лабораторными животными, мышечная и серозная оболочки, не являющиеся барьером для всасывания в естественных условиях. Поскольку в здоровом организме всасываемые вещества непосредственно поступают в кровь и лимфу сети капилляров, располагающейся под кишечным эпителием, резонно полагать, что отсутствие крово- и лимфотока на пути транспортируемого железа приводит к его кумуляции в кишечной стенке (гипотетически в мышечной или серозной оболочке) при транспорте элемента через нее.

Исследование количества железа в тканях кишки на старте эксперимента показало, что в исследуемых образцах содержание данного элемента варьировало в диапазоне от 21,1 до 31,7 мкг/кг. После инкубации в условиях подачи в реакционную смесь кислорода данные значения статистически значимо выросли, причем для хелатной формы элемента на 393%, а для солевой – на 311%. Надо отметить, что при межгрупповом сравнении 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 железо из солевой формы возросли до 95% ДИ 27,6-34,5 мг/кг, что в среднем превышало исходные значения на 29% 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 311%. Вместе с тем, анализируя полученные числовые значения концентрации железа, входившего в рабочие растворы разработанного нами хелатного соединения железа, можно констатировать сохранившуюся (в сравнении с условиями оксигенации) закономерность.

Так, 95% ДИ для железа, аккумулированной кишечной стенкой, составил 90,1-111,9 мг/кг. Указанные значения превышали исходные на 319%, что определило весьма значимый ($P<0,001$) уровень различий как в сравнении с исходными величинами, так и с конечными, полученными для солей.

Анализируя полученные результаты, необходимо отметить, что научные наработки ученых [1, 8, 9] указывают на преимущественно

вторичный активный, белково-опосредованный механизм кишечного транспорта железа, поступающего в желудочно-кишечный тракт в виде солей с результатами собственных исследований (практическое отсутствие всасываемости элемента из $Fe(C_3H_5O_3)_2$ в условиях аноксии). Можно предположить, что всасываемость солевых форм элемента реализуется преимущественно по трансцеллюлярному пути вторичного активного транспорта.

Показанный же нами кишечный транспорт железа из NaFeH(Hedta) в тех же условиях аноксии выступает свидетельством принципиально иных путей и механизмов его всасываемости. Прежде всего можно предположить, что всасываемость элемента из испытуемой хелатной формы не сопряжена активными механизмами трансцеллюлярного транспортного пути, поскольку подача азота в инкубационную смесь по сути не повлияла позиции всасываемости данного элемента (таблица). Можно предположить, что данный феномен реализуется по парацеллюлярному пути.

Заключение. Эксперименты в условиях аноксии позволяют предполагать вторичный активный, белково-опосредованный механизм кишечного транспорта железа в солевой форме и его блокировку подачей в систему азота. Условия аноксии не оказали значимого влияния на кишечной транспорт натрийэтилендиаминтетраацетата железа, что может выступать свидетельством принципиальных различий в механизмах всасывания солей и хелатов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Всасывание и секреция в тонкой кишке: субмикроскопические аспекты/ И. А. Морозов и др. АМН СССР. – М.: Медицина, 1988. – 224 с.
2. Кабиров Г. Ф., Логинов Г. П., Хазипов Н. З. Хелатные формы биогенных металлов в животноводстве. – 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 - 07.02.2015;

9. Мазо, В. К. Новые пищевые источники эссенциальных микроэлементов-антиоксидантов / В. К. Мазо, И. В. Гмошинский, Л.И . Ширина // М.: 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.

УДК: 619:616.992.28-07:636.52/.58(476)

СОВРЕМЕННЫЕ ПРОБЛЕМЫ АСПЕРГИЛЛЕЗА В ПТИЦЕВОДСТВЕ (АНАЛИТИЧЕСКИЙ ОБЗОР)

А. В. Левшенюк, Н. А. Кузнецов

УО «Гродненский государственный аграрный университет»
г. Гродно, Республика Беларусь
(Республика Беларусь, 230008, г. Гродно, ул. Терешковой, 28
e-mail: ggau@ggau.by)

Ключевые слова: *аспергиллез птиц, бройлеры, факторы патогенности, органы-мишени, комплексная диагностика, дифференциальная диагностика.*

Аннотация*. Статья посвящена современному подходу в определении заболевания «аспергиллез птиц». Раскрыта география распространения патогена, включая производственные птицеводческие помещения с указанием факторов, способствующих развитию грибов рода Aspergillus spp. Рассмотрены основные факторы болезнетворности грибков данного рода, влияющие на развитие патологического состояния, а также выделены органы-мишени у восприимчивой птицы. Также представлены основные методы диагностики аспергиллеза. Предложен комплексный подход с учетом прижизненных и посмертных диагностических критериев: эпизоотологических данных, общеклинических признаков, посмертных патологоанатомических изменений, результатов культуральных, серологических исследований, а также микологических исследований кормов и подстилки.*

MODERN PROBLEMS OF ASPERGILLOSIS IN POULTRY (ANALYTICAL REVIEW)

A. V. Levshenyuik, N. A. Kuznetsov

EI «Grodno State Agrarian University»
(Belarus, Grodno, 230008, 28 Tereshkova st.; e-mail: ggau@ggau.by)

Key words: *avian aspergillosis, broilers, pathogenic factors, target organs, comprehensive diagnosis, differential diagnosis.*

Summary*. The article is devoted to the modern approach to defining disease "aspergillosis of birds." Disclosed geographical distribution of the pathogen, includ-*