Таблица 4 – Количественные показатели спермопродукции и оплодотворяющая способность спермы быков при использовании продукта сорбирующего «Селтоксорб»

Признаки	Группа			
	1-я – контрольная	2-я – опытная	3-я – опытная	4-я – опытная
Получено эякулятов за опытный период, шт.	325	331	343	338
Брак эякулятов, %	10,7	9,6	8,4	9,2
Накоплено спермодоз, ед.	39064	40402	40663	40724
Брак спермодоз, %	2,9	2,2	1,7	2,0
Оплодотворяющая способность спермы, %	72,9	75,6	78,8	78,1

У быков-производителей 3-й группы процент брака эякулятов был ниже на 2,3 п.п., у быков 2-й группы − на 1,1 п.п. и у животных 4-й группы − на 1,5 процентных пункта по сравнению с аналогами контрольной группы. От животных 2-й, 3-й и 4-й групп было заморожено больше спермодоз по сравнению с 1-й группой. Процент брака спермодоз по переживаемости у быков опытных групп был ниже соответственно на 0,3-1,2 процентных пункта по сравнению со сверстниками контрольной группы. Оплодотворяющая способность спермы у быков 3-й группы была выше на 5,9 п.п., у производителей 2-й и 4-й групп – соответственно на 2,7 и 5,2 процентных пункта по сравнению с быками 1-й группы.

Для оценки закрепления полученных результатов проследили динамику показателей спермопродукции в течение двухмесячного периода после окончания каждого эксперимента. В постопытный период просматривалась та же закономерность, что и в опытный период, а именно, наиболее высокие показатели спермопродукции были у быков-производителей 3-й группы.

Заключение. 1. Экспериментально установлена адсорбционная способность кормовой добавки «Витасорб» и продукта сорбирующего «Селтоксорб» в отношении к микотоксинам на уровне 31,5-100%.

2. Использование кормовой добавки «Витасорб» и продукта сорбирующего «Селтоксорб» в количестве 0,15% от массы комбикорма в кормлении быков-производителей позволяет повысить объем эякулята соответственно на 5,2 и 5,3%, концентрацию спермиев – на 7,8 (P<0,05) и 9,2% (P<0,05), количество спермиев в эякуляте – на 13,4 (P<0,05) и 15,2% (P<0,01), оплодотворяющую способность спермы – на 4,2 и 5,9 п.п. и снизить брак спермодоз на 0,7 и 1,2 процентных пункта.

Литература. *1. Ахмадышин, Р. А. Применение адсорбентов микотоксинов в животноводстве и птицеводстве / Р. А. Ахмадышин // Ветеринарный врач. – 2006. – № 1. – С. 64-65. 2. Базылев, Д. В. Применение кормовой добавки «Витасорб» в рационах быков-производителей : рекомендации / Д. В. Базылев, М. М. Карпеня, И. Н. Дубина. – Витебск : ВГАВМ, 2013. – 20 с. 3. Влияние влажности хранящегося зернофуража на его санитарное состояние / А. А. Хоченков [и др.] // Ученые записки учреждения образования «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины». – Витебск, 1999. – Т. 35, ч. 2. – С. 202-203. 4. Лемиш, А. Микотоксины в кормах для животных на территории Республики Беларусь / А. Лемиш, М. Сергеева // Ветеринарное дело. – 2016. – № 7 (61). – С. 34-37. 5. Карпеня, М. М. Использование продукта сорбирующего «Селтоксорб» в рационах быков-производителей : рекомендации / М. М. Карпеня, Д. В. Базылев. – Витебск : ВГАВМ, 2016. – 20 с. 6. Кошелева, Г. Проблема санитарно-токсикологической чистоты кормов и пути ее решения / Г. Кошелева // Животноводство для всех. – 2002. – № 11. – С. 8-11. 7. Природный минеральный сорбент экос для коров и телят / А. А. Шапошников [и др.] // Зоотехния. – 2003. – № 2. – С. 15-17. 8. Рябчик, И. Профилактика хронических микотоксикозов / И. Рябчик // Птицеводство. – 2009. – № 4. – С. 45–47. 9. Хоченков, А. А. Микотоксическая загрязненность комбикормов для свиней в Беларуси / А. А. Хоченков // Научные проблемы производства продукции животноводства и улучшения ее качества : сборник научных трудов Международной научно-практической конференции, Брянск, 23–24 июня 2010 г. – Брянск, 2010. – С. 186-189. 10. Шешко, П. М. Микотоксины и проблемы контроля качества кормов / П. М. Шешко // Ветеринарная медицина Беларуси. – 2003. – № 1. – С. 28-30.*

Статья передана в печать 19.06.2018 г.

УДК 636.2.:612.332.7

ПУТИ ВСАСЫВАНИЯ ЦИНКА В СОЛЕВОЙ И ХЕЛАТНОЙ ФОРМАХ В КИШЕЧНИКЕ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Ковалёнок Ю.К., Ковалёнок Н.П.
УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»,
г. Витебск, Республика Беларусь

Цель работы состояла в определении фундаментальных истоков значимых различий всасываемости цинка в кишечнике крупного рогатого скота в солевой и хелатной формах. Установлено, что всасываемость солевых форм цинка реализуется преимущественно по трансцеллюлярному пути, главным образом за счет

Репо... ...ВГАВМ

реализации механизмов вторичного активного транспорта, хелатная же форма элемента вероятнее всего всасывается по парацеллюлярному пути на потоке всасывающейся воды, изменяя физико-химические характеристики плотных контактов. ***Ключевые слова:*** *цинк, всасываемость, кишка, бычки.*

ABSORPTION PATHWAYS OF ZINC IN THE FORMS OF SALT AND CHELATE BY THE CATTLE INTESTINES

Kavalionak Y.K., Kavalionak N.P.
Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine, Vitebsk, Republic of Belarus

The aim of the work was to identify the fundamental sources of significant differences in the absorption of zinc by the intestines of cattle in forms of salt and chelate. It was determined, that the absorption of salt forms of zinc is implemented mainly along the transcellular pathway, mainly due to the realization of the mechanisms of secondary active transport. The chelate form of the element most likely absorbed along the paracellular pathway on the flow of absorbing water, changing the physico-chemical characteristics of the tight junctions. ***Keywords:*** *zinc, absorption, intestines, bull-calves.*

Введение. Научные школы многих стран уже более века активно изучают поступление различных веществ из пищеварительного тракта животных и человека во внутреннюю среду организма. Плеядой отечественных и зарубежных исследователей в данной научной области накоплено достаточно большое количество знаний. Некоторый вклад в развитие данного направления внесен и автором настоящей работы [3-5 и др.].

Факт разной всасываемости веществ, находящихся в различных химических формах, общеизвестен. Результаты исследований [8, 2, 13 и др.] показывают, что транспорт веществ в эпителии слизистой оболочки кишки реализуется по двум типам путей: трансцеллюлярному (через клетку) и парацеллюлярному (по межклеточным пространствам эпителиальных клеток). Межклеточный транспорт веществ при этом является менее изученным. Предполагают, что плотные соединения между энтероцитами выполняют не только барьерную функцию, при этом допускается [7,13,11 и др.], что подобные соединения способны обеспечивать выборочный транспорт для воды, глюкозы и некоторых ионов. Литературное наследие, посвященное данному вопросу, немногочисленно, датировано главным образом работами современного столетия [1, 9, 12, 16 и др.] и содержит в себе определенные противоречивые позиции.

Целью настоящей работы явилось определение фундаментальных истоков различий всасываемости цинка кишечником крупного рогатого скота в солевой и хелатной формах.

Материалы и методы исследований. В основу настоящей работы положены эксперименты *in vitro*, выполненные в 2010-2017 гг. в ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины» и УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины».

Методологию работы определили подходы модельного эксперимента, системного анализа, сравнений и аналогий, обобщений и др.

Всасываемость цинка кишкой крупного рогатого скота изучалась посредством разработанного и патентованного [5] устройства в условиях in vitro. Фрагменты тощей кишки бычков, использованные в опытах, инкубировались в солевых ($ZnSO_4$) и хелатных (NaZn(Hedta)) растворах. Использованная хелатная форма цинка зарегистрирована в установленном порядке и используется в качестве ветеринарного препарата под коммерческим названием «Цинковет». Итоговая концентрация цинка в растворах рассчитывалась, исходя из ориентировочного уровня элемента в химусе при даче животному терапевтической дозы вещества.

В предыдущих экспериментах [3-5 и др.] нами установлены существенные различия в количественных позициях кишечного транспорта цинка в разных химических формах. Данный факт позволил предположить принципиальные отличия в механизмах всасываемости веществ, которые могут быть сопряжены с путями реализации данного биологического феномена.

В этой связи данная серия экспериментов выполнялась в классических условиях оксигенации, где в инкубационную среду, состоящую из испытуемого вещества (цинк в солевой или хелатной форме) и изотонического раствора натрия хлорида, вносили глюкозу (≈ 5,5 ммоль/л). В качестве растворителей использовали также официнальные растворы Рингера-Локка и Хенкса, содержащие в своем составе более сложные электролитические композиции, но имеющие сходную осмолярность.

Ревизия существующих взглядов и общепринятых представлений о вторичном активном транспорте как основном механизме транспорта глюкозы в тонком кишечнике млекопитающих явилась основой, позволяющей утверждать состоятельность построения модельных исследований такого типа. Школой профессора Дж.Р. Паппенхаймера [11] выдвинуты и экспериментально подтверждены две новые гипотезы: о преимущественно парацеллюлярном переносе глюкозы на потоке всасывающейся воды и об облегченной диффузии с участием транспортера GLUT2, который включается в апикальную мембрану энтероцитов при высоких углеводных нагрузках [10].

Количественное определение цинка в растворах и тканях осуществляли методом ICP-MS, используя спектрометр Varian ICP-810-MS. При подготовке биоматериала к исследованию использовали метод «мокрой» минерализации до полного разложения пробы с помощью микроволновой печи

Репозиторий УО ВГАВМ

Mars Xpress фирмы «CEM corporation», США. Процедуры биометрического анализа полученных данных осуществляли с помощью статистических пакетов SAS 9.2, STATISTICA 9 и SPSS-19.

Результаты исследований. Результаты экспериментов по изучению преимущественного пути всасывания цинка представлены в таблице.

Таблица - Показатели кишечного транспорта цинка с индукцией процесса на потоке всасывающейся воды (M±m, P, n=36)

Испытуемое вещество	Исследуемый субстрат, мг/кг				
	КР	СР	МР	КК	ОК
Опыт №1 (растворитель – изотонический раствор натрия хлорида)					
$ZnSO_4$	54,0±4,56	0,533±0,0244	39,0±1,96	19,5±1,29	71,2±4,08
NaZn(Hedta)	59,1±4,79	0,944±0,0622	37,8±2,32	22,7±1,23	99,3±5,78**
Опыт № 2 (растворитель – изотонический раствор натрия хлорида с растворением в 1 л его 1 г глюкозы)					
$ZnSO_4$	54,0±4,56	0,482±0,0239	34,2±2,40	23,3±1,72	83,5±8,24
NaZn(Hedta)	59,1±4,79	0,818±0,0791	29,9±2,24	27,1±1,78	130±12,3**
Опыт № 3 (растворитель – раствор Рингера-Локка)					
$ZnSO_4$	54,0±4,56	0,462±0,0256	32,5±2,28	24,0±1,77	87,7±8,66
NaZn(Hedta)	59,1±4,79	0,777±0,0751	31,7±2,38	28,2±1,85	140±13,3***
Опыт № 4 (растворитель – раствор Хенкса)					
$ZnSO_4$	54,0±4,56	0,448±0,0203	31,8±2,24	24,7±1,82	91,0±8,17
NaZn(Hedta)	59,1±4,79	0,745±0,0719	32,3±2,42	29,8±1,96	138±13,0***

Примечания:

1) КР – контрольный раствор (исходный испытуемый раствор соответствующего вещества); СР – серозный раствор (раствор со стороны серозной оболочки после экспозиции устройства); МР – мукозный раствор (раствор со стороны слизистой оболочки после экспозиции устройства); КК – контрольная кишка (участок тощей кишки крупного рогатого скота в начале проведения исследований), ОК – опытная кишка (участок тощей кишки крупного рогатого скота после его инкубации);

*2) *, ** – P< 0,05 и 0,01 (соответственно) – результаты проверки гипотезы о равенстве межгрупповых средних в сравнении с соответствующими значениями проб $ZnSO_4$, посредством оценки значения параметрического F-критерия Фишера и непараметрических критериев Ван дер Вардена, Краскала-Валлиса и медианного критерия.*

Изотонический раствор натрия хлорида в качестве растворителя позволил получить стабильные, ранее отмеченные и описанные [3-5 и др.] эффекты с сопоставимым уровнем сложившихся пропорций в ракурсе соль/хелат.

Глюкоза же, в составе растворителей цинка, привела к результатам, существенно и статистически значимо отличающимся в количественном содержании испытуемого элемента в анализируемых субстратах. Так, наличие глюкозы в растворители солевой формы цинка не сказалось значимым образом на динамике изменения уровня элемента в мукозном растворе. Концентрация цинка в мукозном растворе $ZnSO_4$ после экспозиции устройства с использованием в качестве растворителя изотонического раствора натрия хлорида снизилась на 27,8% и варьировала в 95% ДИ от 39 до 40,9 мг/кг, этот же показатель в опытах №№2-4 был ниже исходного уровня на 36,7-41,2% и статистически значимо не отличался от таковых значений в первом опыте.

Наиболее яркие изменения количества цинка, сопряженные как с ее химической формой, так и используемым растворителем, коснулись кишечной ткани как испытуемого биосубстрата.

Так, в серии исследований с использованием классического растворителя – изотонического раствора натрия хлорида, мы получили результат по уровню и пропорциям в отношении изменений испытуемых элементов сходный с таковым, описанным в наших работах [3-5 и др.]. Обсуждая изменения уровня цинка в кишечной стенке при использовании более сложных растворителей и влияния их на кинетику кишечного транспорта, следует отметить, что рост (P<00,1-0,001) концентрации Zn в кишечной стенке, инкубировавшейся в глюкозо-солевых (опыты №№ 2-4) растворах NaZn(Hedta), составил 363-396%. В то же время инкубирование кишки в растворах $ZnSO_4$ привело к 258-268% росту концентрации элемента в кишечной стенке. Необходимо также отметить и тот факт, что вариативность среднегрупповых значений Zn, полученная в опытах № 2-4, была сравнительно низкой, что дает основание предполагать, что основная индуктивная роль в данном процессе принадлежала глюкозе.

Обсуждая представленные результаты, следует отметить существенную и статистически значимую дихотомическую степень различий в кишечном транспорте цинка. На наш взгляд, указанные различия могут быть сопряжены с принципиально различными путями и механизмами кишечного поглощения элемента в разных химических формах.

Так, результаты исследований, представленные в настоящей работе, со всей очевидностью в цифровом выражении демонстрируют статистически значимую активизацию всасываемости цинка в хелатной их форме и отсутствие таковой для солевой версии раствора элемента при наличии в инкубационной смеси глюкозы.

Сопоставляя научные наработки отечественных ученых [6], указывающие на преимущественно белково-опосредованный механизм кишечной резорбции элементов, поступающих в желудочно-кишечный тракт в виде солей, с результатами собственных исследований (отсутствие существенного влияния глюкозы в реакционной смеси), можно предположить, что всасываемость солевых форм цинка реализуется преимущественно по трансцеллюлярному пути, главным образом за счет реализации механизмов вторичного активного транспорта.

Экспериментально показанный кишечный транспорт элемента в условиях аноксии из разработанной нами хелатной формы цинка выступает свидетельством принципиально иных путей и механизмов их всасываемости. Можно предположить, что всасываемость созданного цинковета не сопряжена трансцеллюлярным путем и его активными механизмами, поскольку подача азота в инкубационную смесь неизбежно приводит к окислительному стрессу и блокирует возможные механизмы активного транспорта веществ [2, 14, 15 и др.]. В силу изложенного – блокировка активного транспорта предполагает исключение трансмембранного переноса веществ, а факт сохранившейся всасываемости элемента может служить свидетельством только того, что данный феномен реализуется по парацеллюлярному пути. Имевшее место увеличение количественных характеристик всасываемости хелатных форм элемента при наличии в инкубационной смеси глюкозы указывает и подтверждает, на наш взгляд, гипотезу всасываемости по межклеточным контактам. Доказанный факт преимущественно парацеллюлярного переноса глюкозы [11] на потоке всасывающейся воды является мотивацией подобного рода заключения. Резонно предполагать, что испытуемые нами растворы NaZn(Hedta) в силу размерности их молекул и определенного сродства к Ca^{2+} изменяют физико-химические характеристики плотных контактов и всасываются тем самым на потоке всасываемой воды сопряженно с глюкозой, а также за счет формирования в пристеночном слое высокого осмотического давления и реализуя котраспорт по данному механизму.

Заключение. Таким образом, всасывание цинка, хелатированного этилендиаминтетраацетатом натрия, можно представить следующим образом – сорбция молекулы вещества в прецеллюлярном слизистом слое (возможно на гликокаликсе), накопление молекул и создание тем самым градиента концентрации, изменение физикохимических свойств плотных контактов, движение ионов по ним (в силу наличия осмотического градиента, измененных свойств контактов и усиленного глюкозой потока воды), поступление всей молекулы вещества в кровь сосудов воротной вены, печень, гидролиз в ней вещества, вовлечение элемента в метаболизм и ретенция комплексона.

***Литература**. 1. Вешнякова, А. Ю. Исследование белков плотных контактов в эпителии кишки крысы : дис. … канд. биол. наук : 03.00.13 / А. Ю. Вешнякова ; Санкт-Петербургский государственный университет. – Санкт-Петербург, 2008. – 162 с. 2. Всасывание и секреция в тонкой кишке : субмикроскопические аспекты / И. А. Морозов [и др.] ; АМН СССР. – Москва : Медицина, 1988. – 224 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 цинка в солевой и хелатной формах кишечником жвачных в условиях in vitro / Ю. К. Ковалёнок // Животноводство и ветеринарная медицина. – 2015. – № 1 (16). – С. 47–50. 5. Ковалёнок, Ю. К. Устройство для изучения всасываемости веществ кишечником животных / Ю. К. Коваленок // Международный вестник ветеринарии. – 2012. – № 1. – С. 16–20. 6. Мазо, В. К. Новые пищевые источники эссенциальных микроэлементов-антиоксидантов / В. К. Мазо, И. В. Гмошинский, Л. И. Ширина. – Москва : Миклош, 2009. – 208 с. 7. Структура и функции межклеточных контактов / под ред. В. И. Архипенко, А. Г. Маленкова. – Киев : Здоров'я, 1982. – 168 с. 8. Физиология всасывания / отв. ред. А. М. Уголев. – Ленинград : Наука, 1977. – 667 с. 9. Экспрессия белков плотных контактов в эпителии тонкой кишки крысы / А. Г. Марков [и др.] // Российский физиологический журнал. – 2007. – Т. 93, №. 9. – С. 1043–1054. 10. Kellett, G. L. Apical GLUT2 A major pathway of intestinal sugar absorption / G. L. Kellett, E. Brot-Laroche // Diabetes. – 2005. – Vol. 54, № 10. – P. 3056–3062. 11. Pappenheimer, J. R. Role of pre-epithelial "unstirred" layers in absorption of nutrients from the human jejunum / J. R. Pappenheimer // J. Membr. Biol. – 2001. – Vol. 179, № 2. – P. 185–204. 12. Shin, K. Regulates Tight Junction Formation and Polarity in Mammalian Epithelial Cells / K. Shin, S. Straight, B. Margolis // J. Cell Biol. – 2005. – Vol. 168, № 5. – P. 705–711. 13. Shoichiro, T. Multifunctional strands in tight junctions / T. Shoichiro, F. Mikio, I. Masahiko // Nature Reviews Molecular Cell Biology. – 2001. – Vol. 2, № 4. – P. 285–293. 14. Szabo, C. The pathophysiological role of peroxynitrite in shock, inflammation, and ischemia reperfusion injury / C. Szabo // Shock. – 1996. – Vol. 6. – P. 79–88. 15. Wu, L. Evidence for the Role of Reactive Nitrogen Species in Polymicrobial Sepsis-Induced Renal Peritubular Capillary Dysfunction and Tubular Injury / L. Wu, N. Gokden, P. R. Mayeux // J. Am. Soc. Nephrol. – 2007. – Vol. 18, № 6. – P. 1807–1815. 16. Yusuke, Y. Tight Junction Transmembrane Protein Claudin Subtype Expression and Distribution in Human Corneal and Conjunctival Epithelium / Y. Yusuke, B. Yuriko, K. Shigeru //* Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. *– 2009. – Vol. 50, № 5. – P. 2103–2108.*

Статья передана в печать 12.09.2018 г.

Репозиторий УО ВГАВМ