

## ВОЗДЕЙСТВИЕ НИТРАТА НАТРИЯ НА ВСАСЫВАНИЕ ГЛИЦИНА И ГЛЮКОЗЫ В ТОНКОЙ КИШКЕ ПОРОСЯТ

Кудесов Л.А., Соколенко С.С., Старченков С.В., Тимофеева Н.М., Щербаков Г.Г.  
Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины, Россия.

*Всасывание глюкозы и глицина изучалось в течение трех недель на 3-месячных поросятах путем перфузии сегмента тонкой кишки, изолированного по Тири-Велла. Ежедневная перфузия участка кишки в течение недели раствором нитрата натрия приводила к снижению всасывания глюкозы в 2-3, а глицина в 1.5-2 раза. При замене раствора нитрата натрия раствором Рингера уровень всасывания глюкозы и глицина восстанавливался примерно на 80 %. Токсический эффект нитрата натрия являлся результатом как локального воздействия на слизистую оболочку тонкой кишки, так и общего действия на организм.*

*Daily perfusion of the pig small intestine with the sodium nitrate solution entailed a 2-3-fold drop in absorption of glucose and 1.5-2.0-fold drop in absorption of glycine. The sodium nitrate solution being substituted with saline, the absorption of both substances recovered by approximately 80%. The toxic effect of sodium nitrate seems to be due to both the local effect upon the small intestine mucosa and the general effect upon the organism.*

**Введение.** В настоящее время существуют многочисленные данные о неблагоприятном воздействии нитратов на различные органы и системы организма. Необходимость и важность изучения влияния нитросоединений на организм животных и человека обусловлены их интенсивным производством, а также широким применением в пищевой промышленности, сельском хозяйстве, фармакологии, в связи с чем увеличивается их концентрация в продуктах питания и питьевой воде [1, 4, 16, 17].

Недавно нами обнаружено, что нитратная интоксикация взрослых крыс приводит к незначительному снижению активности мембранных и преимущественно внутриклеточных пищеварительных ферментов не только эпителиального слоя тонкой кишки, но и постэпителиальных (стромального и мышечно-серозного) слоев. Пищеварительные ферменты печени и почек в целом оказались более резистентными к повреждающему действию нитратов [8]. Существенное снижение активности мембранных и цитозольных ферментов желудочно-кишечного тракта, а также печени и почек было обнаружено в нашей предыдущей работе у свиней, получавших в течение 4 мес добавку к пище нитратов в различных дозах. Наибольшее снижение активности наблюдалось под влиянием малых доз нитратов [5].

В настоящей работе изучалось влияние нитрата натрия на всасывание глюкозы и глицина в тонкой кишке свиней с использованием техники перфузии изолированного по Тири-Велла участка. Выбор в качестве объекта исследования свиней обусловлен не только удобством проведения на них длительных перфузионных опытов и тем, что они являются ценными сельскохозяйственными животными, но также потому, что они - во многом адекватная модель для изучения организма человека.

**Материалы и методы.** Опыты были проведены на 20 поросятах крупной белой породы 3-месячного возраста, содержавшихся на стандартном пищевом рационе при свободном доступе к корму и воде. Суточный рацион был сбалансирован по основным кормовым компонентам.

У всех поросят была проведена операция изоляции по Тири-Велла проксимального участка тощей кишки (длиной 9 см) и вывода его концов с помощью фистул наружу. При операции использовали гексеналовый наркоз (0.1 г/кг массы тела).

До начала опытов животных постепенно в течение 2-3 дней приучали к перфузионной камере и проводили промывание изолированного участка кишки растворами Рингера и соответствующих субстратов. При исследовании всасывания каждого из субстратов было выполнено по две серии хронических перфузионных экспериментов, каждая из которых продолжалась по три недели.

В первой серии опыты проводили по следующей схеме: в течение первой недели изолированный участок кишки перфузировали сначала 40 мин раствором субстрата (27.5 мМ глюкоза или 10 мМ глицин, приготовленные на растворе Рингера, рН 7.4), затем 30 мин раствором Рингера и повторно 40 мин раствором субстрата. В течение двух следующих недель вместо перфузии раствором Рингера участок кишки перфузировали раствором нитрата натрия (10 г/л). Вторую серию экспериментов выполняли по той же схеме, что и первая: перфузия субстратом, затем перфузия раствором Рингера (или нитратом натрия) и повторная перфузия субстратом. Отличие второй серии от первой состояло в том, что в течение третьей недели прекращали перфузию изолированного участка кишки раствором нитрата натрия (как в первой серии) и возобновляли перфузию раствором Рингера.

Скорость перфузии составляла 2.4 мл/мин, температуру перфузионных растворов поддерживали постоянной около 38°C, оттекающий перфузат для определения скорости всасывания глюкозы и глицина отбирали в течение всей перфузии каждые 10 мин. Количество глюкозы в перфузате определяли глюкозооксидазным методом [9], глицина - методом А. М. Уголева и Н. М. Тимофеевой [9]. Скорость всасывания субстратов выражали в мкмольх субстрата, всосавшегося за 1 мин перфузии (мкмоль/мин). Полученные данные подвергали обработке методом вариационной статистики с использованием t-критерия Стьюдента.

**Результаты.** Всасывание глюкозы в тонкой кишке. Перед началом экспериментов оперированные животные были практически здоровы. Для поддержания высокого и стабильного уровня транспортной активности в хроническом эксперименте необходимым условием является регулярная субстратная нагрузка на изолированную петлю тонкой кишки. С этой целью изолированный участок тонкой кишки перфузировали

раствором глюкозы (27.5 мМ) ежедневно в течение 6 дней. При условии регулярных субстратных нагрузок глюкозой на изолированную петлю тонкой кишки уровень ее транспортной активности может оставаться весьма стабильным и хорошо воспроизводимым в течение длительного времени.

Всасывание глюкозы в изолированном участке тонкой кишки клинически здоровых свиней сохранялось примерно на одном уровне как в течение одного опыта (первые 40 мин перфузии раствором глюкозы), так и в течение всей первой недели опытов и составляло  $12.93 \pm 0.27$  мкмоль/мин, что в дальнейшем служило в качестве контрольного уровня. Колебания скорости всасывания у всех тестируемых животных не превышали 10 %.

В течение первой недели опытов после первой перфузии участка кишки раствором глюкозы его перфузировали раствором Рингера, затем повторно раствором глюкозы. Это было необходимо, чтобы оценить возможное влияние нагрузки изолированного участка кишки солевым раствором на всасывание глюкозы. Оказалось, что после воздействия на изолированный участок кишки раствором Рингера скорость всасывания глюкозы при повторной перфузии в течение одного опыта, а также в течение всей первой недели экспериментов практически не изменялась (ее увеличение на 5-7 % было недостоверным,  $p > 0.5$ ). Полученные данные использовались в качестве дополнительного контроля при оценке влияния на всасывание глюкозы раствора нитрата натрия.

В течение второй недели опытов изолированный участок тонкой кишки ежедневно по 30 мин перфузировали раствором нитрата натрия (вместо раствора Рингера). Уже через два дня после начала воздействия на кишку раствором нитрата натрия скорость всасывания глюкозы регулярно снижалась как при повторной перфузии в течение одного опыта, так и от опыта к опыту (при продолжении опытов). К концу второй недели опытов (т. е. через 7 дней после начала перфузии раствором нитрата натрия) скорость всасывания глюкозы в изолированном участке тонкой кишки в первые 40 мин перфузии составила  $6.74 \pm 0.89$  мкмоль/мин (54 % от уровня в контроле,  $p < 0.05$ ). Следует подчеркнуть, что при повторной перфузии участка кишки раствором глюкозы в течение одного опыта регулярно наблюдалось снижение скорости всасывания глюкозы примерно на 12-14 % ( $p < 0.05$ ) по сравнению со скоростью всасывания в течение первых 40 мин. Следовательно, можно говорить о локальном воздействии нитрата натрия на слизистую оболочку тонкой кишки.

При продолжении воздействия нитрата натрия на изолированный участок тонкой кишки в течение третьей недели опытов (первая серия) скорость всасывания глюкозы больше не уменьшалась. При повторной перфузии раствором глюкозы в течение одного опыта скорость ее всасывания была ниже, чем при первичной, как и во вторую неделю экспериментов. По-видимому, при продолжении воздействия к нитрату натрия наступало привыкание (адаптация) не только изолированного участка тонкой кишки, но и организма животного в целом.

Во второй серии экспериментов в течение третьей недели прекращали воздействие на изолированный участок тонкой кишки раствором нитрата натрия и возобновляли его перфузию раствором Рингера (как в первую неделю экспериментов). Оказалось, что уже с 15-го опыта (т. е. через сутки после прекращения действия нитрата натрия) скорость всасывания глюкозы постепенно возрастала, достигнув к концу третьей недели  $9.51 \pm 1.32$  мкмоль/мин, что составило 76% от уровня в контроле ( $p < 0.05$ ). Следует особо подчеркнуть, что после возобновления перфузии раствором Рингера не наблюдалось различий в скорости всасывания глюкозы при первичной и повторной перфузиях. Следовательно, прекращение воздействия нитратного раствора на изолированный участок кишки и его замена на раствор Рингера способствуют значительному восстановлению скорости всасывания глюкозы в пораженной тонкой кишке, однако полного восстановления уровня всасывания не происходило.

Таким образом, длительное воздействие нитрата натрия на тонкую кишку приводит к значительному снижению ее резорбтивной функции по сравнению с клинически здоровыми животными. На определенном этапе нитратного токсикоза (примерно через неделю после начала воздействия) в тонкой кишке и организме животного к токсинам наступает привыкание и, несмотря на дальнейшее поступление нитрата натрия, уровень всасывания глюкозы остается неизменным. Прекращение нитратного воздействия на тонкую кишку и последующая его замена на раствор Рингера приводят к частичному восстановлению уровня всасывания глюкозы в пораженном органе. Это свидетельствует о значительном антиоксидантном эффекте раствора Рингера.

Всасывание глицина в тонкой кишке. Всасывание глицина в тонкой кишке исследовали по такой же схеме, что и всасывание глюкозы. В первой серии хронических экспериментов с ежедневной перфузией изолированного участка тонкой кишки растворами глицина и Рингера скорость всасывания глицина в течение всего периода опытов оставалась на одном и том же уровне и составила  $5.07 \pm 0.09$  мкмоль/мин. Разброс величин при первой и второй перфузиях раствором глицина в течение одного опыта, в разные дни, а также между животными не превышал 4 %. Перфузия раствором Рингера не влияла на скорость всасывания глицина. При замене раствора Рингера раствором нитрата натрия скорость всасывания глицина оставалась на уровне контроля в первые два дня перфузии. Начиная с третьего опыта, скорость всасывания глицина снижалась как до, так и после 30-минутной перфузии раствором нитрата натрия. В следующих экспериментах скорость всасывания глицина продолжала постепенно снижаться и составила к концу второй недели (через 7 дней после начала перфузии раствором нитрата натрия)  $2.40 \pm 0.09$  и  $2.3 \pm 0.09$  мкмоль/мин в первые и вторые 40 мин перфузии раствором глицина соответственно. После этого в последующих экспериментах скорость всасывания глицина в тонкой кишке поросят не изменилась, несмотря на ежедневную перфузию изолированного участка тонкой кишки раствором нитрата натрия в течение третьей недели эксперимента.

Во второй серии опытов в течение третьей недели 30-минутная перфузия раствором нитрата натрия была заменена перфузией раствором Рингера. В первые 2 дня такой замены скорость всасывания глицина не изменилась по сравнению с опытом, в котором использовался раствор нитрата натрия. Однако, начиная с 3-го опыта, скорость всасывания глицина постепенно увеличилась и составила  $3.56 \pm 0.19$  и  $3.43 \pm 0.13$

мкмоль/мин до и после перфузии раствором Рингера, т. е.  $83 \pm 2$  и  $81 \pm 3$  % (от уровня в контроле,  $p < 0.05$ ) соответственно.

Таким образом, прекращение влияния нитрата натрия и замена его раствором Рингера стимулировали увеличение скорости всасывания глицина в тонкой кишке поросят. Однако полного восстановления не происходило, так как, по-видимому, нитратная интоксикация вызывала необратимые изменения всасывания глюкозы и глицина в тонкой кишке.

**Заключение.** На основании полученных результатов можно сделать следующее заключение. Скорость всасывания глюкозы и глицина в тонкой кишке поддерживается на одном уровне при соблюдении одинаковых условий эксперимента, при этом раствор Рингера не оказывает существенного влияния на скорость всасывания исследованных субстратов. Ежедневное воздействие на слизистую оболочку тонкой кишки в течение недели раствора нитрата натрия вызывает снижение скорости всасывания глюкозы и глицина примерно в 2 раза, после чего возникает адаптация к нитратной интоксикации. Обращает на себя внимание локальное воздействие нитрата натрия на слизистую оболочку тонкой кишки, более выраженное для глюкозы: скорость ее всасывания снижается в меньшей степени до перфузии раствором нитрата натрия, чем после. После прекращения воздействия нитрата натрия наступает частичное восстановление всасывания глюкозы и глицина в тонкой кишке.

Как известно, всасывание глюкозы и глицина осуществляется путем трансмембранного микромолекулярного транспорта из полости тонкой кишки через мембраны щеточной каймы в цитоплазму энтероцитов, затем через базолатеральные мембраны в лимфатические и кровеносные сосуды кишечной ворсинки и далее в общую систему циркуляции. Наиболее важное значение имеет активный транспорт, который осуществляется против электрохимического градиента с участием специальных транспортных систем, функционирующих по типу мобильных или конформационных транспортеров с затратой энергии. Нельзя не отметить, что в последние годы охарактеризована и молекулярная структура кишечного  $\text{Na}^+$ -зависимого транспортера для глюкозы и аминокислот и независимого — для пептидов. Они представляют собой высокомолекулярные гликозилированные белки, обладающие доменами, которые пронизывают мембрану энтероцита [6,10,12—14]. Кроме того, для всасывания пищевых веществ существенную роль играет презпителиальный барьер, который включает в себя неперемешиваемый слой жидкости, слой слизи и гликокаликс [3]. Все эти компоненты всасывания глюкозы и глицина могут быть нарушены в условиях нитратно-нитритной интоксикации.

В свете нашей работы важно, что интерес к последствиям влияния нитросоединений на организм животных и человека возрастает. Результаты многочисленных исследований действия нитритов и нитратов на организм показали, что эти соединения обладают токсическим эффектом [16]. Принято считать, что одним из основных механизмов токсического эффекта нитратов является окисление гемоглобина с изменением его структуры, что приводит к потере его способности транспортировать кислород в результате образования метгемоглобина [1,2,15]. При этом развивается метгемоглобинемия; ткани и органы, в том числе и пищеварительной системы, испытывают кислородное голодание, наступает гемическая гипоксия.

Кроме того, нитраты и образующиеся из них нитриты, вступая в различные окислительно-восстановительные процессы и в результате дальнейших превращений, могут приводить к образованию реакционноспособных промежуточных продуктов, например, таких, как оксид азота, который участвует в меж- и внутримолекулярной регуляции [7]. Действие такого рода регуляторов может сопровождаться конформационными изменениями транспортных белков, которые теряют способность к транспорту пищевых субстратов, что и наблюдалось в наших экспериментах.

При нитратно-нитритной интоксикации возможны также нарушения синтеза транспортных белков, изменение реальной толщины презпителиального слоя (например, в сторону ее увеличения или, наоборот, уменьшения) и, что чрезвычайно важно, структурные и ультраструктурные нарушения слизистой оболочки тонкой кишки.

Так, патологоанатомическая картина органов и тканей свиней показала типичные признаки хронического отравления нитратами. Было обнаружено геморрагическое воспаление слизистой оболочки всех отделов желудочно-кишечного тракта, начиная с желудка и кончая толстой кишкой, многочисленные точечные и в виде полосок кровоизлияния в стромальном и мышечном слоях слизистой оболочки тонкой кишки. Артериальная и венозная кровь были буровато-коричневого цвета, а скелетные мышцы — ярко-красного.

Морфологический анализ структуры слизистой оболочки тонкой кишки свиней после воздействия нитратом натрия показал атрофию, укорочение и деформацию ворсинок, значительную инфильтрацию преимущественно лимфоцитами. Эпителий был поврежден, частично или полностью десквамирован, особенно на верхушке ворсинок. После нитратно-нитритной интоксикации нарушенной оказалась не только структура, но и ультраструктура слизистой оболочки тонкой кишки. В частности, было обнаружено значительное уменьшение числа микроворсинок, образующих щеточную кайму энтероцитов, их деформация и укорочение, а также различия между ними в длине.

**Вывод.** Существенные нарушения структуры и ультраструктуры слизистой оболочки тонкой кишки свиней, сопровождающиеся нарушением проницаемости мембран щеточной каймы энтероцитов, которые наблюдаются в результате нитратно-нитритной интоксикации, несомненно должны приводить к значительным нарушениям всасывательной функции тонкой кишки, что и было обнаружено в нашей работе.

*Литература.* 1. Ажипа Я. И., Реутов В. П., Каюшин Л. П. Экологические и медико-биологические аспекты проблемы загрязнения окружающей среды нитратами и нитритами. Физиология человека. 16(3) : 131—149. 1990. 2. Власкина С. Г., Мамаева Е. М. Влияние нитратов на динамику метгемоглобинообразования у крыс различных возрастных групп. Вопр. питания. (6) : 28—29. 1994. 3. Груздков А. А. Современные представления о переносе веществ через эпителиальный слой тонкой кишки. Физиол. журн. им. П. М. Сеченова. 79(6) : 19—32. 1993. 4. Дергина В. П., Жукова Г. Ф., Хотимченко С. А. Содержание в продуктах питания нитратов и нитритов и оценка их поступления с суточным рационом. Вопр. питания. (4) : 47—52. 1993. 5. (Егорова В. В., Никитина А. А., Тимофеева Н. М., Щербakov Г. Г.). Egorova V. V., Nikitina A. A., Timofeeva N. M., Scherbakov G. G. Hydrolases of digestive and non-

digestive organs in pigs in norm and after nitrate Teeding. 11th Intern. symp. on digest. physiol. in pigs. Proc. 1. 1994. 6. Пезутова Н. Н., Тимофеева Н. М. Развитие представлений об ассимиляции пищи. Физиол. журн. им. И. М. Сеченова. 82(3) : 5--18. 1996. 7. Курьянцев М. Е., Дмитриева О. П., Куроптева З. В. Исследование методом ЭПР совместного действия нитрита натрия и общего облучения на ткани животных. Изв. РАН. Сер. биол. 4 : 453--459. 1996. 8. Тимофеева Н.М., Пезутова Н.Н., Егорова В.В., Никитина А.А., Старченко С.В. Влияние нитратов на пищеварительные и барьерные функции (на примере пищеварительных ферментов тонкой кишки, печени и почек крыс). Физиол. журн. им. И. М. Сеченова. 81(1) : 72--80. 1995. 9. Уголев А. М., Тимофеева Н. М. Исследование пептидазной активности. В кн.: Исследование пищеварительного аппарата у человека. Л. Наука. 1969. 10. Adibi S. A. Intestinal oligopeptide transporter: from hypothesis to hypothesis to cloning. News Physiol. Sci. 11(6) : 133--137. 1996. 11. Dahlquist A. Method for assay of intestinal disaccharidases. Analyt. Biochem. 7(1) : 18--25. 1964. 12. Daniel H., Boll M., Wenzel U. Physiological importance and characteristics of peptide transport in intestinal epithelial cells. 11th Intern. symp. on digest. physiol. in pigs. Proc. 1. 1994. 13. Elsas L. J., Longo N. Glucose transporters. Annu. Rev. Med. 43 : 377--393. 1992. 14. Kilberg M. S., Stevens B. R., Novak D. A. Recent advances in mammalian amino acid transport. Annu. Rev. Nutr. 13 : 137--165. 1993. 15. Kosaka H., Ouzumi M., Tyuma I. The interaction between nitrogen oxides and hemoglobin and endothelium-derived relaxing factor. Free Rad. Biol. Med. 7 : 653--658. 1989. 16. Nitrates. International Symposium. London. Acad. Press. 1987. 17. Sorensen M. T., Jensen B. B., Poulsen H. D. Nitrate and pig mature in drinking water to early weaned piglets and growing pigs. Livestock Product. Sci. 39 : 223--227. 1994.

ПОСТУПИЛА 24 мая 2007 г

УДК 619:618.7:615.33:636.2

### ПЕНООБРАЗУЮЩИЕ ПАЛОЧКИ «БИОМЕТРОСАНИТ» В ЛЕЧЕНИИ И ПРОФИЛАКТИКЕ ПОСЛЕРОДОВЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ

Кузьменков И.И., Бочкарёв В.Н., Пеньков В.В.

ФГОУ ВПО Костромская государственная сельскохозяйственная академия, г.Кострома, Россия

Акушерско-гинекологические заболевания имеют широкое распространение в хозяйствах Нечерноземной зоны РФ. Во Владимирской области они составляют 25,0-26,3%, Ивановской – 15,2-17,9%, Вологодской – 31,9-37,3%, Тверской – 8,0-8,7% от общего числа больных животных, где задержание последа составляет от 31,4-48,1%, эндометриты – 12,6-43,4%, дисфункции яичников – 18,0-28,7%.

Подбор лекарственных препаратов на основе анализа микрофлоры и её чувствительности позволил создать пенообразующие палочки «Биометросанит 5», которые в терапевтической дозе безвредны для животных, и высокоэффективны при послеродовом эндометрите.

Применение пенообразующих палочек «Биометросанита-5» при эндометритах позволяет ускорить восстановительные процессы в организме больных животных, сократить сроки выздоровления их до 8-10 дней.

Obstetrics-gynecological diseases are wide spread in farms of some Russia regions. There are 25,0-26,3% in Vladimir region, 15,2-17,9% in Ivanovo region, 31,9-37,3% in Vologda region, 8,0-8,7% in Twer region out of all sick animals where the retention of placenta takes place 31,4-48,1%, endometritis - 12,6-43,4%, ovary dysfunction - 18,0-28,7%. Analysis of microflora and its sensitivity let to produce new drug "Biometrosanit 5" safe for animal health and highly effective for treatment of endometritis. The use of this medicine leads to fast and short term rec-reation of organism up to 8-10 days.

**Введение.** Высокая заболеваемость коров в послеродовой период является причиной снижения их репродукторной функции, увеличения яловости и времени от отела до осеменения, снижения выхода телят и производства молока, что наносит значительный экономический ущерб.

Применяемые в настоящее время с лечебной и профилактической целью средства не в полной мере удовлетворяют запросы практической ветеринарии. В связи с этим встает вопрос об изыскании высокоэффективных, сравнительно дешевых и технологических в применении лекарственных средств.

**Результаты исследований.** Нашими исследованиями проведенными в областях Верхнего Поволжья в 1999-2002 годах установлено, что акушерско-гинекологические заболевания имеют широкое распространение.

Так, во Владимирской области в 2001 году выявлено 25,0% (17692) животных больных акушерско-гинекологическими заболеваниями, а в 2002 - 26,3% (17646), где наиболее высокая степень заболеваемости от числа больных коров была от задержания последа, соответственно: 48,1% и 46,2%, а затем по мере снижения процентности – эндометрит (29,8 и 32,4), дисфункции яичников (22,1 и 21,4), аборт (14,3 и 10,8).

В Вологодской области из проверенных в 2001 году 21530 коров на заболеваемость акушерско-гинекологическими заболеваниями выявлено 6871 (31,9%), а в 2002 году – 32769 (37,0%) больных животных. Всплеск абортов наблюдался в 2001 году, где из числа больных животных он отмечался у 4428 (64,4%) коровы, и как следствие: задержание последа (40,3%), дисфункции яичников (28,7%), эндометриты (12,6%).

В 2002 году из обследованных 87769 коровы акушерско-гинекологические заболевания выявлены у 32769 (37,3%) животных, где наиболее часто регистрировали задержание последа (36,8%), дисфункции яичников (18,6%), эндометриты (15,4%), однако и количество абортов находилось на довольно высоком уровне.

В Ивановской области в 2001 году выявлено 17,0%, в 2002 году – 15,2% больных коров акушерско-гинекологическими заболеваниями, где по частоте регистрации отмечали, соответственно: эндометрит (40,7 и 43,4%), задержание последа (31,7 и 31,4%), дисфункции яичников (21,6 и 18,0%), аборт (5,9 и 7,2%).

По Тверской области акушерско-гинекологические заболевания в 2001 году регистрировали у 8,7% коров, а в 2002 году – у 8,0