

репродуктивную активность микобактерий.

При изучении препаратов из культур *M. bovis* отмечали, что микобактерии имеют вид коротких или умеренно длинных овоидных палочек. Отмечается значительный полиморфизм микобактерий. Цитоплазма микобактериальных клеток заполнена большим количеством осмиофильных гранул [Г]. В цитоплазме заметна зернистость (зерна Муха) [ЗМ]. Большие зерна расположены, как правило, ближе к полюсам клетки. В некоторых препаратах заметны клетки с перетяжками и межклеточными ретикулярными тяжами. На поперечных и продольных срезах в некоторых микробных клетках виден нуклеоид (ядерная субстанция) [Нк] на разных стадиях развития и деления.

Проведенными исследованиями установлено, что облученные стерилизующими дозами  $\gamma$ -излучения (154,8–206,4 Кл/кг (600 тыс.–800 тыс. Р) микобактерии бычьего вида и атипичные приобретают дегенеративные изменения, которые приводят к прекращению их репродуктивной активности.

**Литература.** 1. Кассіч, Ю. Досягнення науки і практики в застосуванні методу алергічної діагностики туберкульозу великої рогатої худоби / Ю. Я. Кассіч, П. П. Фукс, А. І. Завгородній // *Ветеринарна медицина України*. – 1999. – № 9. – С. – 18. 2. Туберкулез животных и меры борьбы с ним / Ю. Я. Кассич, А. Т. Борзяк, А. Ф. Кочмарский [и др.]; Под ред. Ю. Я. Кассича. – Киев : Урожай, 1990. – 304 с. 3. Кассіч, В. Ю. Мінливість мікобактерій, епізоотологічний моніторинг, засоби і заходи боротьби з туберкульозом тварин в умовах радіаційного впливу : Дис... д-ра вет. наук : 16.00.03. / В. Ю. Кассіч. – Харків, 2004. – 408 с. 4. Лазовская, А. Л. Серологическая диагностика туберкулеза крупного рогатого скота / А. Л. Лазовская, В. П. Сафронов, Е. М. Максимова // *Туберкулез крупного рогатого скота и меры борьбы с ним*. – 1986. – С. 90–96. 5. Нуратинов, Р. А. Изучение причин парааллергии к туберкулину / Р. А. Нуратинов, И. В. Эфендиев // *ЖМЭИ*. – 2001. – № 1. – С. 50–53. 6. Васин, А. В. К вопросу о влиянии внешних факторов на аллергическое состояние при туберкулезе крупного рогатого скота / А. В. Васин // *Ветеринария*. – 1951. – № 12. – С. 29–30. 7. Клемпарская, Н. Н. Аллергия и радиация / Н. Н. Клемпарская, Г. М. Львицына, Г. А. Шальнова. – Москва: Медицина, 1968. – 280 с. 8. Пасиешвили, Л. М. Влияние малых доз радиации на организм человека и функциональное состояние органов пищеварения / Л. М. Пасиешвили // *Международный медицинский журнал*. – 1997. – Том 3, № 3. – С. 91–92.

Статья передана в печать 25.02.2016 г.

УДК 636:612.33

## МЕХАНИЗМЫ ВСАСЫВАНИЯ КОБАЛЬТА В СОЛЕВОЙ И ХЕЛАТНОЙ ФОРМАХ КИШЕЧНИКОМ ЖВАЧНЫХ В УСЛОВИЯХ IN VITRO

Ковалёнок Ю.К.

УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь

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

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

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

**Keywords:** cobalt, absorption, bioavailability, calves.

**Введение.** Проблема обеспеченности животных микроэлементами и связанные с этим болезни продолжают оставаться одной из актуальнейших проблем в современном животноводстве [3, 5, 6]. В последнее время отечественные и зарубежные ученые активно работают над конструированием и изучением свойств элементоорганических препаратов нового поколения, в которых минеральные вещества содержатся в виде комплекса с веществами, подобными природным носителям микроэлементов [2, 6, 9, 10, 12]. В данном контексте особый интерес представляют хелатные соединения – внутрикомплексные вещества, содержащие циклические группировки органических молекул.

К настоящему времени доказано, что микроэлементные препараты второго поколения обладают более высоким потенциалом усвояемости в сравнении с солями. Большинство ученых [1, 2, 4, 8] при этом констатируют значительный специфический эффект хелатных форм микроэлементов для лечения и профилактики микроэлементозов у животных и птиц. Вместе с тем, системных исследований механизмов, обеспечивающих данный процесс в информационном пространстве, нами не обнаружено. Следует отметить, что имеются сообщения [2, 8, 11], указывающие на гипотетическую опасность подобных соединений ввиду возможных социальных последствий, противоречивости позиций всасываемости микроэлементов из соединений хелатного типа и сорбции лигандами других,

находящихся в химусе элементов – т.е. группы факторов, определяющих низкую степень изученности механизмов действия хелатов.

Источками методологии представляемых в настоящей работе исследований послужили данные многих ученых, указывающие на то, что всасываемость сопряжена с диссоциацией ионов и собственно их транспортом через кишечный эпителий, осуществляющийся посредством специальных систем энтероцита. В зависимости от различных вариантов сочетания факторов стадией, определяющей процесс ассимиляции элемента в целом, может быть как первая, так и вторая.

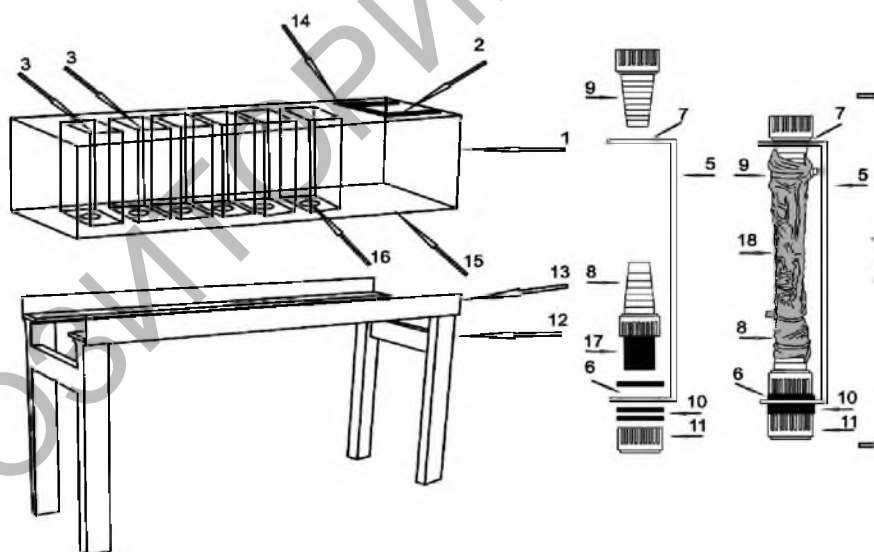
В данном контексте **целью** настоящих исследований явилось определение истоков значимых различий в уровнях кишечного транспорта кобальта из хелатных и традиционно использующихся солевых форм микроэлемента.

**Материалы 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 и запатентованное нами устройство (рисунок) для изучения всасываемости веществ кишечником животных[7].

В основу модели положен принцип изучения всасываемости веществ на изолированном из организма кишечном сегменте, исходные положения которого выдвинул крупнейший представитель Павловской школы нутрициологии, основоположник мембранного пищеварения, академик А.М. Уголев.

Основываясь на сложившейся концепции взглядов о реализации механизма усвояемости микроэлементов по пути вторичного активного транспорта, серия исследований строилась на модели, в которой инкубация кишечных препаратов с испытуемыми веществами осуществлялась не в условиях предусмотренной оксигенации, а в условиях аноксии. Логика подобной модели эксперимента сопряжена с тем, что активный транспорт веществ через апикальную мембрану энтероцита означает движение ионов через мембрану в комбинации с белком-переносчиком, заставляющим вещество двигаться против энергетического градиента. Такое движение, помимо кинетической энергии, требует дополнительного ее источника [1]. Об уровне (наличии) активного транспорта испытуемого субстрата судили по разнице аккумуляции его кишечной стенкой в условиях оксигенации и аноксии, поскольку известно [1], что подача азота в инкубационную смесь неизбежно приводит к окислительному стрессу и блокирует возможные механизмы активного транспорта веществ, в т.ч. и катионов.

В качестве объектов исследования выступал кобальт, находящийся в составе соли ( $\text{CoSO}_4$ ) и хелатного его соединения с этилендиаминтетрауксусной кислотой ( $\text{NaCoH}(\text{edta})$ ).



- 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 1 – Устройство для изучения всасываемости веществ кишечником животных**

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  $\chi^2$ , а

также контролировали равенство генеральных дисперсий при помощи F-критерия Фишера. Проверка нормальности распределения вероятности количественных признаков осуществлялась также при помощи критерия Колмогорова и критерия Шапиро-Уилки. Применение указанных критериев показало, что более 80% всех количественных признаков в группах сравнения не имели нормального распределения. Поэтому 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.

**Результаты исследований.** 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 1).

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

Испытуемый субстрат	Условия опыта			
	Оксигенация		Аноксия	
	CoSO <sub>4</sub>	NaCoH(Hedta)	CoSO <sub>4</sub>	NaCoH(Hedta)
Контрольный раствор <sup>а</sup>	890±76	1100±66	890±76	1100±66
Серозный раствор <sup>б</sup>	7,9±0,59	11,5±0,63	–	–
Мукозный раствор <sup>в</sup>	813±47	877±46	855±51	814±59,1*
Контрольный кишечник <sup>г</sup>	16,9±0,93	21±1,8	15±1,2	19±1,4
Опытный кишечник <sup>д</sup>	42±2,5	55±3,4	18±7	45±3,1***

*Примечания:* 1. <sup>а</sup> контрольный раствор – исходный испытуемый раствор соответствующего препарата; <sup>б</sup> серозный раствор – раствор со стороны серозной оболочки после экспозиции устройства; <sup>в</sup> мукозный раствор – раствор со стороны слизистой оболочки после экспозиции устройства; <sup>г</sup> контрольный кишечник – участок тощей кишки крупного рогатого скота в начале проведения исследований; <sup>д</sup> опытный кишечник – 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 солей посредством параметрического F-критерия Фишера и непараметрических критериев Ван дер Вардена, Краскала-Валлиса и медианного критерия.

Так, в условиях подачи кислорода в рабочие камеры устройства по истечении экспозиции констатировалось 9-20% снижение уровня испытуемого элемента в контрольных растворах. В условиях же аноксии такое изменение было на уровне 4,0% для CoSO<sub>4</sub> и 26% для хелатированной формы кобальта. Уместным будет отметить и статистическую значимость (P<0,05) данных различий.

В серии экспериментов с кишкой крупного рогатого скота, предположение о движении кобальта из мукозного раствора в серозный подтверждено не получило. Уровень элемента в серозном растворе при оксигенации варьировал в ничтожно малом диапазоне от 7,9 до 11,5 мкг/кг, причем это справедливо как для солевой, так и хелатной форм Co, а в условиях аноксии сквозного (через кишечную стенку) движения элемента вообще не отмечено.

Обращает на себя внимание факт того, что полученный результат в целом не логичен, поскольку выше указаны на ≈ 20-26% статистически значимые различия убывания элемента из мукозного раствора хелатной формы элемента.

Количественные значения Co в серозной жидкости демонстрируют крайне низкую степень сквозной диффузии испытуемого вещества и, возможно, указывают на то, что индуктором этого движения не являются (или являются в весьма малом удельном значении) законы диффузии и осмоса. Можно предположить, что данное обстоятельство связано с наличием барьеров для транспорта веществ: стромы ворсинок, подслизистой основы, более мощной в сравнении с лабораторными животными, мышечной и серозной оболочек, которые не являются барьером для всасывания *in vivo*. В обычных условиях всасываемые вещества поступают в кровь и лимфу сети капилляров, располагающейся под кишечным эпителием.

Резонно полагать, что отсутствие крово- и лимфотока на пути транспортируемых веществ приводит к кумуляции в кишечной стенке (гипотетически – в мышечной или серозной оболочке) при его транспорте через нее.

Результаты определения концентрации кобальта в кишечной стенке на старте эксперимента показали, что в исследуемых образцах содержание данного элемента варьировало в диапазоне от 15 до 21 мкг/кг. После инкубации в условиях оксигенации данные значения статистически значимо выросли, для хелатной формы элемента – на 262%, а для солевой – на 248%. Необходимо отметить, что при межгрупповом сравнении данные различия не имели статистической значимости.

Наиболее яркие и 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 Со из солевой формы, выросли на 20% ( $P > 0,05$ ), и, в сравнении с условиями эксперимента, в условиях оксигенации характеризовались как ничтожно малый рост показателя, поскольку в последнем увеличению количества элемента констатируется более чем на порядок. Вместе с тем, анализируя полученные числовые значения испытуемого элемента, входившего в рабочие растворы этилендиаминтетраацетата кобальта, можно отметить сохранившуюся (в сравнении с условиями оксигенации) закономерность. Так, 95% ДИ составил 38,9-51,0 мкг/кг, что превышало исходный уровень на 236% и определило весьма значимый ( $P < 0,001$ ) уровень различий как в сравнении с исходными величинами, так и с конечными, полученными для соли.

Сопоставляя научные наработки ученых [1, 8, 9, 10], указывающие на преимущественно белково-опосредованный механизм кишечной резорбции кобальта, поступающего в желудочно-кишечный тракт в виде солей, с результатами собственных исследований (практическое отсутствие всасываемости элемента из  $\text{CoSO}_4$  в условиях аноксии), можно предположить, что всасываемость солевых форм элемента реализуется преимущественно по трансцеллюлярному пути вторичного активного транспорта.

Вместе с тем, показанный нами кишечный транспорт кобальта из  $\text{NaCoH}(\text{Hedta})$  в тех же условиях аноксии выступает свидетельством принципиально иных путей и механизмов их всасываемости. Прежде всего, можно предположить, что всасываемость элемента из  $\text{NaCoH}(\text{Hedta})$  не сопряжена трансцеллюлярным путем и его активными механизмами, поскольку подача азота в инкубационную смесь по сути не повлияла на позиции кишечного транспорта данного элемента (таблица). Это, в свою очередь, может служить свидетельством только того, что данный феномен реализуется по парацеллюлярному пути.

**Заключение.** Результаты, полученные в серии экспериментов в условиях аноксии, позволяют предполагать белково-опосредованный (вторичный активный) механизм кишечного всасывания кобальта в солевой форме и его блокировку подачей в систему азота. Аноксия не оказала значимого влияния на кишечный транспорт хелатной формы элемента в виде натрийэтилендиаминтетраацетата кобальта, что свидетельствует о принципиально различных механизмах всасывания солей и хелатов.

**Литература.** 1. Всасывание и секреция в тонкой кишке: субмикроскопические аспекты / И. А. Морозов [и др.] // АМН СССР. – 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 «ВГАВМ», 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. Ковалёнок // 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. Ковалёнок // 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. Ковалёнок // 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. Курдеко А. П. Микроэлементозы продуктивных животных в Республике Беларусь, разработка мероприятий по их лечению и профилактике / А. П. Курдеко, Ю. К. Ковалёнок, А. А. Маценович // Вісник Білоцерківського державного аграрного університету : збірник наукових праць / Білоцерківський Національний аграрний університет. – Біла Церква, 2008. – С. 44–48. 10. Мазо, В. К. Новые пищевые источники эссенциальных микроэлементов-антиоксидантов / В. К. Мазо, И. В. Гмошинский, Л. И. Шириня. – Москва : Миклош, 2009. – 208 с. 11. 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. 12. 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. – V. 18. – P. 1807–1815.

Статья передана в печать 22.03.2016 г.

УДК 636.5/6-035.57

## ПЕРИОДЫ РОСТА ЯЙЦЕВОДА У ПЕРЕПЕЛОК В ПОСТНАТАЛЬНОМ ОНТОГЕНЕЗЕ

Кот Т.Ф.

Житомирский национальный агроэкологический университет, г. Житомир, Украина

В статье представлены результаты изучения динамики макроскопических морфометрических показателей яйцевода перепелок Японской породы возрастом от 1 до 270 суток. Установлено, что рост яйцевода птиц в постнатальном онтогенезе происходит в четыре периода: относительного покоя, интенсивного развития, стабильного функционирования, инволюции.