

Nº 2

MEKAYHADOAHЫЙ BECTHIKK BETEPHHAPKK

INTERNATIONAL BULLETIN OF VETERINARY MEDICINE



САНКТ-ПЕТЕРБУРГ- 2016

www.spbgavm.ru

2.2016

Редакционный совет

А.А. Стекольников – гл. ред., член-корр. РАН, д.в.н., проф., СПб

В.Д. Соколов – зам. гл. ред. д.в.н. проф., СПб

А.И. Ятусевич – зам. гл. ред. д.в.н. проф., академик РАН, Витебск

Редакционная коллегия

А.А. Алиев, д.в.н., проф., СПб.

Н.Л. Андреева, д.б.н., проф., СПб.

Л.М. Белова, д.б.н., проф., СПб.

М.И. Гулюкин, акад. РАН, д.в.н., проф.

Н.В. Зеленевский, д.в.н., проф., СПб.

Л.Ю.Карпенко, д.б.н., проф., СПб.

С.П. Ковалев, д.в.н., проф., СПб.

А.А. Кудряшов, д.в.н., проф., СПб.

В.А. Кузьмин, д.в.н., проф., СПб.

М.Н. Макарова, д.м.н., проф., СПб.

К.В. Племяшов, д.в.н., проф., СПб.

Б.С. Семенов, д.в.н., проф., СПб.

А.М. Смирнов, акад. РАН, д.в.н., проф., Москва.

В.В. Сочнев, д.в.н., проф., Н.Новгород.

А.А. Сухинин, д.б.н., проф., СПб.

А.Н. Шиков, д.ф.н., проф., СПб.

Редакционно-технический отдел

В.Д. Соколов, д.в.н. проф., СПб.

Н.Л. Андреева, д.б.н., проф., СПб.

Глушкова О.С., к.в.н., СПб.

Виноходов В.О., к.в.н., СПб.

Сдано в набор 30.06.2016

Подписано к печати 30.06.2016

Формат 70×100 1/16.

Бумага глянцевая № 1. Печать офсетная.

Усл. печ. л. 5,2+1,63 цв. вкл.

Усл. Кр.-отт. 18,2. Тираж 1001 экз.

Editor -in- chief

A.A. Stekolnikov professor, DVM, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences

Managing Editor

V.D. Sokolov - professor, DVM, St. Petersburg A.I. Yatusevich - professor, DVM, Member of the Russian Academy of Sciences, Vitebsk

Editorial Board

A.A. Aliyev - professor, DVM, St. Petersburg N.L. Andreeva - professor, DBS, St. Petersburg L.M. Belova - professor, DBS, St. Petersburg M.I. Gulyukina - Academician of Russian Academy of Sciences, DVM, professor, Moscow N.V. Zelenevski - professor, DVM, St. Petersburg L.Y. Karpenko - professor, DBS, St. Petersburg S.P. Kovalev - professor, DVM, St. Petersburg

A.A. Kudryashov - professor, DVM, St. Petersburg

V.A. Kuzmin - professor, DVM, St. Petersburg M.N. Makarova - professor, DBS, St. Petersburg.

K.V. Plemyshov - professor, DVM, St.

Petersburg B.S. Semenov - professor, DVM, St. Petersburg

A.M. Smirnov - Academician of the Russian Academy of Sciences, DVM, professor, Moscow

V.V.Sochnev - professor, DVM, N.Novgorod

A.A. Sukhinin - professor, DVM, St. Petersburg A.N. Shikov - professor, DFS, St. Petersburg

Technical Department

V.D. Sokolov - professor, DVM, St. Petersburg

N.L. Andreeva - professor, DBS, St. Petersburg

O.S. Glushkova - PhD, St. Petersburg

V.O. Vinokhodov - PhD, St. Petersburg

Sent to 30/06/2016

Signed for printing 30/06/2016

The format of $100 \times 70 \ 1/16$.

Glossy paper number 1. Offset printing.

Conv. Pec. liter. 5.2 1.63 fl. incl.

Conv. Cr. - ott . 18.2 . Circulation 1001 copies.

На 1 странице обложки: Патологоанатомический музей Санкт-Петербургской государственной академии ветеринарной медицины, расположенный в помещениях кафедры патологической анатомии (Санкт-Петербург, ул Черниговская, 5).

| СОДЕРЖА | АНИЕ | |
|--|---|-----|
| Инфекционные болезни | • Серологическая диагностика актинобациллезной плевропневмонии свиней с помощью ИФА. <i>Кузьмин В.А., Данко Ю.Ю., Кудряшов А.А., Палазюк С.В.</i> | 7 |
| | • Иммуногенная активность вакцины против бешенства с адъювантом на основе наночастиц тритерпеновых соединений. <i>Тыньо Я. Я., Ярыгина Е. И., Морозова Г. В., Устинова В.А., Видрашко М.</i> | 11 |
| Инвазионные болезни | • Острая токсичность и кумулятивные свойства препарата пролонгированного действия иверлонг 2. <i>Енгашева Е.С.</i> | 15 |
| | • Субхроническая токсичность препарата азидокс. Кузнецов Ю.Е. | 19 |
| | • Эколого-биоценологические аспекты гельминтов жвачных животных в Калининградской области. <i>Ефремов А.Ю., Муромцев А.Б.</i> | 25 |
| | Паразитозы домашних плотоядных в условиях городских территорий. Фадеева А.Н. | 30 |
| Фармакология, токсикология, фармация | • Сравнительная оценка лечебной эффективности препаратов «Мастисан А» и «Мастифит» при субклиническом мастите коров. Барышев В.А. | 34 |
| | Антимикробная активность, токсичность и эффективность норфлокса- цина при экспериментальном колибактериозе лабораторных живот- ных. Маханёв В.В., Скворцов В.Н., Балбуцкая А.А. | 38 |
| | Анализ воздействия ацетата свинца на эпителий желудочно- кишечного тракта карпа. Полистовская П. А. | 41 |
| | • Изучение антагонистической активности амилолитических штаммов Bacillus subtilis. Донкова Н.В., Донков С.А. | 46 |
| Зоогигиена, санитария, кормление | • Влияние зерносмеси до и после экструзии и селеносодержащих препаратов на химический состав и питательность мяса баранчиков. <i>Арилов А.Н., Арылов Ю.Н., Болдырев Б.А.</i> | 50 |
| | • Ветеринарно-гигиеническое обоснование применения «Энерджи» в молочном животноводстве. <i>Лунегова И.В.</i> | 56 |
| Биохимия, анатомия, физиология | • Артериальное кровоснабжение органов головы речного бобра. <i>Щипа-кин М.В., Прусаков А.В., Пишванов С.Ю., Вирунен С.В., Былинская Л.С.</i> | 61 |
| | • Особенности желчевыводящей системы печени таксы. <i>Щипакин М.В.</i> , <i>Прусаков А.В.</i> , <i>Пишванов С.Ю.</i> , <i>Вирунен С.В.</i> , <i>Былинская Д.С.</i> | 66 |
| Хирургия | Применение гирудотерапии для купирования воспаления в постоперационный период. Лукоянова Л.А. | 70 |
| Акушерство гинекология | • Диагностика послеродовой гипокальциемии у высокопродуктивных коров. Дмитриева Т.О., Мейсарош С.С., Пец П.А. | 73 |
| | • Профилактические и лечебные мероприятия при послеродовых заболеваниях матки у коров. Батраков А.Я., Виденин В.Н., Васильева С.В., Донская Т.К., Пилаева Н.В. | 78 |
| Незаразные болезни | • Опыт применения препарата «Гемобаланс» у коз зааненской породы в период раздоя. <i>Бахта А.А., Карпенко Л.Ю</i> . | 82 |
| | • Обзор наследственных патологий слуха у собак. Мукий Ю.В. | 89 |
| | • Клинико-генетические аспекты тугоухости у мексиканских голых собак. <i>Мукий Ю.В.</i> | 95 |
| Экспериментальн фармакология | ная • Хорьки, как лабораторные животные. Воронин С.Е., Макарова М.Н., Крышень К.Л., Алякринская А.А., Рыбакова А.В. | 103 |
| | • Выбор оптимального вида животных для моделирования экспериментального артериального тромбоза. Макаренко И.Е., Калатанова А.В., Ванатиев Г.В., Мужикян А.А., Шекунова Е.В., Буренков П.В., Макарова М.Н., Макаров В.Г. | 116 |
| | • Особенности ферментного спектра пищеварительного тракта лабораторных животных и человека. Φ аустова Н.М., Ушакова Н.В., Макарова М.Н., Макаров В.Г. | 125 |
| | - 5 - | |

CONTENTS Infectious Ser diseases Y.,

- Serological diagnosis of Porcina pleuropneumonia by ELISA. *Kuzmin V., Danko Y., Kudryashov A., Palazyuk S.*
- Immunogenic activity of rabies vaccine with an adjuvant based on nanoparticles of triterpene compounds. *Tyno Y., Yarygina E., Morozova G., Vidrashko M., Ustinova V.*

Invasive disease

- Acute toxicity and cumulative properties depot preparation I verlong 2. Engasheva E. 15
- Subchronic toxicity of the drug Azidoks. *Kuznetsov Y.E.* 19

11

25

34

50

56

61

78

82

89

- Ecological aspects of biotechnology helminths of ruminants in the Kaliningrad Region. *Efremov A., Muromtsev. A.*
- The parasites of domestic carnivores in urban areas. *Fadeeva A.* 30

Pharmacology, toxicology, pharmacy

- Comparative evaluation of therapeutic efficacy of drugs «Mastisan A» and «Mastifit» with subclinical mastitis of cows. *Baryshev V*.
- Antimicrobial activity, toxicity and effect of norfloxacin for experimental colibacteriosis of laboratory animals. *Mahanev V.V., Skvortsov V.N., Balbutskaya* 38
- An analysis of the impact of lead acetate on the epithelium of the gastrointestinal tract of carp. *Polistovskaya P*.
- Study antagonistic activity of amylolytic strains bacillus subtilis. Donkova N., Donkov S.

Zoohygiene, Sanitation, Feeding

- The influence of grain mixture before and after extrusion and selenium containing products on the chemical composition and nutrient density of rams meat. *Arylov A., Arylov Y., Boldyrev B.*
- Veterinary-hygienic justification of the use of "Energy" in dairy farming. *Lunegova I.*

Biochemistry, anatomy, physiology

- Arterial blood supply of organs of the head river beaver. Shchipakin M., Prusakov A., Pishvanov S., Virunen S., Bylinskaya D.
- Features to remove bile system of the liver of the dachshund. Shchipakin M., Prusakov A., Barteneva Y., Virunen S., Bylinskaya D.
- Application of a girudotherapy for reduction in inflammations after operations.
 Lukoyanova L.

Obstetrics gynecology

- Evaluation Of Diagnostics Postnatal Hypocalcemia Cows In The Farms Of The Leningrad Region. *Dmitrieva T.O.*, Pets P.A.
- Preventive and therapeutic measures at postnatal diseases of uterine cows. *Batrakov, V. Videnin, S. Vasilieva, T. Donskaya, N. Pylayeva*

noncommunicable disease

- Metabolism disorder correction during DIM (days in milk) in Saanen goats. *Bakhta A., Karpenko L.*
- Review hearing hereditary diseases indog. *Mukiy J.V.*
- Clinical genetic aspects of sensorineuralhearing lossin the Mexican hairless dogs. Mukiy J. V.

Experimental pharmacology

- Ferrets as laboratory animals. Voronin S., Makarova M., Kryshen K., Alyakrin-skaya A., Rybakova A.
- Choosing the best species for modeling of experimental arterial thrombosis. Makarenko I., Kalatanova A., Vanatiev G., Muzhikyan A., Shekunova E., Bu-116 renkov P., Makarova M., Makarov V.
- Features spectrum digestive enzyme in laboratory animals and humans. Faustova N., Ushakova N., Makarova M., Makarov V.

вестник ветеринарии. -2014. -№ 2.-С. 84-89.

10. Рыбакова А.В., Макарова М.Н. Методы эвтаназии лабораторных животных в соответствии с Европейской директивой 2010/63. // Международный вестник ветеринарии. -2015. -№ 2. -С. 96-107.

11. Рыбакова А.В., Макарова М.Н. Маркировка и идентификация лабораторных животных для проведения научно-исследовательских работ. // Международный вестник ветеринарии. -2014. -№ 4. -С. 81-90

12. Virchov R. Neuer fall von todlicher emboli der lungenarterie. // Arch. Pathol. Anat. -1856. - Vol.10. -P. 225-228.

13.Kurz K.D., Main B.W., Sandusky G.E. Rat model of arterial thrombosis induced by ferric chloride. Thromb. Res. -1990. -Vol.60 (4). -P. 269-280.

14. Couture L, Richer LP, Mercier M, Helie C, Lehoux D, Hossain SM: Troubleshooting the rabbit ferric chloride-induced arterial model of thrombosis to assess in vivo efficacy of antithrombotic drugs. // J. Pharmacol. Toxicol. Methods. -2013. -Vol.67. -P.91-97.

15. Guidelines for the Assessment and Management of Pain in Rodents and Rabbits. The American College of Laboratory Animal Medicine. Электронный ресурс: https://www.aclam.org/Content/files/files/Public/Active/position_pain-rodent-rabbit.pdf. Дата обращения: 21.09.2015.

16. Anesthesia and Analgesia in Laboratory Animals at UCSF. The Regents of the University of California. Электронный ресурс: http://www.iacuc.ucsf.edu/Proc/

awRbtFrm.asp. Дата обращения: 21.09.2015.

УДК: 57.089:59

ОСОБЕННОСТИ ФЕРМЕНТНОГО СПЕКТРА ПИЩЕ-ВАРИТЕЛЬНОГО ТРАКТА ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТ-НЫХ И ЧЕЛОВЕКА

Фаустова Н.М. 1 - канд. хим. наук, руководитель группы биохимии и гематологии, Ушакова Н.В. 2 -канд. биол. наук, научный сотрудник, Макарова М.Н. 1 - ведущий научный сотрудник, д.м.н., Макаров В.Г. 1 - д.м.н., профессор (1 3AO «НПО «ДОМ ФАРМА-ЦИИ»; 2 3AO «Институт экспериментальной фармакологии»)

Ключевые слова: лабораторные животные, человек, пищеварительный тракт, ферменты. **Key words:** laboratory animals, people, the digestive tract, enzymes.



РЕФЕРАТ

Одним из наиболее распространенных способов введения лекарственных средств в организм человека и животных является энтеральный путь, т.е. через желудочно-кишечный тракт. Имеющиеся метаболические, физиологические и биохимических различия в желудочно-кишечном тракте человека и лабораторных животных могут вызвать значительные изменения абсорбции лекарственного средства. Состав липидов, белков и распределение ферментов вдоль желудочно-кишечного тракта может изменить связывание и скорость транспортировки лекарственных средств. В обзоре рассматриваются осо-

бенности ферментного спектра пищеварительного тракта используемых лабораторных животных (крыс, мышей, кроликов, хомяков, карликовых свиней и др.) и человека. Зна-

ние конкретных видовых различий в биохимии позволяют исследователю выбрать наиболее подходящий вид животных для доклинических испытаний лекарственных средств, а также обеспечить оптимальную интерпретацию лабораторных данных. Учитывая влияние диеты и питания на изменение ферментного спектра ЖКТ, наиболее подходящим видом животных следует признать, карликовых свиней как всеядных животных. Использование хищников с этой целью не рекомендуется, поскольку отсутствуют отчетливые адаптивные перестройки в активности пищеварительных ферментов в ответ на изменение диеты. Мелкие лабораторные животные (крысы, мыши, морские свинки) являются наиболее подходящими для изучения механизма всасывания и биологической доступности лекарственных средств в виде порошков, сиропов или растворов. Более крупные животные (карликовые свиньи и кролики) используются для изучения действия лекарств, для которых важно не проводить разрушение лекарственной формы (кишечнорастворимые таблетки, капсулы и др.).

На основании изученной литературы можно рекомендовать, например, использовать карликовых свиней для изучения препаратов, которые предполагается применять в педиатрической практике, а также для исследований, связанных со стоматологией. Влияние диеты и питания на изменение ферментного спектра ЖКТ и изучение его последствий на организм человека следует оценивать на карликовых свиньях, поскольку они, как и человек, являются всеядными.

ВВЕЛЕНИЕ

Лекарственные средства (ЛС) могут поступать в организм животных и человека различными путями в зависимости от их свойств и цели терапии.

Одним из наиболее распространенных способов введения ЛС в организм человека и животных является энтеральный путь, т.е. через желудочно-кишечный тракт [Макаренко, 2013]. Всасывание лекарств, принятых перорально, происходит преимущественно путем простой диффузии неионизированных молекул в тонкой кишке, реже - в желудке. При этом до поступления в общий кровоток лекарства проходят два активных в биохимическом отношении барьера - кишечник и печень, где на них воздействуют соляная кислота, пишеварительные (гидролитические) и печеночные (микросомальные) ферменты, и где большинство из них трансформируются [Фармакология, 1999].

Для доклинических исследований ЛС используются различные лабораторные животные, которые имеют ряд существенных отличий от человека. Имеющиеся метаболические, физиологические и био-

химических различия в желудочнокишечном тракте (ЖКТ) человека и лабораторных животных могут вызвать значительное изменение абсорбции лекарственного средства. Различные физиологические факторы, рН, объем содержимого, состав липидов и белков, морфология энтероцитов могут изменять скорость растворения, время транзита, а также мембранный перенос молекул лекарства [Karali, 1995]. Понимание различий между ЖКТ различных видов могут помочь выбрать наиболее подходящий вид животных для изучения биологической доступности ЛС.

В нашем обзоре рассматриваются особенности ферментного спектра пищеварительного тракта часто используемых лабораторных животных и человека.

Функционирование различных систем животных возможно лишь при условии поступления во внутреннюю среду органических веществ, обеспечивающих их энергетические и пластические потребности организма. Органические вещества поступают в организм животных с пищей, начальные этапы ассимиляции которой включают три основных процесса: погло-

щение, пищеварение и всасывание [Уголев, 1985, 1987]. Пищеварение – процесс деструктурирования и деполимеризации компонентов пищи до соединений, главным образом мономеров, которые могут пройти кишечный барьер. В зависимости от источника ферментов и условий их функционирования в настоящее время различают три основных типа «собственного» пищеварения: внутриклеточное, полостное и мембранное, а также симбионтное и аутолитическое пищеварение [Уголев, Кузьмина, 1993].

Ассимиляция пищи начинается с поглощения и полостного пищеварения, протекающего в ротовой полости, в желудке и тонкой кишке. На этом этапе происходит преимущественно деградация крупных молекул и молекулярных комплексов, которая осуществляется ферментами, секретируемыми клетками пищеварительных желез в полость пищеварительного тракта. Промежуточное положение между полостным пищеварением и всасыванием занимает пристеночное мембранное пищеварение, протекающее на внешней поверхности энтероцитов. За счет этого типа пищеварения расщепляется более 80% всех химических связей в пищевых полимерах. Мембранное пищеварение осуществляется панкреатическими ферментами, адсорбированными из химуса, и собственно кишечными ферментами (мембранными или трансмембранными), фиксированными на апикальной поверхности кишечного эпителия в щеточной кайме, образованной микроворсинками (таблица 1). В отличие от адсорбированных панкреатических ферментов, мембранные являются амфипатическими белками и прочно связаны с липопротеиновой мембраной микроворсинок щеточной каймы энтероцитов, что объясняется их молекулярной структурой. Благодаря мембранному пищеварению осуществляются заключительные стадии расщепления компонентов пищи. Панкреатические

ферменты реализуют преимущественно промежуточные этапы гидролиза пищевых веществ (углеводов, белков, жиров и т.д.), мембранные - заключительные. Мембранное пищеварение объединяет процессы полостного пищеварения и всасывания, что облегчает проникновение расщепленных продуктов в клетку.

У высших животных и человека доминирующую роль играют полостной и мембранный гидролиз. Внутриклеточное пищеварение имеет значение только для ди- и олигопептидов.

Различия в уровне активности ферментов, наблюдаемые у животных разных видов, вызваны в первую очередь различиями в типе питания. Изменение биосинтеза и активности ферментов является важнейшим звеном биохимической адаптации. В работах ряда авторов [Уголев и др., 1986; Рахимов, 1992; Олейник, 1997, Snook, 1974; Alpers, 1987; Pappenheimer, 1993] отмечается связь между адаптивными перестройками ферментных систем, участвующих в полостном и мембранном пищеварении, в результате которых при повышении в диете количества белка преобладающей становится протеолитическая ферментная цепь, при повышении употребления жиров - липолитическая, углеводов – карбогидразная.

У хищников, наряду с общими для всех млекопитающих перестройками ферментного спектра, имеются особенности, определяемые потреблением высокобелковой пищи. Становление протеолитической активности происходит у хищников в более раннем возрасте, чем карбогидразной. Активность протеолитических ферментов у щенков достигает уровня взрослых особей при окончании периода смешанного питания, тогда как активность карбогидраз продолжает увеличиваться по мере взросления. Для хищников отмечается слабая способность к адаптивным изменениям активности пищеварительных ферментов под влиянием качественного состава диеты. При изменении в диете соотношения белков, жиров и углеводов в течение долгого времени не происходит изменений активности ферментов, определяемых ее составом [Олейник, 1997].

В постнатальном онтогенезе у плотоядных и растительноядных животных происходят следующие изменения ферментного спектра пищеварительного тракта: увеличение активности пепсина, панкреатических и кишечных ферментов, снижение активности лактазы. Для хищников характерной особенностью является опережающее развитие протеолитической ферментной цепи по сравнению с карбогидразной, у растительноядных и всеядных животных - наоборот.

Зависимость ферментного спектра пищеварительного тракта от вида животного и характера питания продемонстрирована во многих исследованиях [Барнард, 1977; Рахимов, Слоним, 1981; Уголев, 1985; Kararli, 1995 и др.]. Показано, что преобладает активность ферментов, обеспечивающих расщепление основного для данного вида компонента пищи.

Крыса и кролик - хорошо изученные всеядные и растительноядные млекопитающие. Исследованные плотоядные животные (хорьки, енотовидные собаки, норки, песцы) по величине активности многих ферментов заметно отличаются от всеядных и растительноядных животных. Активность пепсина в гомогенатах слизистой желудка норки составляет 60 ± 10 мкмоль/мин/г, хорьков - 80±10 мкмоль/ мин/г, у крыс -22 - 28 ммоль/мин/г, у кроликов – 25 – 30 ммоль/мин/г (Олейник, 1997). Таким образом активность пепсина в гомогенатах слизистой желудка у крыс и кроликов почти не отличается, а у хищных животных отличается не менее, чем в два раза по сравнению с всеядными и травоядными видами животных.

В поджелудочной железе у плотоядных животных общая протеолитическая активность (ОПА) в среднем выше, а активность амилазы и липазы - ниже, чем у других животных (табл. 2). В слизистой тощей кишки у плотоядных животных обнаружена низкая активность карбогидраз и моноглицеридлипазы.

Наиболее существенные отличия между плотоядными и всеядными животными обнаружены в уровне активности амилазы при гидролизе крахмала и гликогена. Амилаза плотоядных по сравнению с амилазой крыс относительно более эффективно гидролизует гликоген и менее интенсивно - крахмал.

Для изучения ферментной топографии кишки лабораторных животных были проведены исследования по оценке активности ферментов в слизистой оболочке различных отделов тощей и двенадцатиперстной кишки (рис. 1, 2).

Активность сахаразы у крыс максимальна в средних отделах тонкой кишки и очень низка в дистальной ее части, что совпадает с литературными данными, как для крыс, так и других всеядных животных и человека [Уголев, 1985; Van Beers et al., 1995]. У хищников различия в активности сахаразы между медиальными и дистальными отделами кишки являются менее выраженными (рис. 1).

Существенные различия между хищниками и крысами обнаружены в распределении вдоль кишки панкреатических ферментов. Активность амилазы и ОПА (протеаз) у крыс была максимальной в проксимальном отрезке кишки, затем резко падала. Снижение активности панкреатических ферментов в дистальном направлении в тонкой кишке крыс отмечалось многими авторами [Уголев и др., 1970; Alpers, 1987]. У хищников, например хорьков, распределение активности панкреатических ферментов вдоль кишки является более равномерным (рис. 2).

Видовые различия в распределении

глициллейциндипептидазы и моноглицеридлипазы менее выражены. Для крыс характерно незначительное снижение дипептидазной активности в проксимодистальном направлении. Данные о распределении активности дипептидаз у крыс, приводимые разными авторами [Уголев, 1985; Тимофеева, 1993; Curtis et al., 1978] не одинаковые, но в целом результаты не противоречат друг другу.

Активность ферментов (как панкреатических, так и собственно кишечных) выше в слизистой тех частей кишки, где выше концентрация низкомолекулярных форм субстратов, способных проникать в щеточную кайму и взаимодействовать с этими ферментами [Уголев, 1985]. Так как у плотоядных животных пища быстро проходит по желудочно-кишечному тракту, то в дистальных отделах тонкой кишки большие количества низкомолекулярных субстратов контактируют со структурами слизистой. В частности, имеются сведения [Szymeczko, Skrede, 1990], что концентрация продуктов расщепления белка в химусе тонкой кишки норок в каудальном направлении увеличивается.

На активность пищеварительных ферментов также влияет изменение диеты. При изменении диеты крыс (10 дней на мясо-рыбном рационе с повышенным на 20% уровнем белка) у животных увеличивается активность пепсина в слизистой желудка и ОПА в поджелудочной железе и снижается активность амилазы в поджелудочной железе. В результате опытов не было установлено достоверных отличий по активности ферментов в поджелудочной железе и тонкой кишке между животными-хищниками, получавшими различные диеты, и контрольными животными.

Кроме того прослеживалась тенденция к некоторому повышению активности всех исследованных ферментов (пепсин, трипсин, ОПА, амилаза, липаза) в опытных группах. Различия между опытными группами очень невелики - 1-8%. Только

активность липазы на высокоуглеводной диете была выше, чем в контроле на 51% (P<0,1). На высокобелковой диете активность липазы снижалась. Для высокобелковой диеты было также отмечено повышение активности амилазы. У норок и песцов, представителей хищных пушных зверей, не обнаружена адаптивная реакция пищеварительных ферментов к изменению диеты, подобная той, что имеет место у всеядных млекопитающих [Уголев,1985; Snook, 1974; Тимофеева и др., 2001].

К особенностям хищников можно отнести отсутствие адаптивной реакции ферментного спектра пищеварительного тракта в ответ на изменение диеты, которая характерна для всеядных животных. Под влиянием диеты у хищников происходят изменения ферментной топографии тонкой кишки. При увеличении в диете белка активность ферментов сдвигается в проксимальном направлении. При повышении в диете уровня углеводов в дистальных частях кишки возрастает карбогидразная активность. Эти изменения пространственного градиента активности обеспечивают более эффективный гидролиз нутриентов.

Таким образом активность ферментов в пищеварительном тракте существенно отличается у хищников с разной экологической специализацией в питании. Хищные плотоядные млекопитающие (норка, хорек, песец, лисица) по сравнению со всеядными и растительноядными животными обладают мощной протеолитической ферментной цепью, умеренной липолитической и слабой - карбогидразной. В слизистой желудка плотоядных присутствует высокая активность пепсина, в поджелудочной железе - высокая активность протеаз, низкая активность 🗆амилазы и липазы, в слизистой кишки низкая активность моноглицеридлипазы и α-амилазы, умеренная активность глициллейциндипептидазы, сахаразы и протеаз.

Далее при характеристике пищеварительных ферментов будут рассмотрены некоторые особенности набора ферментов у разного вида животных. Ферменты, участвующие в пищеварении, относятся к гидролазам. До настоящего времени не обнаружены никакие другие типы реакций для стадии переваривания пищи.

Гидролиз углеводов

Большинство углеводов, входящих в пищу животных и человека, имеет растительное происхождение. Переваривание крахмала у животных с развитой алиментарной системой начинается в полости рта под действием α-амилазы слюны. Активность амилазы обнаруживают во многих органах и тканях [Panteghini et al, 2002]. Самая высокая концентрация отмечается в слюнных железах, которые секретируют амилазу (S-тип), осуществляющую гидролиз крахмала пищи во рту и пищеводе, ее действие заканчивается в желудке. В поджелудочной железе амилаза (Р-тип) синтезируется ацинарными клетками и попадает в кишечник через панкреатические протоки [Panteghini, Pagani, 1990]. Пищеварительная роль и содержание, а также активность ферментов слюны у разных животных имеет существенные отличия (таблица 3). В слюне некоторых животных, например лошадей и хорьков, вовсе не удается обнаружить присутствующего у других животных амилолитического фермента. Почти нет этих ферментов также и в слюне хищных млекопитающих. Небольшая амилолитическая активность обнаружена в слюне кошек, лисиц [Уголев, 1958]. В таблице 3 приведены некоторые данные амилолитической активности у различных млекопитающих, в том числе человека.

Для слюны обезьян характерно наличие в ней амилазы и очень большая чувствительность состава слюны к химическим и механическим раздражителям полости рта. Предполагают, что высокая амилолитическая способность слюны

связана с растительноядностью обезьян и многообразием поедаемых ими растительных продуктов. [Слоним, 1971]

Активность α-амилазы в слюне хомяков в норме составляет 900 – 1167 Ед/мл [Мигаtsu, Могіока, 1985]. Активность амилазы в слюне человека в литературных источниках приводится в достаточно широких пределах от 27±3,8 до 1440±160 Ед/мл [Тепочио, 1989]. Также необходимо отметить, что рН слюны хомяка (рН=8,5 – 9,0) выше, чем у человека (табл. 4). В литературе также содержатся указания, что концентрация кальция и магния выше, а фосфора ниже в слюне хомяков по сравнению со слюной человека [Меthods..., 1968].

Авторы [Li et al, 2007] сравнили состав смешанной слюны лабораторных животных и человека по различным параметрам (табл. 4)..

Активность амилазы в слюне у карликовых свиней намного выше, чем у человека, а ЩФ в среднем немного меньше, чем у человека.

Необходимо отметить, что для определения активности □-амилазы используют различные методики И субстраты [Шапиро, 1976; Балябина и др., 2007], поэтому получаемые различными исследователями данные не всегда сравнимы между собой (табл. 3, табл. 4). В публикациях [Rohleder et al. 2006; Acquier, 2015] указано, что активность данного фермента в слюне человека в норме составляет 80 – 140 МЕ/мл, для карликовых свиней приводятся значения в достаточно широком диапазоне 200 – 1000 ME/мл [Fuentes, 2011]. В других источниках указан еще более широкий диапазон

Крысы и мыши являются наиболее часто используемыми животными как модели для медико-биологических исследований слюнных желез. Преимуществами модели на грызунах являются их доступность и простота в обращении с ними. К недостаткам моделей на грызунах мож-

но отнести, тот факт, что их анатомия, морфология и физиология сильно отличаются от людей по многим параметрам. Эксперименты, проведенные в лаборатории Li и соавторов [2007], показали наличие значительного сходства в морфологии околоушной и подчелюстной желез карликовых свиней и людей. Авторы использовали карликовых свиней в качестве модели, подходящей для исследования переноса генов в слюнных железах. Значение рН и буферная емкость слюны выше у карликовых свиней и крыс (табл. 4), чем у людей, что может объяснить более низкую заболеваемость кариесом у представителей этих видов животных. Эти данные необходимо учитывать, когда карликовые свиньи или крысы используются для исследования кариеса.

Высокая концентрация амилазы в слюне карликовых свиней может указывать на более активное функционирование околоушных желез этих животных. Несмотря на некоторые отличия в активности ферментов, авторы статьи рекомендуют использовать карликовых свиней как модель для дальнейших биомедицинских исследований, особенно связанных со стоматологией.

В желудке гидролиз крахмала приостанавливается, так как в этом органе нет собственных карбогидраз, а □-амилаза инактивируется в кислой среде желудка. Гидролиз углеводов продолжается под действием □-амилазы сока поджелудочной железы в полости тонкой кишки [Уголев, 1985]. В работах [Беленький и др., 1971; Wetterndorf et. al., 1968] отмечается, что, несмотря на одинаковый механизм, по строению, эти ферменты имеют различия и представляют собой отдельные изоферменты. Для дальнейшего переваривания углеводов в кишечнике функционируют различные виды карбогидраз. Все карбогидразы, завершающие мембранный гидролиз углеводов, локализованы в области апикальной мембраны

щеточной каймы энтероцитов. Кишечные карбогидразы обладают перекрестной специфичностью, поэтому их чаще всего выделяют в виде комплексов: мальтаза-□-амилаза, мальтаза-сахараза, мальтазаизомальтаза. В щеточной кайме тонкой кишки содержится две П-глюкозидазы лактаза и гетеро-□-глюкозидаза, которые так называемый глюкозидазный комплекс. Данный комплекс, выделенный из тонкой кишки человека, очень похож на аналогичный комплекс из тонкой кишки крысы и состоит из двух субъединиц (по 160 кДа). Существуют широкие видовые отличия даннонапример, комплекса, глюкозидазные комплексы обезьян и человека имеют мало сходства. Уголев А.М. отмечает, что кишечные карбогидразы обнаружены у большинства позвоночных, причем наличие тех или иных карбогидраз полностью коррелирует с характером питания [Уголев, 1985].

В книге [Слоним, 1971] отмечено, что поджелудочная железа различных животных выделяет сок, одинаковый по химическому составу для всех млекопитающих. Три основных фермента — трипсин, липаза и амилаза находятся в поджелудочном соке в одинаковых соотношениях, изменяется лишь концентрация их в связи с родом пищи.

Как известно, поджелудочная железа является источником не только ферментов поджелудочного сока, но и ферментов крови — трипсина, амилазы и липазы. Количество и соотношение этих ферментов может изменяться в зависимости от пищевого режима организма.

В работе [Уголев, 1958] была исследована активность амилазы крови у лабораторных мышей, крыс, морских свинок, кроликов, хомяков, кошек, собак, африканских белых хорьков и ежей. В результате проведенного исследования сделан вывод, что независимо от принадлежности к тому или другому отряду у расти-

тельноядных видов животных, амилолитическая активность крови преобладала над гликогенолитической активностью, у всеядных животных обе активности были равны, а у плотоядных превалировала гликогенолитическая активность. Аналогичные данные были получены и при исследовании водных экстрактов поджелудочной железы у разных животных. Однако для всех животных регуляция деятельности поджелудочной (нервные пути и гуморальный механизм (секретин)) не отличается специфичностью даже в пределах разных классов животных [Слоним, 1981].

Гидролиз белков

Гидролиз белков пищи начинается в желудке благодаря денатурирующему действию соляной кислоты и последующей обработке пепсином. В желудке человека существует несколько (не менее 7) изоформ пепсина. Наряду с пепсином в желудочном соке присутствуют другие протеолитические ферменты: парапепсин, гастриксин, ренин (химозин). В желудке гидролизуется только 10% всех пептидных связей. Дальнейшее переваривание белков происходит под действием протеолитических ферментов сока поджелудочной железы: трипсина, химотрипсина А, В, С, эластазы, карбоксипептидаз А и В. Панкреатические протеазы выделяются в неактивной форме. Трипсиноген, химотрипсиноген А, В, С и проэластаза секретируются поджелудочной железой всех млекопитающих [Барнард Е., 1977, Антонов, 1991, Уголев, 1985]. Аминокислотные последовательности сериновых протеаз имеют строгую гомологию первичных структур у животных близких видов. Действие панкреатических экзопептидаз весьма специфично. Карбоксипептидаза А отщепляет от пептидной цепи ароматические, а карбоксипептидаза В - основные аминокислоты с С-конца. Благодаря согласованному действию желудочных и панкреатических ферментов

пищевые белки расщепляются до олиго-пептидов.

Заключительный гидролиз олигопептидов происходит в области щеточной каймы, где они расщепляются под действием собственно кишечных ферментов до аминокислот и малых пептидов, способных к всасыванию. Основным ферментом, осуществляющим заключительные стадии гидролиза белков, считается аминопептидаза М. Аминопептидаза М у большинства животных представляет собой симметричный димер (М=300 кДа), а в тонкой кишке кроликов этот фермент является мономером. Для свиньи характерны более сложные четвертичные структуры аминопептидаз [Уголев, 1985]. Аминопептидаза А специфична к соединениям, содержащим остатки аспарагиновой и глугаминовой кислот. В тонкой кишке свиньи этот фермент составляет 4% от общего белка мембраны и имеет четвертичную структуру с высокой молекулярной массой.

Дипепдилпептидаза 4 типа также участвует в мембранном гидролизе олигопептидов, проявляя наибольшую специфичность к глицилпролилпроизводным и производным аланилаланина.

В гидролизе дипептидов на поверхности щеточной каймы участвуют дипептидазы. Некоторые из них относятся к металлоферментам, и их активность ингибируется ЭДТА. Кроме экзогидролаз, олиго- и дипептидаз на мембране щеточной каймы локализованы эндогидролазы: энтерокиназа и нейтральная эндопептидаза. Энтерокиназа локализована в щеточной кайме, она обнаружена у всех позвоночных.

Эндопептидаза гидролизует пептиды, в том числе В-цепь инсулина. Фермент обнаружен не только в щеточной кайме, но также в поджелудочной железе, мозге, селезенке, миокарде, легких и сперматозоидах. В печени эндопептидаза отсутствует. Получены три различные формы фермента: гидрофильная, солюбилизиро-

ванная толуеном и трипсином, а также амфипатическая, полученная с помощью солюбилизации детергентом (M=360)кДА) и смесью детергента и трипсина (М=330 кДА). Этот фермент представляет собой димер, сходный с другими гидролазами щеточной каймы. У кролика эндопептидаза существует в форме мономера (М=93кДа). У некоторых видов обнаружены две различные эндопептидазы. Например, у мышей и крыс найдена эндопептидаза, не чувствительная к действию фосфорамидона - специфического ингибитора эндопептидаз. Эндопептидаза имеет широкую специфичность по отношению к пептидным связям гидрофобных остатков [Уголев, 1978; Балабан и др., 2010].

Гидролизов жиров

Главная масса пищевых жиров – триглицериды животного и растительного происхождения. Начальные этапы гидролиза жиров протекают в полости двенадцатиперстной кишки под действием панкреатической липазы, содержащейся в секрете поджелудочной железы за счет полостного пищеварения. Панкреатическая липаза секретируется в зимогенных гранулах поджелудочной железы позвоночных [Brockerhoff, 1971]. Заключительные этапы гидролиза триглицеридов происходят за счет мембранного пищеварения в щеточной кайме энтероцитов под лействием моноглицеридлипазы [Черняховская, Уголев, 1969; Черняховская, Чурина, 1977]. В этой зоне обнаружены эстеразы, липазы, а также ферменты, расщепляющие эфиры холестерина и ретинола.

Молекулярная структура кишечных мембранных ферментов

Большинство кишечных мембранных ферментов представляет собой трансмембранные интегральные белки, гликопротеиды с большой молекулярной массой и активным центром, локализованным экстрацеллюлярно в направлении водной фазы. Молекулярная масса кишечной щелочной фосфатазы колеблется от 120 до 150 кДА, аминопептидазы от 225 до 280 кДа и зависит от вида животного.

Мембранные интегральные ферменты обладают амфипатической структурой и состоят из гидрофильного и гидрофобного доменов. В работах Уголева А.М. с соавторами [Егорова и др., 1977; Уголев и др., 1979а, 1979б] отмечается, что при сопоставлении кинетических характеристик детергентной и протеазной формами аминопептидазы человека, щелочной фосфатазы и

-амилазы крыс гидрофобный домен выполняет якорную, транспортную и регуляторную функции, поддерживает в том числе оптимальную конформацию гидрофильной части молекулы. Высказано также предположение, что гидрофобный домен участвует в передаче сигналов из цитоплазмы на внешнюю поверхность мембраны. Наличие и особенности регуляторных свойств мембранных ферментов определяет функциональную организацию и регуляцию естественного полисубстратного пищеварения у различных видов животных.

Многие исследователи изучали распределение ферментативных и транспортных активностей в кишечнике животных.

Уголев А.М. с коллегами в течение 20 лет исследовали различные характеристики мембранного пищеварения и транспорта, различных нутриентов у животных разных видов: у нескольких линий крыс, у кроликов, морских свинок и др. (рис. 3)

Например, активность сахаразы, максимальная в средних отделах тонкой кишки, снижается в проксимальном и дистальном направлениях. Такие изменения в большей степени выражены у крыс и в меньшей степени у кролика. Для других ферментов характерна другая топография. Обращает на себя внимание, что уровень активности ферментов во всех отделах кишки подвержен значительным

Таблица 1. Ферменты, участвующие в гидролизе основных групп веществ [Кольман, Рём, 2004]

| Фермент | Код | Гидролизуемые связи и субстраты | Тип гидролиза | | | |
|-----------------------------------|----------------------|--|-----------------------------|--|--|--|
| Ротовая полость | | | | | | |
| а-Амилаза | 3.2.1.1 | α-1,4-гликозидные связи крахмала и гликогена | | | | |
| Лизоцим | 3.2.1.17 | 1,4-гликозидных связей в N-ацетилмурамовой ки- слоте. Разрушает стенки бактерий | Внеклеточный | | | |
| Желудок | | | | | | |
| Пепсин | 3.4.23.1 | Пептидные связи белков и | | | | |
| Гастриксин | 3.4.23.3 | пептидов при рН=3,3 – 4,0 | Внеклеточный | | | |
| Химозин | 3.4.23.4 | Пептидные связи белков и пептидов при рН=3,7 | Б неклеточный | | | |
| Двенадцатиперстная кишка | | | | | | |
| α-Амилаза | 3.2.1.1. | α-1,4-гликозидные связи крахмала и гликогена | | | | |
| Трипсин | 3.2.21.4 | Пептидные связи между основными аминокислотами (Arg-Lys) | | | | |
| Химотрипсин | 3.4.21.1 | Пептидные связи между ароматическими аминокислотами (Phe-Tyr) | | | | |
| Эластаза | 3.4.21.36 | Пептидные связи между ароматическими аминокислотами | Внеклеточный, мембранный | | | |
| Карбоксипептидаза А | 3.4.17.1 | С-концевые ароматические аминокислоты пептидов | | | | |
| Карбоксипептидаза Б | 3.4.17.2. | С-концевые основные аминокислоты пептидов | | | | |
| Липаза | 3.1.1.3 | Триглицериды (до моноглицеридов и жирных кислот) | | | | |
| Фосфолипаза А2 | 3.1.1.4 | Фосфолипиды | | | | |
| Холестеринэстераза | 3.1.1.13 | Эфиры холестерина | 1 | | | |
| Рибонуклеаза; дезоксирибонуклеаза | 3.1.27.5 3.1.21.1 | РНК ДНК | Внутриклеточ- ный | | | |

Международный вестник ветеринарии, № 2, 2016 г.

| Тощая кишка | | | | |
|--|--------------------------|---|-------------------------------------|--|
| ү-Амилаза | 3.2.1.3 | Концевые остатки α-D-глюкозы полисахаридов | | |
| Изомальтаза (олиго-1,6- глюкозидаза) | 3.2.1.10 | α-1,6 – Глюкозидные связи в изомальтозе и декстранах | | |
| Мальтаза (α-Глюкозидаза) | 3.2.1.20 | α-1,4 – Глюкозидные связи нередуцирующего конца олигосахаридов | | |
| Сахараза (инвертаза) | 3.2.1.48 | Сахароза, мальтоза | | |
| Лактаза (β- галактазидаза) | 3.2.1.23 | β-Галактазиды, лактоза | Мембранный | |
| Трегалаза | 3.2.1.28 | α, α'-Трегалоза | | |
| Щелочная фосфата- за | 3.1.3.1 | Моноэфиры ортофосфата | | |
| Аминопептидаза М | 3.4.11.12 | Пептиды (отщепляет α-АК, преимущественно аланин), амиды | | |
| Полинуклетидазы | 3.1.3.n | Нуклеиновые кислоты, нуклеотиды | | |
| Нуклеозидазы | 3.2.2.n | Нуклеозиды | | |
| Фосфолипазы A, B, C | , B, 3.1.n.n Фосфолипиды | | | |
| Дипептидазы | 3.4.13.1- 3.4.13.11 | Специфические дипептиды (интегральный белок) | Мембранный, внутриклеточ- ный | |
| Моноглицеридлипа- за | 3.1.1.23 | Моноглицериды (место синтеза - апикальная мембрана энтероцитов) | Мембранный | |

колебаниям. Эти изменения зависят от возрастных (рис. 4), сезонных и других особенностей, от функционального состояния организма (рис 5). В то же время многие вариации можно интерпретировать как индивидуальные. Внутри- и межиндивидуальная изменчивость минимальна у линейных крыс и максимальна у беспородных белых крыс. Крысы линии Вистар по данным [Уголев, 1985] занимают промежуточное положение.

Так как распределение ферментативных и транспортных функций вдоль тонкой кишки имеет приспособительный характер, то при естественном отборе некоторые вариации проксимо-

дистального градиента могут оказаться доминирующими, а другие, наоборот, будут элиминированы.

Несмотря на значительные вариации таких характеристик как скорость гидролиза мальтозы, сахарозы, крахмала, различных три- и дипептидов, всасывание глюкозы, фруктозы и т.д. в пределах одного вида, кинетические характеристики ферментных и транспортных систем ($K_{\rm m}$, $V_{\rm max}$, $J_{\rm max}$ и т.д.) остаются неизменными [Уголев, 1985].

В исследовании Yu и соавторов [2000] была изучена реакция всеядных и травоядных лабораторных животных, на изменение содержания пищевых волокон

в рационе питания на активность пищеварительных ферментов в различных отделах кишечника. Десять животных каждого из четырех видов (кролики, морские свинки, крысы и сирийский хомяк) получали в основном рационе больше на 18% сырого протеина и на 10% сырой клетчатки в течение шести недель. Результаты определения активности различных ферментов в желудке и различных отделах кишечника представлены в таблице 5.

Для кроликов характерна очень высокая активность пепсина в желудке, в то время как крысы содержат наиболее активные протеазы и амилазы в тонком кишечнике, а активность гидролаз в толстой кишке в 1,5–2 раза ниже, чем у кроликов, морских свинок и хомяков.

В работе [Shulman, 1988] изучено развитие и регуляция активности кишечных ферментов у карликовых свиней (рисунки 4 – 8) в ранний период постнатального развития. При исследованиях регулирования активности кишечных ферментов и испытаниях лекарственных субстанций с целью применения их в педиатрии, а также для исследования детского питания, необходимо выбирать модель животных со скоростью развития ферментной системы, подобной младенцам. Исследование [Shulman, 1998] было проведено на поросятах карликовых свиней. Активность ферментов лактазы, сахаразы, мальтазы, глюкоамилазы и кислотоустойчивой деятельности β-галактозидазы определяли у поросят в возрасте 1, 2, 3, 4, 5 и 6 недель (рис. 4 - 8) в различных сегментах кишки.

На основании данных, представленных на рисунках 2 – 8 можно сделать следующие выводы: 1) Лактазная активность с возрастом значительно снизилась во всех сегментах тонкой кишки. Самая высокая активность фермента характерна для тощей кишки. 2) Ферменты сахараза и мальтаза присутствуют во всех сегментах тонкой кишки, начиная с 1 недели жизни. Активность сахаразы увеличива-

Активность пищеварительных ферментов в поджелудочной железе и в слизистой тощей кишки у разных видов животных (М±m) (Олейник, 1997)

| | кдоП | Поджелудочная железа | елеза | | Слизі | Слизистая тощей кишки | ИШКИ | |
|-------------------------|-----------------|-------------------------|--------------------|---------------|-------------|-----------------------|--------------------|---------------|
| | Амилаза | OIIA | Липаза | Амилаза | ИΠО | Липаза | Пептидаза | Caxapasa |
| Вид животных | MF | | | ML | | | | |
| | крахмала/ | MKMOJIB/M | мкмоль/мин/г ткани | крахмала/ | | мкмоль/мі | мкмоль/мин/г ткани | |
| | $ m MMH/\Gamma$ | | | MMH/Γ | | | | |
| Крысы (линия Вистар) | 6348±351 | 42=4 | 4,2±0,4 | 72,5±5,5 | 4,0±0,4 | 8,9±0,3 | 4,2±0,6 | 9,0±6,9 |
| Кролик | 1453 ± 293 | 34±3 | 1 | 13,4±1,4 | 0,40±0,06 | - | 1 | ı |
| Хорек | 284±38 | 58,8±2,8 | $1,46\pm0,04$ | $6,08\pm0,38$ | 5,32±0,37 | 0.57 ± 0.05 | $3,26\pm0,29$ | $3,31\pm0,36$ |
| Норка | 0.2484€ | €∓95 | 1,7±0,2 | 6,4±9,4 | $2,1\pm0,2$ | $0,13\pm0,01$ | $3,6\pm0,2$ | 5,3±0,7 |
| Енотовидная собака | 3355±223 | 1 = 09 | 6,9±0,3 | 9,5±1,1 | 1,11±0,08 | $0,16\pm0,02$ | 3,9±0,4 | ı |
| Песец | 396±46 | €∓09 | $2,4\pm0,2$ | 2,8±0,3 | 2,2±0,2 | $0,13\pm0,01$ | 5,0±0,3 | 4,7±0,3 |
| Примечание: пептидаза | | глициплейциндипептидаза | гидаза | | | | | |

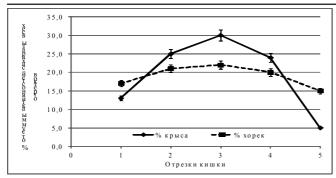


Рисунок 1 — Распределение активности сахаразы (Xcp.±SD) вдоль кишки у крыс и хорьков; цитировано по (Олейник, 1997). Ориентировочно отрезок 1 соответствует двенадцатиперстной кишке, отрезки 3 и 4 -тощей кишке, отрезки 4, 5 — подвздошной кишке.

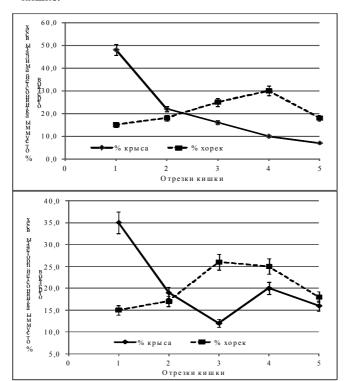


Рисунок 2 — Распределение активности амилазы (A) и протеаз (Б) вдоль кишки у лабораторных животных - крыс и хорьков; цитировано по [Олейник, 1997] Ориентировочно отрезок 1 соответствует двенадцатиперстной кишке, отрезки 3 и 4 -тощей кишке, отрезки 4,5 — подвздошной кишке.

ется в 2 раза с возрастом только в подвздошной кишке, а мальтазы – на 50% в тощей и в 3 раза в подвздошной кишках. Самая высокая активность данных ферментов характерна для тощей кишки. 3) Фермент глюкоамилаза присутствует у поросят с первой недели жизни во всех сегментах тонкого кишечника, однако значительное увеличение его активности было отмечено только в двенадцатиперстной кишке. 4) кислой Активность с возрастом галактозидазы снижается во всех сегментах тонкого кишечника.

Авторы статьи указывают, что в возрасте 6 недель активность всех тестируемых ферментов была аналогична активности ферментам, которые встречаются V младенцев [Shulman, 1988]. Степень активности и распределение ферментов в кишечнике поросят сравнимы с развитием ферментной системы младенцев и сильно отличается от ферментной системы крыс, мышей и кроликов. Данное обстоятельство позволяет предположить, что поросята карликовых свиней являются наиболее подходящей моделью для изучения вопросов развития и регуляции ферментов у детей и тестирования препаратов с целью их дальнейшего применения в педиатрии.

Симбионтное пищеварение

Кроме рассмотренных этапов «собственного» пищеварения, в процессе переваривания

Таблица 3. Амилолитическая активность слюны различных животных по методике Вольгемута (ед.*)

| Вид животных | Амилолитическая активность слюны, ед. | Ссылка | |
|---------------------|---------------------------------------|--------------------------|--|
| Кошка домаш- няя | 20 – 160 | | |
| Лисица | До 10 | Уголев, 1958 | |
| Морская свинка | 320-1280 | 3 103101, 1930 | |
| Крыса белая | 5000 - 20000 | | |
| Макака-резус | 10000 - 100000 | Слоним, 1972 | |
| Человек | 260 - 320 | Шапиро, 1976 | |
| Хорьки | Отсутствует | Калинин, 2014; Fox, 1998 | |

Примечание - * - Активность амилазы слюны выражена количеством миллилитров 0,1 %-ного раствора крахмала, который способен расщепить 1 мл неразведенной слюны в течение 30 мин. при 37—38° C.

Таблица 4. Значение pH и активность амилазы и щелочной фосфатазы (Щ Φ) различных ферментов в смешанной слюне (Xcp. \pm SD)

| Вид животных (число) | Амилаза, Ед/л | ЩФ, Ед/л | рН |
|-----------------------------|------------------|-----------|-----------|
| Карликовая свинья (n=12) | 1126±23 | 4,27±1,19 | 7,77±0,18 |
| Крысы (n=10) | $2,3 \pm 0,9$ | 3,75±1,04 | 8,00±0,19 |
| Человек (n=16) | 1,6±1,0 | 9,00±4,10 | 7,32±0,17 |

пищи огромную роль играет симбионтное пищеварение. Симбионтное пищеварение реализуется за счет микроорганизмов. Оно широко распространено у беспозвоночных и позвоночных животных, но наиболее подробно изучено у растительноядных жвачных. Поскольку у млекопитающих нет собственных ферментов, расщепляющих растительную клетчатку, существование растительноядных животных в значительной мере базируется на использовании симбионтных процессов, которые определяют использование трофических ниш. Различные формы и модификации симбионтного пищеварения имеют два функциональных механизма: 1) бактерии и простейшие поставляют

ферменты, а образующиеся продукты гидролиза, используются преимущественно хозяином; 2) бактерии и простейшие не только гидролизуют органические вещества, но и утилизируют их, в то время как хозяин потребляет вторичную пищу, состоя-

щую из структур симбионтов. В первом случае реализуется симбионтное пищеварение, во втором случае — симбионтное питание [Уголев, 1972; Иезуитова, Трофимова, 1999].

Важным свойством микрофлоры как источника питания является ее способность синтезировать аминокислоты из мочевины и важнейшие витамины. В результате действия микрофлоры образуются вещества, не нуждающиеся в дальнейшем гидролизе [Уголев, 1987; Вальдман, 1972].

Присутствие микрофлоры в передних отделах пищеварительного тракта характерно для многих позвоночных. В результате приема пищи происходит быстрое

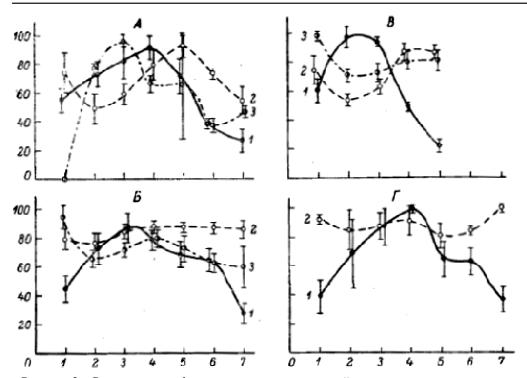


Рисунок 3 — Распределение ферментативных активностей вдоль тонкого кишечника у собак (A), кроликов (Б), белых крыс (В) и морских свинок (Γ). Цитировано по [Уголев, 1985]. По оси абсцисс — сегменты тонкого кишечника (1 — двенадцатиперстная кишка, 2 — 7 — отдельные сегменты (равнозначные)); по оси ординат — активность ферментов (% от максимальной активности отдельного сегмента, принятой за 100%, на 1 г слизистой), 1 — сахараза, 2 — дипептидаза, 3 — моноглицеридлипаза.

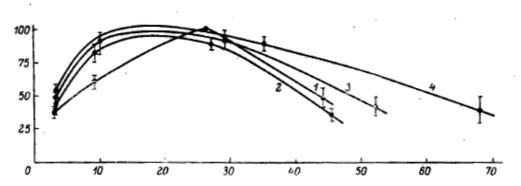
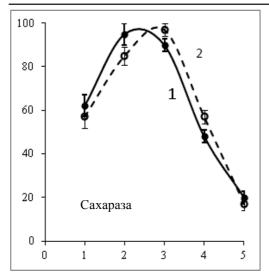


Рисунок 4 — Распределение активности сахаразы вдоль тонкого кишечника у крыс различных возрастных групп (1 - 20 дней, 2 – 24 дня, 3 – 27 дней, 4 – 60 дней). По оси абсцисс — длина сегментов тонкого кишечника (см); по оси ординат - активность сахаразы (%), за 100% принята максимальная сахаразная активность в каждой возрастной группе крыс. Цитировано по [Уголев, 1985].



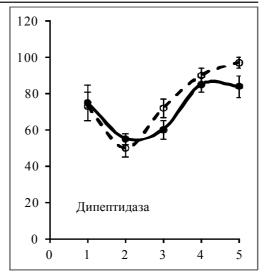


Рисунок 5 — Распределение ферментативных активностей вдоль тонкого кишечника сытых (1) и голодных (2) белых крыс. Цитировано по [Уголев, 1972]. По оси абсцисс — сегменты тонкого кишечника (1 — двенадцатиперстная кишка, 2 — 7 — дистальные сегменты (равнозначные)); по оси ординат - активность ферментов (% от максимальной активности отдельного сегмента, принятой за 100%, на 1 г слизистой).

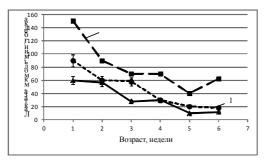


Рисунок 4 – Удельная активность лактазы в слизистой оболочке двенадцатиперстной (1), тощей (2) и подвздошной (3) кишках. Цитировано по [Schulman et al., 1988] (Хср±SD).

Рисунок 5 — Удельная активность сахаразы в слизистой кишечника в двенадцатиперстной кишке (1), тощей кишке (2) и подвздошной кишке (3) ($M\pm SD$).

размножение микроорганизмов в передней части желудка и тонкой кишки. Микрофлора ингибируется соляной кислотой желудка, но определенные популяции постоянно присутствуют в толстой кишке у млекопитающих [Barnard, 1977]. Видовой состав и соотношение отдельных групп микроорганизмов, обитающих в кишечнике человека и животных, значи-

тельно различаются.

В свете новейших данных, полученных с помощью молекулярногенетических методов, установлено, что организм человека служит средой обитания более чем 5000 известных видов бактериальной микрофлоры, и лишь около 100 из них относятся к патогенным микроорганизмам [Dethlefsen et al., 2007].

Таблица 5. Удельная активность пищеварительных ферментов у самок некоторых лабораторных животных (Ед/г). Цитировано по [Yu., Kuo, 2000]

| Наименова- ние фер- мента | Отдел ЖКТ | Кролик | Морская свинка | Крыса | Хомяк |
|---------------------------------|--|------------------------------------|-------------------------------------|--|------------------------------------|
| Пепсин, Ед/ г | Желудок | 3000 – 8000 | 1500–3100 | 1200 – 4000 | 50 – 150 |
| Протеазы, Ед/г | Подвздошная кишка Тощая кишка 12-ти перстная кишка | 220 - 280 180 -220 50 -120 | 480 - 510 475 - 500 100 - 400 | 1800 – 2200 1600 – 1800 750 – 1500 | 750 -800 700 - 750 250 - 700 |
| Амилаза, Ед/г | Подвздошная кишка Тощая кишка 12-ти перстная кишка | 480 - 520 380 -450 200 - 280 | 510 - 560 430 - 475 250 - 350 | 1100 - 1250 1000 - 1200 550 - 1000 | 680 -720 480 -520 380 -430 |
| Мальтаза, Ед/г | Подвздошная кишка Тощая кишка 12-ти перстная кишка | 70 -90 38 - 57 15 - 23 | 60 - 160 22 - 42 7 - 20 | 110 – 130 70 – 82 28 - 47 | 140 -150 120 -140 55 - 75 |
| Целлобиаза, Ед/г | Слепая кишка Толстая/прямая кишка | 4,6 - 4,8 2,1 - 2,2 | 5,7 – 6,3 1,4 – 1,8 | 2,8 – 3,0 2,4 – 2,5 | 4,8-5,7 1,9-2,1 |
| Целлобио- гидролаза, Ед/г | Слепая кишка Толстая/прямая кишка | 4,3 – 4,5 1,9 – 2,1 | 3,8 – 4,4 0,7 -0,8 | 2,7 – 2,9 2, 0- 2,4 | 4,7-4,8 $1,5-2,3$ |
| Эндоглюко- назы, Ед/г | Слепая кишка Толстая/прямая кишка | 3,2 – 4,4 1,5 – 2,1 | 2,5 – 4,5 1,1 -1,2 | 2,0-3,3 1,1-2,5 | 3,3 – 4,5 1,1 – 1,2 |

Количество кишечной микрофлоры составляет приблизительно 1014 КОЕ с биомассой свыше 2,5 кг [Gill et al., 2006; Бондарко, Мацулевич, 2007]. Качественный и количественный состав микробиоты стабилен, но зависит от локализации. Он колеблется от 1011 КОЕ - в слепой и восходящей ободочной кишке до 107–108 в дистальном отделе подвздошной кишки и до 102–103 в проксимальном отделе подвздошной и тощей кишки. В толстой кишке обнаружено более 400 видов мик-

робов. У взрослого человека преобладают облигатно-анаэробные палочки (около 90%), на долю факультативно-анаэробных микробов (кишечная палочка, молочные бактерии, стрептококки) приходится около 10% [Иезуитова, Тимофеева, 1999].

Бактериальное симбионтное сообщество представлено в значительной мере анаэробами, их на несколько порядков больше, чем аэробов. До 60–90% микробиоты представлено бифидобактериями,

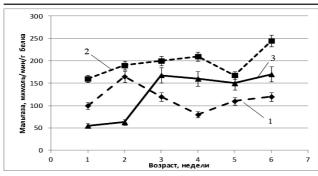


Рисунок 6 — Удельная активность мальтазы в слизистой кишечника в двенадцатиперстной кишке (1), тощей кишке (2) и подвздошной кишке (3) (Xcp. \pm SD).

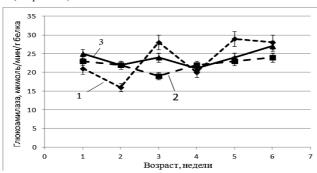


Рисунок 7 — Удельная активность глюкоамилазы в слизистой кишечника в двенадцатиперстной кишке (1), тощей кишке (2) и подвздошной кишке (3) (Xcp. \pm SD).

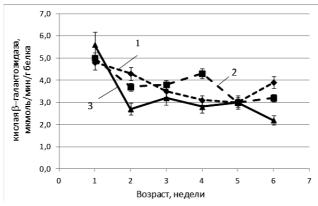


Рисунок 8 - Удельная активность кислой β -галактозидазы в слизистой кишечника в двенадцатиперстной кишке (1), тощей кишке (2) и подвадошной кишке (3) (M±SD).

бактероидами, эубактериями, фузобактериями и лактобациллами [Бондарко, Мацулевич, 2007]. Симбионты располагаются в просвете кишечника, на внешней стороне апикальной мембраны эпителиоцитов и в примембранном слое слизи. Если растянуть внутреннюю поверхность кишечника взрослого человека до эпителиоцита, то площадь этой поверхности составит 300-400 м² [Madara et al., 1990]. Вся эта огромная поверхность заселена не менее впечатляющим количеством микроорганизмов — их количество на порядок превышает число клеток, из которых состоит человек. Большая часть симбионтов прикреплена к эпителию с помощью адгезивных связей. Эпителиальный слой слизистой оболочки кишечника наряду с пищеварительно-транспортной функцией обеспечивает герметичную защиту внутренней среды организма человека от внешней (просвет кишки). Этот барьер обеспечивается структурными, энзимными и химическими средствами защиты [Уголев и др., 1992].

У свиней в желудочнокишечном тракте также нет собственных пищеварительных ферментов, способных переваривать клетчатку, □-глюканы и пентозаны. В норме эти компоненты проходят желудок и тонкий отдел кишечника практически без изменений, поступают в толстый отдел кишечника и там часть из них переваривается под воздействием ферментов микрофлоры. У свиней перевариваемость сложных полисахаридов очень низкая – до 30% [Слоним, 1971].

У животных отряда зайцеобразных, к которому относятся кролики, нет анатомического разделения желудка, характерного для травоядных животных. Однако наблюдается физиологическое разделение желудка на два отдела: в первом происходит бактериальное сбраживание пищи, во втором - как и у всех млекопитающих, переваривание ее посредством пепсина. Слепая кишка зайцеобразных видов чрезвычайно длинна и имеет спиральные складки для увеличения площади поверхности. В этой части ЖКТ также происходит активное сбраживание растительной пищи. Но, несмотря на это, ассимиляция органических веществ пищи у кроликов ниже, чем у других травоядных животных, главным образом благодаря плохому перевариванию клетчатки [Slade, Hintz, 1969; Sakaguchi et al., 1987]. В деградацию компонентов пищи у кроликов вовлечены ферменты, имеющие эндогенное и микробиальное происхождение. В результате прохождения пищи по ЖКТ обособые разуются мягкие фекалии (цекотрофы), которые вторично поедаются. Процесс копрофагии предназначен для усвоения содержащихся в первичном кале белков, микроэлементов и витаминов, синтезируемых симбионтной флорой. [Слоним, 1971] Поедание фекалий зафиксировано у кроликов, крыс, морских свинок, бобров и др. В статье [Стее et al, 1986] отмечается, что в общей сложности крысы могут потреблять от 0 до 10% (иногда до 50%) произведенных ими фекалий. Единственной разницей между жеванием жвачки и копрофагией является то место пищеварительного тракта, где питательные вещества покидают его и возвращаются обратно. Более подробно явление копрофагии у различных животных описано в обзоре [Макарова и др., 2016].

Кишечная микрофлора необходима

для поддержания иммунной защиты организма. По сравнению с обычными животными у безмикробных организмов содержится лишь 10% клеток, синтезирующих IgA, участвующий в местном иммунном ответе. На примере безмикробных крыс было показано, что содержание в плазме крови общего белка и α -, β - и γ -глобулинов ниже, чем у обычных животных [Уголев, 1985].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом пищеварительный аппарат высших организмов по качественному составу ферментов практически не имеет отличий по сравнению с человеческим, однако соотношение ферментов у всеядных, растительноядных и хищников различно и сформировано таким образом, чтобы максимально усвоить тот вид пищи, который ими используется. У растительноядных видов амилолитическая активность преобладает над гликогенолитической, у всеядных эти активности равны, а у плотоядных превалирует гликогенолитическая активность. Необходимо отметить, что всеядные организмы обладают большим набором ферментов, чем растительноядные или плотоядные.

Вследствие наличия у разных видов животных особенностей пищеварительной системы необходимо очень тщательно подходить к вопросу выбора лабораторных животных для тестирования лекарственных средств или к формированию модели той или иной патологии. На основании изученной литературы можно рекомендовать, например, использовать карликовых свиней для изучения препаратов, которые предполагается применять в педиатрической практике, а также для исследований, связанных со стоматологией. Влияние диеты и питания на изменение ферментного спектра ЖКТ и изучение его последствий на организм человека следует оценивать на карликовых свиньях, поскольку они, как и человек, являются всеядными. Использование хищников с этой целью не рекомендуется, поскольку отсутствуют отчетливые адаптивные перестройки в активности пищеварительных ферментов в ответ на изменение диеты.

Имеющиеся метаболические, физиологические и биохимических различия в желудочно-кишечном тракте человека и лабораторных животных могут вызвать значительное изменение абсорбции лекарственного средства. Понимание различий между ЖКТ различных видов животных могут помочь выбрать наиболее подходящую животную модель для изучения биологической доступности ЛС у человека.

Features spectrum digestive enzyme in laboratory animals and humans. Faustova N., Ushakova N., Makarova M., Makarov V

ABSTRACT

One of the most common methods of administration of drugs in humans and animals is the enteral route (through the gastrointestinal tract). Available metabolic, physiological and biochemical differences in the gastrointestinal tract of humans and laboratory animals can cause significant changes in drug absorption. The composition of lipids, proteins and enzymes distribution along the gastrointestinal tract and may change the conveying speed of the binding drugs. The review discusses the features of the spectrum digestive enzyme used laboratory animals (rats, mice, rabbits, hamsters, mini pigs) and humans. Knowledge of the specific species differences in biochemistry allow the researcher to select the most suitable type of animals for preclinical testing of drugs, as well as provide optimal interpretation laboratory data. Influence of diet and nutrition to change the spectrum of gastrointestinal enzyme and study its effects on the human body the most appropriate animal species should be recognized a mini pig's omnivore. The use of predators for this purpose is not recommended, because there is no distinct

adaptive adjustment in the activity of digestive enzymes in response to a change in diet. Small animals (rats, mice, guinea pigs) are the most suitable animals for studying the mechanism of absorption and bioavailability of drugs in the form of powder or solution, larger animals (mini pigs, rabbits) are used to examine medicines without destroying the dosage form (enterosoluble tablets, capsules, etc.).

Based on the study of literature can be recommended, for example, use of dwarf pigs for the study of drugs that are intended to be used in pediatric patients, as well as research related to dentistry. Influence of diet and nutrition to change the spectrum of gastrointestinal enzyme and study its effects on the human body should be evaluated on the dwarf pigs, because they, like people are omnivores.

ЛИТЕРАТУРА

1.Антонов В.К. Химия протеолиза. М.: Наука. -1991. - 504c.

2.Балабан Н.П., Рудакова Н.Л., Сабирова А.Р., Ильинская О.Н., Шарипова М.Р. Металлоэн-допептидазы клана метцинкинов: классификация, свойтсва, структурные особенности. // Ученые записки Казанского государственного университета. -2010. -T.152. -C. 58 – 77.

3.Балябина М. Д., Слепышева В. В., Козлов А. В. Методы определения активности α -амилазы. // Терра медика. -2007.

4.Барнард Е. Сравнительная биохимия пищеварительных ферментов. // Сравнительная физиология животных. Под ред. Проссера Л.М. -1977. -T.2. -C. 295 – 309.

5.Беленький Д.М. Особенности ферментативного гидролиза \Box -1,4-глюкозидных связей. // Успехи биологической химии. М: Наука. -1971. -T.12. -C. 164 -18.

6.Бондаренко В.М., Мацулевич Т.В. Дисбактериоз кишечника как клинико-лабораторный синдром: современное состояние проблемы. - 2007. -306с.

7.Иезуитова Н.Н, Тимофеева Н.М. Пищеварение у человека и высших животных. -1999. - №8. -С. 142 - 149.

8.Калинин Д. Домашний хорек и его предок. - 2014. -224c.

9.Кольман Я., Рём К.-Г. Наглядная биохимия.

M. -2004. -469c

- 10.Макаренко И.Е., Авдеева О.И., Ванатиев Г.В., Рыбакова А.В., Ходько С.В., Макарова М.Н., Макаров В.Г. Возможные пути и объемы введения лекарственных средств лабораторным животным. // Международный вестник ветеринарии. -2013. -№3. -С. 78-84.
- 11. Макарова М.Н., Рыбакова А.В., Гущин Я.А., Шедько В.В., Мужикян А.А., Макаров В.Г Анатомо-физиологическая характеристика пищеварительного тракта у человека и лабораторных животных. // Международный вестник ветеринарии. -2016. -№1. -С. 82-104.
- 12.Олейник В.М. Характеристика ферментного спектра пищеварительного тракта у хищных млекопитающих. Автореферат ... на ... соискание...доктора биол. наук., СПБ. -1997. 13.Рахимов К.Р., Коротина Н.А., Халпаев И.Ш. Сопоставление ферментативной активности слизистой оболочки тонкой кишки у различных представителей млекопитающих. // Физиологический журнал СССР. -1972. Т.58. -№ 9. -С. 1453-1459.
- 14. Рахимов К.Р., Слоним А.Д. Экологофизиологические особенности питания, пищедобывательной деятельности и пищеварения. // Экологическая физиология животных. 1981. Ч.2. -С. 408-465.
- 15. Рахимов К.Р. Факторы внешней среды и функциональное развитие пищеварительной системы. // Физиологический журнал им. И.М. Сеченова. -1992. -Т.78. -№8. -С. 102 108.
- 16.Слоним А.Д. Экологическая физиология животных. М.: Высшая школа. -1971. -448 с.
- 17.Тимофеева Н.М., Егорова В.В., Иезуитова Н.Н., Никитина А.А. Активность пищеварительных ферментов тонкой кишки у крысят, матери которых в период беременности или лактации содержались на низкобелковом рационе. // Журн. эволюц. биохим. и физиол. 2001. -Т.37. -№2. -С. 103-108.
- 18.Тимофеева Н.М. Роль пептидаз в ассимиляции белков. // Физиол. журн. им. И.М. Сеченова. -1993. -Т.81. -№6. -С. 1-18.
- 19.Уголев А.М. Приспособление пищеварительных желез к качеству пищи. Автореферат дисс. -Москва. -1958.
- 20.Уголев А.М. Естественные технологии биологических систем. Л.: Наука. -1987. -317с. 21.Уголев А.М. Мембранное пищеварение: полисубстратные процессы, организация и регуляция. Л.: Наука. -1972. -358с.
- 22. Уголев А.М. Трофология новая междис-

- циплинарная наука. // Природа. -1987. -№ 2. -С. 3-14.
- 23.Уголев А.М. Эволюция пищеварения и принципы эволюции функций. Элементы современного функционализма. -Ленинград. 1985.
- 24.Уголев А.М., Груздков А.А., Иезуитова Н.Н. Ферментные адаптации как интегративные системы реакции. В кн.: Мембранный гидролиз и транспорт: Новые данные и гипотезы. Л.: Наука. -1986. -С. 64–74.
- 25.Уголев А.М., Иезуитова Н.Н., Тимофеева Н.М. Энзиматический барьер тонкой кишки. // Физиологический журнал. -1992. -Т.78. -№8. С. 1–20.
- 26.Уголев А.М., Иезуитова Н.Н., Тимофеева Н.М., Черняховская М.Ю. Закономерности нормального распределения пищеварительных ферментов вдоль тонкой кишки млекопитающих. // Die Nahrung. -1970. -№14. -P. 453—467. 27.Уголев А.М., Кузьмина В.В. Пищеварительные процессы и адаптации у рыб. СПБ: Гидрометеоиздат. -1993. -238с.
- 28.Уголев А.М., Паршков Е.М., Егорова В.В., Иезуитова Н.Н., Митюшова Н.М., Смирнова Л.Ф., Тимофеева Н.М., Цветкова В.А. Распределение адсорбированных и собственно кишечных ферментов между клетками слизистой тонкой кишки и отделенным от нее апикальным гликокалисом. Докл. АН ССР. -1978. Т.241. -С. 491–495.
- 29. Фармакология. Под. ред. Ю. Ф. Крылова и В. М. Бобырева. -М.: ВУНМЦ МЗ РФ, -1999. -346c
- 30.Шапиро Д.К. Практикум по биологической химии. 2-е изд. Минск: Высшая школа. -1976. –288с.
- 31.Acquier A.B. , De Couto Pita A. K., Lucila Busch L., Sánchez G. A. Comparison of salivary levels of mucin and amylase and their relation with clinical parameters obtained from patients with aggressive and chronic periodontal disease. // J. Appl. Oral Sci. -2015. -Vol.23. -№ 3. -P. 288-94.
- 32.Alpers D.H. Digestion and absorption of carbohydrates and proteins. // Physiology of the gastrointestinal tract. -1987. -Vol.2. -P. 1469–1487.
- 33.Cree T., Wadley D., Marlett J. Effect of Preventing Coprophagy in the Rat on Neutral Detergent Fiber Digestibility and Apparent Calcium Absorption. // Journal of Nutrition. -1986. Vol.116. -P. 1204-1208.

- 34.Curtis K.J., Kim Y.S., Perdomo J.M., Silk D.B., Whitehead J.S. Protein digestion and absorption in the rat. // J. Physiol. -1978. -Vol.274. -P 409-419
- 35.Dethlefsen L., McFall-Ngai M., Relman D.A. An ecological and evolutionary perspective on human-microbe mutualism and disease. // Nature. -2007. -Vol.449. -P. 811–818.
- 36.Fuentes M., Tecles F., Gutiérrez A., Otal J, Martínez-Subiela S., Cerón J.J Validation of an automated method for salivary alpha-amylase measurements in pigs (Sus scrofa domesticus) and its application as a stress biomarker. // J. Vet. Diagn. Invest. -2011. -Vol.23. -№2. -P. 282-287. 37.Fox J.G. Biology and disease of the ferret. Baltimor: Williams and Wilkins. -1998. -568c.
- 38.Gardner N. L.G. Intestinal assimilation of intact peptides and proteins from the diet a neglected field? // Biol. Rev. -1984. -Vol.59. -P. 289-331.
- 39.Gill S.R., Pop M., Deboy R.T. et al. Metagenomic analysis of the human distal gut microbiome // Science. -2006. -Vol.312. -P. 1355–1359
- 40.Kararli T. T. Comparison of the gastrointestinal anatomy, physiology, and biochemistry of humans and commonly used laboratory animals. // Biopharmaceutics & drug disposition. 1995. -Vol.16. -P. 351–380.
- 41.Li Y.T., Li J.L., Yang S.H. Comparative Analysis of Mixed Saliva Flow Rate, pH, Buffer Capacity and Biochemistry among Miniature Pigs, Rats and Humans // Chinese Journal of Dental Research. -2007. -Vol.10. -№1. -P. 56–59.
- 42.Madara J.L., Nash S., Moore R. et al. Structure and function of the intestinal epithelial barrier in health and disease. // Monogr Pathol. -1990. Vol.31. -P. 306-324. 43.Gay W.I. Methods of Animal Experementa-
- 43.Gay W.I. Methods of Animal Experementation. // Academie Press. -1968. -Vol. 3. -468c.
- 44.Muratsu K., Morioka T. Levels of salivary lysozyme, lactoperoxidase, and lactoferrin in diabetic hamsters. // Infect. Immun. -1985. Vol.48. -№2. -P. 389-94.
- 45.Panteghini M., Ceriotti F., Pagani F., Secchiero S., Zaninotto M., Franzini C. The Italian Society of Clinical Biochemistry and Clinical Molecular Biology (SIBioC) Working Group on Enzymes. Recommendations for the routine use of pancreatic amylase measurement instead of total amylase for the diagnosis and monitoring of pancreatic pathology. // Clin. Chem. Lab. Med. 2002. -Vol.40. -P. 97-100.
- 46.Panteghini M., Pagani F. Diagnostic value of measureing pancreatic isoamylase with a double-monoclonal antibody immunoassay in serum of hospitalized hyperamylasemic patients. // J. Clin.

- Lab. Analysis. -1990. -Vol.4. -P. 449-452.
- 47.Pappenheimer J. R. On the coupling of membrane digestion with intestinal absorption of sugars and amino acids. // Am. J. Physiol. -1993. Vol. 265. -№3. -P. 409-417.
- 48.Pappenheimer J.M. Role of pre-epithelial «unstirred» layers in absorption of nutrients from the human jejunum. // Membr. Biol. -2001. Vol.179. -№2. -P. 185—204
- Vol.179. -№2. -P. 185—204. 49.Rashkova M.R., Ribagin L.S., Toneva N.G. Correlation between salivary alpha-amylase and stress-related anxiety. // Folia Med. (Plovdiv). -2012. -Vol.54. -№2. -P. 46-51.
- 50.Rohleder N., Wolf J.M., Maldonado E.F., Kirschbaum C. The psychosocial stress-induced increase in salivary alpha-amylase is independent of saliva flow rate. // Psychophysiology. -2006. -Vol.43. -P. 645–652.
- 51. Shulman R.J., Henning S.J. The Miniature Pig as an Animal Model for the Study of Intestinal Enzyme Developmen. // International Pediatric Research Foundation. -1988. -Vol.23. -№3. -P. 311 315.
- 52.Szymeczko R., Skrede A. Protein digestion in mink. // Acta Agric. Scand. -1990. -Vol.40. -P. 189–200.
- 53. Snook J.T. Adaptive and nonadaptive changes in digestive enzyme capacity influencing digestive function. // Federat. Proc. -1974. -Vol.33. -P.88-93.
- 54. Snook J.T., Meyer J.H. Response of digestive enzymes to dietary protein in the rat. // J. Hutr. 1964. -Vol.82. -P.409-414.
- 55.Tenovuo J.O. Human saliva: Clinical chemistry and microbiology. // CRC Press Inc. -1989. -257pp.
- 56.Ugolev A.M., Egorova V.V., Iezuitova N.N., Mitjusova N.M. Die regulatorischen Eigenschaften der Darmenzyme hoeherer und niederer Tiere als Adaptationsmechanismus der Verdanung und der Resorption. // Die Nahrung. -1979. №23. -P. 371 379.
- 57. Van Beers E.H., Bueller H.A., Grand A.W. Einerhand W.C., Dekker J. Intestinal brush border glycohydralases: Structure, function and development. // Critical reviews in Biochemistry and molecular biology. -1995. -Vol.30. -P. 197 262
- 58. Wettendorf P., Dumont A., Dencourt A. Les iso-enzymes de L'amylase. // Acta gastroenterol. -1968. -Vol.31. -P.731 737.
- 59.Yu B., Chiou P. W.-S., Kuo C.-Y. Comparsion of Digestive Function among rabbits, Guinea-Piges, Rat and Hamsters. II Digestive Enzymes and Hindgut Fermentatio. // Asian Australas. J. Anim. Sci. -2000. -Vol.13. -№11. -P. 1508 − 1513