

## Роль оксида азота (II) в регуляции обмена кальция и фосфора в организме

*И.А. Киргизова, аспирантка, А.И. Зайдуллина, аспирантка, Р.Г. Каримова, д.б.н., профессор, ФГБОУ ВО Казанская ГАВМ, ФГБОУ ВО Поволжская ГАФКСиТ*

Современное развитие животноводства характеризуется переходом к индустриальным способам производства продукции [1–4]. Для стран, где прогрессирует интенсивное молочное скотоводство, большим препятствием на пути увеличения продуктивности животных и продления срока их использования являются болезни обмена веществ, которые в основном протекают латентно и от которых хозяйства несут большие потери [5].

Нарушения фосфорно-кальциевого обмена у животных, такие, как остеодистрофия, остеопороз у взрослого поголовья и рахит у молодняка, являются широко распространённой патологией [6]. Эти нарушения отражаются на всех физиологических процессах организма и приводят к развитию вторичных, более опасных для жизни, патологий: расстройству нервной, мышечной, костной, дыхательной, сердечно-сосудистой, пищеварительной, репродуктивной систем; истощению у взрослых животных и гипотрофии у молодняка; снижению устойчивости организма к инфекционным болезням и др. [7].

Костная ткань представляет собой динамическую систему с постоянно протекающими процессами разрушения старой кости и образования новой. Состояние обмена кальция и фосфора в организме определяет оптимальное функционирование костной ткани. Ремоделирование костной ткани осуществляется остеобластами и остеокластами [7]. Оксид азота (II) играет ключевую роль в снижении активности остеокластов и остеокластогенеза, связанного с костной резорбцией. Установлено, что в области перелома кости активность оксида азота увеличивается до максимальных концентраций, а введение ингибитора NO-синтаз сокращает скорость сращения переломов.

Исходя из этого актуальной остаётся проблема раскрытия NO-зависимого механизма регуляции ремоделирования кости, а также изучение влияния доноров оксида азота на обмен кальция и фосфора в организме.

Основной целью исследования явилось изучение состояния фосфорного и кальциевого обмена в организме белых крыс под влиянием доноров NO и ингибитора NO-синтаз.

**Материал и методы исследования.** Работа была выполнена на базе лаборатории кафедры физиологии и патологической физиологии Казанской ГАВМ им. Н.Э. Баумана в 2016 г. Объектом исследования служили крысы линии Wistar обоего

пола, с массой тела 250–295 г. Для проведения экспериментов было сформировано четыре группы, по 12 животных в каждой: I – интактная группа; II гр. состояла из крыс, которым внутривентрикулярно вводили L-аргинин – субстрат для NOS в дозе 200 мг/кг; крысам III гр. внутривентрикулярно вводили ингибитор NO-синтаз L-NAME в дозе 20 мг/кг; особям IV гр. внутривентрикулярно вводили экзогенный донор NO – хлофузан в дозе 2 мг/кг.

Для сбора мочи животных помещали в специальные метаболические клетки. Кровь у крыс брали из хвостовой вены, через 2 час. после введения доноров NO и ингибитора NOS.

Концентрацию кальция в сыворотке крови и моче определяли унифицированным колориметрическим методом с набором реактивов («Ольвекс», Россия). Кальций в щелочной среде образует окрашенный комплекс с о-крезолфталеин комплексом. Интенсивность окраски определяли по оптической плотности при 570 нм на анализаторе биохимическом фотометрическом кинетическом Би-Ан (Россия), которая пропорциональна концентрации кальция в пробе.

Количество фосфора в сыворотке крови и моче также определяли спектрофотометрическим методом на анализаторе Би-Ан с набором реактивов («Ольвекс», Россия). Метод основан на способности фосфат ионов образовывать в кислой среде с молибдатом аммония в присутствии детергента фосфорномолибденовый комплекс, оптическая плотность которого при длине волны 340 нм пропорциональна концентрации неорганического фосфора в исследуемом образце [8].

Статистическую обработку результатов эксперимента проводили с использованием t-критерия Стьюдента.

**Результаты исследования.** Ранее было установлено, что повышение активности системы оксида азота путём введения экзогенного донора оксида азота хлофузана приводит к увеличению суточного диуреза, а снижение, напротив, приводит к уменьшению интенсивности диуреза [9].

Проведённые эксперименты позволили установить, что изменение активности системы оксида азота в организме влияет на содержание кальция в сыворотке крови и процесс экскреции его с мочой (табл. 1). Введение субстрата для NO-синтаз L-аргинина в дозе 200 мг/кг сопровождалось увеличением экскреции кальция с мочой в 10,0 раза ( $P < 0,05$ ) по сравнению с первоначальными данными и составило  $0,01 \pm 0,003$  ммоль/л. Содержание кальция в сыворотке крови белых крыс при этом достоверно не менялось, но имело тенденцию к повышению на 11,6%.

Введение экзогенного NO-донора хлофузана в дозе 2 мг/кг сопровождалось понижением кальция в сыворотке крови на 18,51% (P<0,05) и достоверным уменьшением его экскреции с мочой на 90% (P<0,05). Введение ингибитора оксида азота L-NAME в дозе 20 мг/кг сопровождалось увеличением кальция в сыворотке крови на 34,95% (P<0,05) и в моче на 20% (P<0,05) по сравнению с интактной группой.

Количество неорганического фосфора в сыворотке крови снизилось на 67,5% (P<0,05) после внутрижелудочного введения в организм L-аргинина в дозе 200 мг/кг по сравнению с интактной группой (табл. 2). Снижение неорганического фосфора в сыворотке крови на 57,93% (P<0,05) также регистрировалось в группе крыс, которым вводили ингибитор синтаз оксида азота (II) L-NAME в дозе 20 мг/кг. После введения в организм хлофузана в дозе 2 мг/кг количество неорганического фосфора в крови было меньше на 55,17% (P<0,05), чем в интактной группе.

Содержание неорганического фосфора в сыворотке крови уменьшилось во II–IV гр. по сравнению с I интактной. Экскреция исследуемого вещества с мочой достоверно уменьшалась при нагрузке крыс L-NAME в 1,8 раза (P<0,05) и хлофузаном в 4,5 раза (P<0,05) по сравнению с первоначальными данными (табл. 2). Нагрузка животных L-аргинином привела к достоверному увеличению количества неорганического фосфора в моче в 2,5 раза (P<0,05) по сравнению с интактной группой, что составило 0,23±0,03 ммоль/л. Введение экзогенного донора оксида азота (II) – хлофузана сопровождалось минимальными значениями содержания фосфора как в моче, так и в сыворотке крови по сравнению с введением ингибитора и субстрата для NOS. При сравнении действия экзогенного донора с субстратом для NOS L-аргинином было установлено, что количество фосфора в крови животных было ниже в 1,2 раза (P<0,05), а экскреция его с мочой – в 11,5 раза (P<0,05). Введение ингибитора NOS

L-NAME сопровождалось снижением количества фосфора в крови крыс в 1,16 раза (P<0,05) и в 4,6 раза (P<0,05) в моче по сравнению с животными, которым вводили L-аргинин.

Таким образом, субстрат для NOS – L-аргинин увеличивает экскрецию кальция с мочой, когда содержание его в сыворотке крови достоверно не меняется, а экзогенный донор – хлофузан достоверно понижает содержание кальция в сыворотке крови и экскрецию его с мочой. Предположительно это может быть связано с увеличением активности остеобластов и повышением депонирования кальция в костной ткани. Введение ингибитора NO-синтаз L-NAME сопровождается увеличением кальция в сыворотке крови и моче, следовательно, введение в организм ингибитора оксида азота приводит к затормаживанию ремоделирования костной ткани, что способствует увеличению концентрации кальция в сыворотке крови и моче. Увеличение концентрации нитрат- и нитрит-анионов в крови сопровождается увеличением объёма выделяемой мочи и снижением экскреции фосфора с мочой [10], что в нашем эксперименте отмечалось при введении экзогенного донора оксида азота хлофузана. Количество неорганического фосфора уменьшилось в сыворотке крови животных всех групп при введении доноров и ингибитора оксида азота. Обозначилась тенденция увеличения экскреции исследуемого вещества с мочой при введении L-аргинина в 2,5 раза (P<0,05) по сравнению с интактной группой. Возможно, это связано с изменением транспорта неорганического фосфора в извитых канальцах почек.

**Выводы:** 1. Изменение активности системы оксида азота влияет на содержание кальция и фосфора в сыворотке крови и процесс экскреции его с мочой.

2. Активизация системы оксида азота (II) введением экзогенного донора приводит к накоплению кальция и фосфора в организме, а ингибирование образования исследуемого газомедиатора, напро-

1. Содержание кальция в сыворотке крови и моче белых крыс после введения доноров оксида азота и ингибитора NO-синтаз (X±Sx)

Количество Ca, моль/л	Группа			
	I	II	III	IV
В крови	1,6±0,1	1,81±0,12	2,46±0,1*	1,35±0,07*
В моче	0,001±0,0002	0,01±0,003*	0,005±0,0004*	0,0009±0,0001*

Примечание: \* – достоверность различий между опытной и интактной группой P<0,05

2. Содержание неорганического фосфора в сыворотке крови и моче у белых крыс при нагрузке их донорами оксида азота и ингибитором NO-синтаз L-NAME (X±Sx)

Количество P, ммоль/л	Группа			
	I	II	III	IV
В крови	1,45±0,05	0,98±0,05*	0,84±0,02*	0,80±0,03*
В моче	0,09±0,02	0,23±0,03*	0,05±0,01*	0,02±0,003*

Примечание: \* – достоверность различий между опытной и интактной группой P<0,05

тив, приводит к повышению выведения кальция и фосфора.

### Литература

1. Давлетова А.М., Косилов В.И. Убойные показатели эдильбаевских овец // Овцы, козы, шерстяное дело. 2013. № 3. С. 14–16.
2. Бабичева И.А., Никулин В.Н. Эффективность использования пробиотических препаратов при выращивании и откорме бычков // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. 2014. № 1 (45). С. 167–168.
3. Косилов В.И., Миронова И.В. Потребление питательных веществ и баланс азота у коров чёрно-пёстрой породы при введении в их рацион пробиотического препарата Ветоспорин-актив // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. 2015. № 3 (53). С. 122–124.
4. Белоусов А.М. Совершенствование бестужевского и чёрно-пёстрого скота на Южном Урале / А.М. Белоусов, В.И. Косилов, Р.С. Юсупов, Х.Х. Тагиров. Оренбург, 2004. 330 с.
5. Танкова О.В. Нарушение минерально-витаминного обмена у коров. Барнаул, 2011. С. 20–26.
6. Савинков А.В. Фармакокоррекция нарушений фосфорно-кальциевого обмена у животных в Средневолжском регионе. Краснодар, 2012. С. 110–118.
7. Teitelbaum SL. Bone Resorption by Osteoclasts. Science. 2000; 289:1504-1508.
8. Энциклопедия клинических лабораторных тестов / Под ред. Н.У. Тица. М.: Издательство Лабинформ, 1997. С. 845.
9. Каримова Р.Г., Билалов И.Н. Ионуретическая функция почек при повышении продукции оксида азота // Учёные записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. 2014. № 217. С. 41–46.
10. Каримова Р.Г., Билалов И.Н. Влияние экзогенного донора оксида азота хлофузана на ионуретическую функцию почек // Учёные записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. 2014. № 3. С. 58–62.