

**ИЗМЕНЕНИЕ БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КРОВИ КРЫС
ПРИ ВЫПАИВАНИИ МОЛОКА С ДОБАВЛЕНИЕМ
МУРАВЬИНОЙ КИСЛОТЫ**

L.K. Gerunova, D.S. Teushchakov

**THE CHANGES OF BIOCHEMICAL INDICATORS IN RATS' BLOOD AT FEEDING THEM WITH MILK
WITH THE ADDITION OF FORMIC ACID**

Герунова Л.К. – д-р вет. наук, проф. каф. диагностики, внутренних незаразных болезней, фармакологии, хирургии и акушерства Омского государственного аграрного университета им. П.А. Столыпина, г. Омск. E-mail: gerliud@mail.ru
Теущаков Д.С. – асп. каф. диагностики, внутренних незаразных болезней, фармакологии, хирургии и акушерства Омского государственного аграрного университета им. П.А. Столыпина, г. Омск. E-mail: d.s.weterinar@mail.ru

Gerunova L.K. – Dr. Vet. Sci., Prof., Chair of Diagnostics, Internal Noncontagious Diseases, Pharmacology, Surgery and Obstetrics, Omsk State Agricultural University named after P.A. Stolypin, Omsk. E-mail: gerliud@mail.ru
Teushchakov D.S. – Post-Graduate Student, Chair of Diagnostics, Internal Noncontagious Diseases, Pharmacology, Surgery and Obstetrics, Omsk State Agricultural University named after P.A. Stolypin, Omsk. E-mail: d.s.weterinar@mail.ru

Для профилактики желудочно-кишечных заболеваний молодняка широко используется технология сквашивания молока муравьиной кислотой. Однако сведения о безопасности муравьиной кислоты как консерванта кормов противоречивы. Цель исследования – установить изменения биохимических показателей сыворотки крови у лабораторных крыс при выпаивании в течение 30 дней молока с добавлением муравьиной кислоты. В эксперименте использовали 2 группы белых лабораторных крыс по 12 особей в возрасте 6 месяцев с массой тела 240–260 г. Одна группа крыс получала молоко с добавлением муравьиной кислоты (30 мл 8,5 %-го раствора муравьиной кислоты на 1 л молока). Молоко выпаивали ежедневно по 30–40 мл на голову в течение 30 дней. Контрольные животные получали свежее молоко. Биохимические исследования выполняли на автоматическом биохимическом анализаторе SCREEN MASTER-PLUS фирмы Hospitex diagnostics (Италия). Статистическую обработку данных проводили с помощью программы Statistica 6.0. Для сравнения групп использовали непараметрический критерий Mann – Whitney. Ежедневное выпаивание молока с добавлением муравьиной кислоты вызывает у крыс повышение уровней АлАТ, АсАТ, щелоч-

ной фосфатазы и амилазы, а также содержания креатинина и мочевины в сыворотке крови, что указывает на высокую степень риска повреждения почек, печени и желудочно-кишечного тракта у продуктивных животных при использовании указанной технологии в условиях производства. Клиническое состояние животных в течение месяца остается удовлетворительным, что затрудняет прогностическую оценку нежелательных эффектов муравьиной кислоты, используемой в качестве консерванта.

Ключевые слова: органические кислоты, муравьиная кислота, молоко, крысы.

For gastrointestinal diseases prophylaxis in young growth the technology of milk souring with formic acid is widely used. However, the data on safety of formic acid as a preservative of forages are contradictory. The research objective was to determine changes in biochemical indicators of blood serum in laboratory rats at feeding them with milk with addition of formic acid within 30 days. The experiment was conducted on 2 groups of white laboratory rats with 12 specimens in each at the age of 6 months with the body weight of 240–260 g. One group of rats received milk with addition of formic acid (30 ml of 8.5 % formic acid for one liter

of milk). Milk was daily fed on in the volume of 30–40 ml per a head within 30 days. Control animals received fresh milk. Biochemical parameters have been tested with the automatic biochemical analyzer "SCREEN MASTER-PLUS" by Hospitex diagnostics (Italy). Statistical data have been analyzed by means of the Statistica 6.0 program. Nonparametric criterion Mann – Whitney have been used in group comparing. Daily feeding with milk with addition of formic acid causes in rats increased ALAT and ASAT levels, alkaline phosphatase and amylase, and also creatinin and urea in blood serum that indicated a high risk of lesions in kidneys as well as in liver and digestive tract in productive animals when using the specified technology in production. Clinical state of animals within a month remained satisfactory complicating prognostic assessment of formic acid-related adverse effect when used as a preservative.

Keywords: *organic acids, formic acid, milk, rats.*

Введение. Применение органических кислот для профилактики желудочно-кишечных заболеваний животных эффективно и экономично. Благодаря повышению санитарного качества кормов при добавлении кислот у животных улучшается пищеварение, стабилизируется кишечная микрофлора. Под влиянием органических кислот повышаются переваримость протеина и использование азота корма [8]. При этом только часть органических кислот находит рациональное применение в заготовке и приготовлении кормов. Преимущественно используются короткоцепочечные органические соединения, которые способны быстро усваиваться в пищеварительном тракте, в том числе муравьиная кислота [1].

Практическое применение муравьиной кислоты как консерванта для приготовления сквашенного молока и молозива, используемых для выпойки телят, и апробация этой технологии на малых группах в производстве показывают положительные результаты [11, 12]. Муравьиная кислота обладает антимикробным действием, препятствуя развитию желудочно-кишечных заболеваний у животных [1, 8], в результате чего улучшается конверсия корма.

В середине девяностых годов прошлого века Гунтрам Граф фон Ботмер (институт и опытная станция Инфельд, сельскохозяйственная пала-

та Везер-Эмса) предложил и описал технологию приготовления и выпойки молока с использованием в качестве консерванта 8,5 %-го раствора муравьиной кислоты. Норберт Хайтинг фон Хаус Рисвик (сельскохозяйственная палата Райн-ланда) применял и рекомендовал использование данной технологии [1].

Однако достоверных сведений о безопасности и профилактических свойствах такого молочного корма до сих пор нет. В соответствии с указанной технологией для приготовления молочнокислого продукта необходимо 30 мл 8,5 %-го раствора муравьиной кислоты на 1 л молока.

Моделирование условий выпаивания молока с добавлением 8,5 %-й муравьиной кислоты на лабораторных крысах позволяет проанализировать возможность развития нежелательных эффектов и обосновать целесообразность применения подобной технологии в животноводстве.

Цель исследования: установить изменения биохимических показателей сыворотки крови у лабораторных крыс при выпаивании в течение 30 дней молока с добавлением муравьиной кислоты.

Материалы и методы исследования. Исследование проводили на 24 белых беспородных лабораторных крысах (самцах и самках) по 12 особей в контрольной и опытной группах (возраст 6 месяцев, масса тела 240–260 г), содержащихся на стандартном рационе в условиях вивария. В эксперименте использовали молоко, сквашенное муравьиной кислотой. Для этого применяли 8,5 %-й раствор муравьиной кислоты из расчета 30 мл на 1 л молока, выдерживали при комнатной температуре, многократно перемешивая в течение 6–12 ч. Молоко крысам опытной группы выпаивали ежедневно в объеме 30–40 мл на голову в течение 30 дней. Контрольные животные получали свежее молоко. Забор крови осуществляли по окончании эксперимента путем пункции сердца при общем обезболивании [2]. Все манипуляции осуществляли согласно правилам биоэтики, утвержденным Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для лабораторных целей.

В сыворотке крови определяли активность аспартатаминотрансферазы (АсАТ) и аланинаминотрансферазы (АлАТ), содержание креатинина, мочевины, амилазы и щелочной фосфа-

тазы, а также общего белка и его фракций (альбуминов и глобулинов) на автоматическом биохимическом анализаторе SCREEN MASTER-PLUS фирмы Hospitex diagnostics (Италия).

Статистическую обработку данных выполняли в программе Statistica 6.0. Для сравнения групп использовали непараметрический критерий Манна – Уитни [3], различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Результаты исследований представляли в виде медианы (Me) и верхнего и нижнего квартилей (Q_1 ; Q_3), а также вычисляли значение средней и ошибку средней ($M \pm m$).

Результаты исследования и их обсуждение. При длительном воздействии на организм различных токсических веществ в концентрациях, не вызывающих внешне обнаруживаемого эффекта, могут возникать изменения ряда физиологических функций и биохимических пока-

зателей, внешне никак не заметные. В связи с этим возрастает значение лабораторных исследований. Биохимические показатели сыворотки крови крыс представлены в таблице.

Установлено, что молоко с добавлением раствора муравьиной кислоты, поступая в организм крыс в течение 30 дней, существенно изменяет биохимические показатели сыворотки крови. Гиперферментемия, повышение концентрации креатинина и мочевины свидетельствуют о развитии нежелательных эффектов в организме.

Креатинин является конечным продуктом катаболизма креатина, участвующего в энергетическом обмене. Он свободно фильтруется через клубочки почек. Увеличение его концентрации в сыворотке крови крыс указывает на нарушение фильтрующей и выделительной способности почек.

Биохимические показатели сыворотки крови крыс при выпаивании молока с добавлением 8,5 %-го раствора муравьиной кислоты ($n = 12$)

Показатель	Контроль		Опыт		p
	Me ($Q_1; Q_3$)	$M \pm m$	Me ($Q_1; Q_3$)	$M \pm m$	
Белок, г/л	100,1 (99,35;101,10)	100,12 \pm 0,29	109,75 (108,65;110,65)	109,67 \pm 0,31	0,001
Альбумины, г/л	47,55 (46,6;49,4)	47,78 \pm 0,48	57,5 (56,4;57,99)	57,13 \pm 0,34	0,001
Глобулин, г/л	52,35 (51,7;53,25)	52,24 \pm 0,4	52,75 (51,6;53,65)	52,54 \pm 0,39	0,5
АлАТ, ед/л	131,70 (129,10;135,75)	132,13 \pm 1,11	167,20 (165,30;168,50)	167,08 \pm 0,58	0,001
АсАТ, ед/л	89,40 (87,75;90,4)	89,12 \pm 0,62	215,00 (211,50;216,00)	214,08 \pm 0,73	0,001
Креатинин, моль/л	79,5 (76,8;82,15)	79,42 \pm 0,80	126,55 (124,65;127,75)	126,26 \pm 0,69	0,001
Мочевина, ммоль/л	8,25 (8,05;8,55)	8,30 \pm 0,08	9,45 (9,25;9,6)	9,42 \pm 0,06	0,001
Щел. фосфатаза, ед/л	1221,15 (1220,30;1223,50)	1221,67 \pm 0,67	1360,0 (1356,10;1361,35)	1359,15 \pm 0,99	0,001
Амилаза, ед/л	460,20 (458,15;461,40)	460,27 \pm 1,05	469,00 (468,00;470,50)	469,08 \pm 0,43	0,001

Мочевина синтезируется в печени как побочный продукт в реакции дезаминирования аминокислот. Повышение данного показателя характеризует интенсивность белкового катаболизма и может указывать на нарушение работы почечного фильтра, желудочно-кишечного тракта и печени [5, 6]. Регистрируемые у экспериментальных животных повышенные уровни креатинина и мочевины свидетельствуют, прежде всего, о развитии почечной дисфункции.

При этом следует учитывать отмеченное нами ранее воспаление желудочно-кишечного

тракта с изъязвлением слизистой оболочки толстой кишки у крыс при выпаивании сквашенного по указанной технологии молока [10]. На вовлечение в патологический процесс желудочно-кишечного тракта может указывать и высокая активность щелочной фосфатазы у крыс опытной группы.

Данный фермент катализирует гидролиз органических фосфатных моноэфиров в щелочной среде. Он присутствует практически во всех тканях организма, но в наиболее высоких концентрациях содержится в эпителии кишечника и

почечных канальцев, хотя наиболее часто регистрируют печеночно-клеточный механизм повышения уровня данного фермента в сыворотке крови [9].

Аспартат-аминотрансфераза (АсАТ) и аланин-аминотрансфераза (АлАТ) содержатся в различных органах и тканях, при этом АлАТ в наивысшей концентрации определяется в печени и почках. АсАТ в максимальной концентрации находится в печени и сердечной мышце, но также присутствует в высоких концентрациях в скелетной мускулатуре, почках и поджелудочной железе. Содержание ферментов в сыворотке крови повышается при повреждении этих органов [6, 7], что имеет большое диагностическое значение.

Учитывая повышение коэффициента де Ритиса (АсАТ/АлАТ) в опытной группе, следует признать преобладание внепеченочной локализации поврежденных клеток. Возможно, уязвимой мишенью является поджелудочная железа, так как в эксперименте отмечено статистически значимое, хотя и умеренно выраженное повышение активности сывороточной амилазы у крыс. В основном она вырабатывается в поджелудочной железе, поэтому повышение уровня амилазы в крови может сигнализировать о патологических процессах, развивающихся в этом органе. Возможно, отмечается задержка амилазы в организме вследствие дисфункции почек [7].

Повышение концентрации общего белка в сыворотке крови крыс обусловлено главным образом увеличением содержания альбуминов, что не имеет большого диагностического значения и может быть связано с потерей жидкости организмом вследствие нарушения функционального состояния почек и желудочно-кишечного тракта.

Заключение. Ежедневное выпаивание молока с добавлением 8,5 %-й муравьиной кислоты вызывает у крыс повышение уровней АлАТ, АсАТ, щелочной фосфатазы и амилазы, а также содержания креатинина и мочевины в сыворотке крови, что указывает на высокую степень риска повреждения почек, печени и желудочно-кишечного тракта у продуктивных животных при использовании указанной технологии сквашивания молока в условиях производства.

Клиническое состояние животных в течение месяца остается удовлетворительным, что за-

трудняет прогностическую оценку нежелательных эффектов муравьиной кислоты, используемой в качестве консерванта.

Литература

1. Миллер А.М. Выпойка телят сквашенным молоком [Электрон. ресурс]. – URL: <http://soft-agro.com/telyata-2/vypoika-telyat-skvashennym-molokom.html>.
2. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте: учеб. пособие / И.П. Западнюк [и др.]. – 3-е изд., перераб. и доп. – Киев: Виц. шк., 1983. – 383 с.
3. Новиков Д.А., Новочадов В.В. Статистические методы в медико-биологическом эксперименте (типовые случаи). – Волгоград: Изд-во ВолГМУ, 2005. – 84 с.
4. Клиническая биохимия / под ред. В.А. Ткачука. – 2-е изд., испр. и доп. – М.: Гэотар-Мед, 2004. – 512 с.
5. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике. – М.: МЕДПрессинформ, 2004. – 920 с.
6. Конвай В.Д., Зайнчковский В.И., Золин П.П. Патохимия и клиническая биохимия: учеб. пособие. – Омск: Изд-во ОмГАУ, 2009. – 153 с.
7. Физиологические, биохимические и биометрические показатели нормы экспериментальных животных: справочник / под ред. В.Г. Макарова, М.Н. Макаровой. – СПб.: ЛЕМА, 2013. – 116 с.
8. Практикум по кормлению животных: учеб. пособие для вузов / Л.В. Торопов [и др.]. – М.: КолосС, 2005. – 290 с.
9. Кишкун А.А. Руководство по лабораторным методам диагностики. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 228 с.
10. Теуцаков Д.С., Воронцова А.А., Эккерт В.Ю. Патолого-анатомические изменения в желудочно-кишечном тракте у крыс при длительном скормливании молока с добавлением муравьиной кислоты // Молодые ученые в решении актуальных проблем науки: мат-лы междунар. науч.-практ. конф. молодых ученых и специалистов (16–17 декабря

- 2015 г.). – Троицк: Изд-во ЮУрГАУ, 2015. – С. 217–219.
11. Практический опыт использования ПЦР-диагностики для оздоровления стада от лейкоза КРС / Л.И. Якушева [и др.] // Сб. науч. тр. ГНУ СНИИЖК. – 2012. – № 1-1. – С. 194–196.
 12. Рациональная система выращивания телят молочных пород скота / В.Т. Головань [и др.] // Научный журнал КубГАУ. – 2007. – № 31. – С. 147–161.
 6. Konvaj V.D., Zajchkovskij V.I., Zolin P.P. Patohimija i kliničeskaja biohimija: ucheb. posobie. – Omsk: Izd-vo OmGAU, 2009. – 153 s.
 7. Fiziologičeskie, biohimičeskie i biometričeskie pokazateli normy jeksperimental'nyh životnyh: spravocnik / pod red. V.G. Makarova, M.N. Makarovoj. – SPb.: LEMA, 2013. – 116 s.
 8. Praktikum po kormleniju životnyh: ucheb. posobie dlja vuzov / L.V. Toropov [i dr.]. – M.: KolosS, 2005. – 290 s.
 9. Kishkun A.A. Rukovodstvo po laboratornym metodam diagnostiki. – M.: GJeOTAR-Media, 2009. – 228 s.
 10. Teushhakov D.S., Voroncova A.A., Jekker V.Ju. Patologoanatomičeskie izmenenija v želudochno-kishechnom trakte u krysv pri dlitel'nom skarmlivanii moloka s dobavleniem murav'inoj kisloty // Molodye učenye v rešenii aktual'nyh problem nauki: mat-ly mezhdunar. nauch.-prakt. konf. molodyh učenyyh i specialistov (16–17 dekabrja 2015 g.). – Troick: Izd-vo JuUrGAU, 2015. – S. 217–219.
 11. Praktičeskij opyt ispol'zovanija PCR-diagnostiki dlja ozdorovlenija stada ot lejkoza KRS / L.I. Jakusheva [i dr.] // Sb. nauch. tr. GNU SNIIZhK. – 2012. – № 1-1. – S. 194–196.
 12. Racional'naja sistema vyrashhivaniya teljat molochnyh porod skota / V.T. Golovan' [i dr.] // Nauchnyj zhurnal KubGAU. – 2007. – № 31. – S. 147–161.

Literatura

1. Miller A.M. Vypojka teljat skvashennym molokom [Elektron. resurs]. – URL: <http://soft-agro.com/telyata-2/vypojka-telyat-skvashennym-molokom.html>.
2. Laboratornye životnye. Razvedenie, soderžanie, ispol'zovanie v jeksperimente: ucheb. posobie / I.P. Zapadnjuk [i dr.]. – 3-e izd., pererab. i dop. – Kiev: Vishh. shk., 1983. – 383 s.
3. Novikov D.A., Novochadov V.V. Statističeskie metody v mediko-biologičeskom jeksperimente (tipovye slučai). – Volgograd: Izd-vo VolGMU, 2005. – 84 s.
4. Kliničeskaja biohimija / pod red. V.A. Tkachuka. – 2-e izd., ispr. i dop. – M.: Gjeotar-Med, 2004. – 512 s.
5. Kamyšnikov V.S. Spravočnik po kliniko-biohimičeskim issledovanijam i laboratornoj diagnostike. – M.: MEDPress-inform, 2004. – 920 s.

