

Литература.

1. Белоконов, М. Н. Влияние различных факторов на свойства шерстного покрова у собак / М. Н. Белоконов // Пермский период : сборник материалов X Международного научно-спортивного фестиваля курсантов и студентов образовательных организаций, Пермь, 15–20 мая 2023 года. Том 1. – Пермь : Пермский институт Федеральной службы исполнения наказаний, 2023. – С. 65-67.
2. Диагностические мероприятия при патологии кожи у собак / Д. А. Негодных, Н. А. Татарникова, О. В. Новикова, К. А. Сидорова // Аграрная наука в АПК: от идей к внедрению : сборник трудов Международной научно-практической конференции, Тюмень, 08–09 ноября 2023 года. – Тюмень : Государственный аграрный университет Северного Зауралья, 2023. – С. 104-108.
3. Рыбничек, Я. Кожные соскобы, трихоскопия, цитология и гистология кожи. Как достичь успеха в диагностике? / Я. Рыбничек // VetPharma. - № 2 – 2013. [Электронный ресурс]. – Режим доступа : https://vetpharma.org/articles/66/2356/?sphrase_id=137014. – Дата доступа : 11.03.2025.
4. Трояновская, Л. П. Диагностическая ценность цитологических методов исследования новообразований у собак / Л. П. Трояновская, В. А. Зубцова, В. В. Алтухова // Ветеринарно-санитарные аспекты качества и безопасности сельскохозяйственной продукции : материалы VII Международной научно-практической конференции, Воронеж, 17 ноября 2023 года. – Воронеж : Воронежский государственный аграрный университет им. Императора Петра I, 2023. – С. 151-155.
5. Welle, M. M. Canine noninflammatory alopecia: An approach to its classification and a diagnostic aid / M. M. Welle // Vet. Pathol. – 2023. - № 60 (6). – P. 748-769. doi: 10.1177/03009858231170295.

Поступила в редакцию 17.03.2025.

УДК 619:616-076:636.028

БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ СЫВОРОТКИ КРОВИ КРЫС ПОД ДЕЙСТВИЕМ АФЛАТОКСИНА В₁

Панковец Е.М., Лях А.Л., Соболев Д.Т.

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

*Длительное применение стандарта афлатоксина В₁ в дозах, не превышающих предельно допустимые уровни в зерносмеси, вызывает повышение активности сывороточных ферментов печени. Данные изменения подтверждают наличие гепатотоксического эффекта афлатоксина В₁ в более низких чем ПДУ дозах. **Ключевые слова:** афлатоксин В₁, крысы, микотоксины, биохимические показатели сыворотки крови.*

BIOCHEMICAL PARAMETERS OF RAT BLOOD SERUM UNDER THE ACTION OF AFLATOXIN B₁

Pankavets E.M., Lyah A.L., Sobolev D.T.

Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine, Vitebsk, Republic of Belarus

*Long-term use of the aflatoxin B₁ standard, in doses not exceeding the maximum permissible levels in the grain mixture, causes an increase of the activity of serum liver enzymes. Changes of this biochemical parameters confirm the presence of a hepatotoxic effect of aflatoxin B₁ at doses lower than the maximum permissible level. **Keywords:** aflatoxin B₁, rats, mycotoxins, biochemical parameters of serum blood.*

Введение. Микотоксины являются природными контаминантами растительного сырья. Они продуцируются различными видами грибов, таких как *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* и др. [8]. В отличие от плесневых грибов, сами по себе микотоксины не имеют ни вкуса, ни запаха. Следовательно, распространяясь в кормах на разных этапах заготовки, они беспрепятственно проникают в организм животных, вызывая метаболические, морфологические и иммунологические изменения. Возможности современной ветеринарии позволяют детектировать данные патологические изменения в организме животных и осуществлять дифференциальную диагностику единичных и сочетанных микотоксикозов [5, 7].

В литературных источниках приводятся данные, которые описывают патологические процессы, возникающие при воздействии микотоксинов. Например, афлатоксин В₁, влияние которого изучалось в рамках нижеописанного исследования, является одним из сильнейших гепатотоксинов (поражает печень, вызывая жировую дистрофию, обладает канцерогенными свойствами) [4]. Это, безусловно, будет сказываться на биохимических показателях крови, отражающих функцию печени [1, 6].

В ряде отечественных и зарубежных публикаций описаны изменения таких биохимических показателей, как аланинаминотрансфераза, аспартатаминотрансфераза, щелочная фосфатаза, сывороточные белки, под действием афлатоксина В₁ в превышающих минимально допустимый уровень (МДУ) дозах. Следует отметить, что МДУ микотоксинов в разных странах значительно отличается. По данным «Food and Agriculture Organization» (FAO), предельно допустимые уровни афлатоксина В₁ в кормах для сельскохозяйственных животных находятся в диапазоне от 5 до 50 мкг/кг. В Республике Беларусь, согласно постановлению Министерства сельского хозяйства и продоволь-

ствия Республики Беларусь №10 от 10.02.2011 г., предельно допустимое содержание афлатоксина В₁ в зерне и комбикормах не должно превышать отметки в 20 мкг/кг [3].

Следует отметить, что афлатоксин В₁ относится к веществам, которые обладают канцерогенными свойствами для человека. Согласно ГН 10-66 РБ 98 «Перечень веществ, продуктов, производственных процессов, бытовых и природных факторов, канцерогенных для человека», предельно допустимый уровень афлатоксина В₁ в продуктах питания, предназначенных для человека, не должен превышать 5 мкг/кг. Целью данного исследования явилось определить динамику активности гепатозависимых ферментов в сыворотке крови лабораторных крыс на фоне использования разных концентраций афлатоксина В₁ в пределах МДУ.

Материалы и методы исследований. Исследования были выполнены в УО ВГАВМ на базе следующих кафедр: анатомии животных; внутренних незаразных болезней; химии имени профессора Ф. Я. Беренштейна. Эксперимент проводили на 20 белых крысах, разделенных по принципу аналогов на 4 группы по 5 животных в каждой. Работа с лабораторными животными проводилась в рамках Директивы 2010/63/EU Европейского парламента и совета Европейского союза от 22.09.2010 г. по охране животных, используемых в научных целях.

При постановке опыта крысы контрольной группы получали только зерносмесь без добавления микотоксина, группы № 1, 2 и 3 были опытные. Для оценки влияния афлатоксина В₁ (АФТ В₁) крысам двух опытных групп (гр. № 1 и гр. № 2) перорально ежедневно задавался стандарт афлатоксина В₁ в дозах 0,016 мл (1-я группа) и 0,008 мл (2-я группа) на голову в сутки, что соответствовало содержанию афлатоксина в зерносмеси 20 мкг/кг и 10 мкг/кг (МДУ афлатоксина В₁ для зерна, установленный в Республике Беларусь, составляет до 20 мкг/кг). Крысам 3-й опытной группы ежедневно перорально вводился ацетонитрил в дозе 0,016 мл/крысу без афлатоксина В₁, для исключения токсического влияния ацетонитрила, который использовался растворителем стандарта афлатоксина В₁ (АФТ В₁) в опытных группах 1 и 2 (таблица 1).

Таблица 1 – Дизайн эксперимента

Группа 1	Контроль	Группа 2	Группа 3
0,016 мл АФТ В ₁ /крысу/сутки	зерносмесь без АФТ В ₁	0,008 мл АФТ В ₁ /крысу/сутки	ацетонитрил 0,016 мл/крысу/сутки

Для кормления крыс, участвовавших в опыте, использовали зерносмесь (ячмень, пшеница, овес), заведомо не содержащую в себе афлатоксины. Тестирование зерносмеси проводилось с использованием набора ИФА-афлатоксин В₁, разработанного институтом биоорганической химии НАН Беларуси (рисунок 1).



Рисунок 1 – Набор ИФА-афлатоксин В₁

Используемые концентрации микотоксина рассчитывались исходя из того, что одна крыса каждой группы в сутки съедала 20 г корма. В условиях опыта использовали аналитический стандарт афлатоксина В₁ – 25,2 мкг/мл, производитель - Trilogy Analytical Laboratory (рисунок 2).

Спустя 2 и 8 недель (на 14-й и 56-й дни исследований) проводился отбор крови и получения ее сыворотки для биохимического исследования. Для оценки влияния афлатоксина В₁ в сыворотке крови измеряли такие показатели, как активность аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспартатаминотрансферазы (АСТ), щелочной фосфатазы (ЩФ), креатинфосфокиназы (КФК), γ-глутамилтрансферазы (ГГТФ) кинетическим методом Sample Start. В процессе исследований руководствовались методическими указаниями по биохимическому исследованию крови животных с использованием диагностических наборов реактивов [2].

Рисунок 2 – Стандарт афлатоксина В₁

Обработку цифрового материала проводили методами вариационной статистики с помощью программного средства Microsoft Excel, рассчитывали среднюю арифметическую и стандартную ошибку средней арифметической ($\bar{X} \pm m$), уровни значимости (p) критерия достоверности (td), которые выражали – $*p \leq 0,05$; $**p \leq 0,01$; $***p \leq 0,001$.

Результаты исследований. В процессе исследования у крыс всех групп не наблюдалось изменений клинического состояния. Физикальные данные свидетельствуют об отсутствии угнетения, потери массы тела, желудочно-кишечных расстройств, а также других клинических проявлений острого афлатоксикоза. Однако, несмотря на удовлетворительное клиническое состояние животных опытных групп, были выявлены значительные изменения биохимического профиля в сравнении с крысами контрольной группы. Полученные цифровые значения изучаемых биохимических показателей отражены в таблице 2.

Таблица 2 – Активность ферментов сыворотки крови крыс опытных и контрольной групп ($n=20$).

Группы крыс	АЛТ, МЕ/л	АСТ, МЕ/л	ГГТФ, МЕ/л	ЩФ, МЕ/л	КФК, МЕ/л
На 56-й день исследований					
Контроль	61,11±5,66	17,23±0,15	17,37±3,86	27,58±0,01	41,15±0,01
20 мгк/кг (1 опытная)	218,25±5,82***	157,14±23,28***	212,01±3,47***	165,41±0,01***	123,50±0,33***
10 мгк/кг (2 опытная)	165,87±5,78***	69,94±11,71**	52,14±11,56*	43,98±9,20	82,33±0,22***
ацетонитрил	78,57±5,48	26,19±5,71	23,16±7,72	41,36±9,19	61,95±13,76
На 14-й день исследований					
Контроль	10,47±2,91	8,39±3,5	9,41±3,10	54,14±8,80	8,26±2,75
20 мгк/кг	61,69±25,02	72,89±6,98***	101,90±27,79***	163,80±13,77***	56,79±11,01**
10 мгк/кг	29,11±0,59***	15,96±2,43	52,88±12,74*	179,73±0,52***	28,63±2,75**
ацетонитрил	17,89±5,25	11,37±1,75	15,13±4,25	98,84±10,75*	19,34±5,13

Примечания: * - $p < 0,05$; *** - $p < 0,001$, при сравнении с контрольной группой.

Как видно из таблицы 2, на протяжении эксперимента биохимические показатели крови контрольной группы, а также группы крыс, которые получали ацетонитрил, оставались в пределах нормальных физиологических значений и не имели тенденций к повышению концентраций в долгосрочной перспективе. На 14-й день исследований крысы 1-й опытной группы, ежедневно перорально получавшие стандарт афлатоксина В₁ в дозе 20 мгк/кг, по сравнению с контрольной группой демонстрировали высокодостоверное повышение активности АЛТ в 5,9 раза, АСТ – в 8,7 раза, ГГТФ – в 10,8 раза, ЩФ – в 3 раза и КФК – в 6,9 раза. На 56-й день исследований тенденция продолжилась, т.к. активность АЛТ была выше контрольных показателей в 3,6 раза, АСТ – в 9,1 раза, ГГТФ – в 12,2 раза, ЩФ – в 6 раз и КФК – в 3 раза.

У крыс 2-й опытной группы, ежедневно перорально получавших стандарт афлатоксина В₁ в дозе 10 мгк/кг, в указанные сроки также наблюдали статистически значимые отклонения в биохимии сыворотки крови по сравнению с контролем (повышение активности АЛТ в 2,7 раза, АСТ – в 1,9 и 4,1 раза, ГГТФ – в 5,6 и 4,1 раза, ЩФ – 3,3 и 1,6 раза, КФК – в 3,5 и 2 раза).

Данные изменения характеризуют ряд процессов в организме животных под действием афлатоксина В₁:

- повышенная активность таких ферментов, как АСТ и АЛТ, свидетельствует о гепатоцеллюлярном повреждении. Локализуясь в цитоплазме клеток печени, они активно попадают в кровь в момент повреждения стенки самих гепатоцитов или мембраны митохондрий гепатоцитов;

- ЩФ и ГГТФ являются ферментами, повышение активности которых указывает на процессы холестаза в печени. Различием в интерпретации данных показателей является то, что ГГТФ находится на эпителиальных клетках желчных протоков, а также на самой наружной мембране гепатоцитов, но в более низкой концентрации. В свою очередь активность ЩФ связана с повреждением самих гепатоцитов. Именно поэтому происходит увеличение сывороточной активности данного фермента при заболеваниях печени, приводящих к застою желчи. Активность ГГТФ в первую очередь связана с повреждением эпителиальных клеток желчных протоков. Совместное увеличение активности ЩФ и ГГТФ может указывать на поражение всей гепатобилиарной системы в целом;

- длительное удерживание повышенной активности креатинфосфокиназы в сыворотке крови обычно наблюдается при выраженном нарушении кровообращения в мышечной ткани, особенно в миокарде.

Полученные результаты позволяют установить факт субклинического повреждения паренхимы печени, что в последующем может привести к развитию холестаза на фоне увеличения гепатоцитов, а также повреждению эпителия желчевыводящих протоков. Однако, различить обратимое повреждение от необратимого на основании только этих показателей не представляется возможным.

Важным наблюдением является то, что увеличение активности исследуемых ферментов отмечается не только при повышении дозы афлатоксина, но и при увеличении времени поступления микотоксина в организм. Особое внимание следует обратить на опытную группу № 2 с более низкой концентрацией вводимого с пищей афлатоксина В₁ (10 мг/кг). Существует заметная тенденция к росту показателей, отражающих функцию печени, с увеличением времени поступления афлатоксина В₁ в организм, несмотря на то, что доза афлатоксина в 2 раза ниже, чем допускается по МДУ. Так, при увеличении времени эксперимента с 2 до 8 недель активность исследуемых АЛТ и АСТ возрастала в среднем в 5,7 и 4,4 раза. В опытной группе № 1 с течением времени активность исследуемых ферментов возрастала не так заметно: у АЛТ, АСТ и ГГТ – в 3,5, 2,2 и 2,1 раза, соответственно.

Заключение. Полученные данные позволяют сделать вывод о том, что афлатоксин В₁ вызывает изменения биохимического профиля сыворотки крови в концентрациях, равных 20 мг/кг (верхняя граница ПДУ) и сниженных в 2 раза (10 мг/кг). Важно отметить, что наблюдается четкая зависимость, при которой увеличение времени супплементации микотоксином даже в сниженной дозе вызывало пропорциональное увеличение активности сывороточных ферментов в рамках эксперимента. При этом физикальные исследования, которые проводились в процессе работы, не выявили значимых отклонений в клиническом состоянии опытных животных по сравнению с контролем в течение 2 месяцев. При гипотетическом переносе модели лабораторных животных на сельскохозяйственных необходимо учитывать тот факт, что сельскохозяйственные животные могут потреблять комбикорма с допустимым содержанием микотоксинов на протяжении гораздо более длительных временных интервалов, чем опытный период в 8 недель.

Литература.

1. Изменения отдельных биохимических параметров и гистологии печени белых крыс на фоне применения профилактической смеси в условиях экспериментального смешанного микотоксикоза / Е. Ю. Тарасова, С. А. Танасева, Л. Е. Матросова, Е. Г. Губеева // Международный вестник ветеринарии. – 2022. – № 3. – С. 144–150.
2. Методические указания по биохимическому исследованию крови животных с использованием диагностических наборов / И. Н. Дубина, А. П. Курдеко, И. В. Фомченко, И. И. Смильгин. – Витебск : УО ВГАВМ, 2007. – 60 с.
3. Микология с микотоксинологией. Лабораторная диагностика микотоксикозов : учебно-методическое пособие для студентов по специальности «Ветеринарная медицина» / А. Г. Кошнеров, И. А. Красочко, Е. А. Кирпанева [и др.]. – Витебск : ВГАВМ, 2023. – 88 с.
4. Прудников, В. С. Микотоксикозы животных (патоморфология, диагностика и профилактика) / В. С. Прудников, А. В. Прудников // Ученые записки учреждения образования «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины». – 2011. – Т. 47, вып. 1. – С. 111–114.
5. Микотоксины и микотоксикозы животных – актуальная проблема сельского хозяйства / Р. С. Овчинников, А. В. Капустин, А. И. Лаишевцев, В. А. Савинов // Российский журнал. Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии. – 2018. – Т. 1, № 25. – С. 114–123.
6. Соболев, Д. Т. Ферментный спектр поджелудочной железы, печени и сыворотки крови ремонтного молодняка кур, вакцинированного против болезни Ньюкасла / Д. Т. Соболев // Ученые записки учреждения образования «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины». – 2010. – Т. 46, вып. 1, ч. 2. – С. 215–219.
7. Tangni, E. K. Mycotoxin contaminating maize and grass silages for dairy cattle feeding, current state and challenges / E. K. Tangni, L. Pussemier, F. Van Hove // J. Anim. Sci. Adv. – 2013. – Vol. 3, № 10. – P. 492–511.
8. Zaki, M. Mycotoxins in animals: occurrence, effects, prevention and management / M. Zaki // J. Toxicol. Environ. Health Sci. – 2012. – Vol. 4. – P. 13–28.

Поступила в редакцию 03.03.2025.