

УДК 636:619:615:614.35

ФАРМАКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЕ И АНТИСТРЕССОВЫЕ СВОЙСТВА ПРЕПАРАТА «АСКОРБИНОВАЯ КИСЛОТА С ГЛЮКОЗОЙ»

В.Н. Белявский, В.П. Гудзь, С.С. Ушаков, Н.М. Стасевич

УО «Гродненский государственный аграрный университет»

г. Гродно, Республика Беларусь, 230008

***Аннотация.** Изучены фармако-токсикологические и антистрессовые свойства препарата «Аскорбиновая кислота с глюкозой». Установлено, что препарат не обладает токсическими свойствами и является безвредным для мышей в дозе, превышающей профилактическую в десять раз. Производственные испытания показали, что препарат в комбинации с ксилазином проявляет антистрессовое действие. Он оказал нормализующее действие на клинико-биохимический статус организма, стимулировал поедаемость корма и среднесуточный прирост живой массы у телят при декорнуации.*

***Summary.** The pharmacological, toxicological and anti stress properties of "Ascorbic acid from glucose" were studied. It was found that the drug has no toxic properties and is harmless to mice in a dose exceeding preventive tenfold. Production tests showed that the drug in combination with «Xyla» has expressed antstress effect. It had a normalizing effect on the clinical and biochemical status of the body, stimulated the use of feed and average daily growth of live calves from the masses.*

Введение. Современная технология содержания животных сопровождается воздействием большого числа стресс-факторов на организм животных. Среди них можно выделить перегруппировку животных, транспортировку, обезроживание, ветеринарные обработки и т.д. Стрессу подвержены все животные, но в большей степени свиньи и молодняк, особенно это выражено у поросят и телят [1]. Стрессовое состояние характеризуется проявлением гуморальных и неврогенных изменений в организме, ведущих к нарушению обмена веществ [2]. В результате угнетается иммунная реактивность и неспецифическая резистентность, значительно повышая предрасположенность к инфекционным заболеваниям [3]. При стрессовых нагрузках увеличивается расход энергии, ускоряются обменные процессы, возникает риск снижения качества мясной продукции и летального исхода [4]. Впервые влияние стресса на качество мяса было описано в 1964 году американскими учеными, которые выделили два синдрома PSE и DFD. Эти синдромы были названы начальными буквами слов бледное, мягкое, водя-

нистое и темное, плотное, сухое. PSE – синдром объясняется изменением рН мяса в кислую сторону, в результате активного гликогенолиза и повышения количества молочной кислоты в мышцах животных, подвергнутых стрессовому воздействию. Повышенная кислотность вызывает денатурацию белков, уменьшая онкотическое давление и, как следствие, влагоудерживающую способность мяса. Красная окраска мяса сменяется на палевую. При синдроме DFD отмечается ограниченный распад гликогена, незначительное образование молочной кислоты, сопровождающихся изменением рН в основную сторону. Мясо становится темным, плотным и сухим, в нем быстро развивается микрофлора, ведущая к порче продукции. Мясо, полученное от животных с такой синдроматикой, становится непригодным для изготовления колбас, консерв и другой продукции [5,6].

Таким образом, совершенствование способов профилактики отрицательных последствий стресса является актуальной задачей ветеринарной науки и практики. Для предупреждения отрицательных последствий стресса в настоящее время используются в основном седативные и нейролептические средства. Многие транквилизаторы, наряду с транквилизирующим эффектом, оказывают миорелаксантное и противосудорожное действие [7], однако использование этих средств было запрещено Европейским Экономическим Сообществом, для улучшения безопасности продовольствия [4]. Ввиду перспективного вступления РБ в ВТО эти требования также будут предъявляться к нашей мясной продукции. Поэтому возникает необходимость в изыскании новых эффективных антистрессовых средств, не влияющих или улучшающих качество мясной продукции. Поскольку пусковым патофизиологическим механизмом стрессов является активизация процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ), сопряженных с большими затратами энергии, то для профилактики стресса становится возможным применение антиоксидантов и антиоксидантных комплексов, а именно витаминов А, Е, С, которые известны своими антиокислительными свойствами [8], и энергитических субстратов, главным образом глюкозы. Глюкоза усиливает работу сердца, снижает сосудистые спазмы, стимулирует деятельность эндокринных желез, проявляет антитоксические свойства. Введение глюкозы телятам перед действием стресс-факторов нормализует обмен веществ и способствует смягчению течения стресса. При этом имеются данные, что витамин С ускоряет антистрессовое действие глюкозы [9, 10].

Целью наших исследований явилось изучение безвредности и эффективности применения препарата «Аскорбиновая кислота с глюкозой» производства РУП «Гродненский завод медпрепаратов» для

профилактики глубоких стрессовых реакций у телят при обезроживании. Препарат представляет собой порошок со слегка желтоватым оттенком, содержащий глюкозу и аскорбиновую кислоту. Массовая доля составляющих, мг в 1 г: кислота аскорбиновая – 90-110, глюкоза – 833-921.

Содержание токсичных элементов не превышает действующие «Показатели безопасности кормов», утвержденные Постановлением № 59 от 22.08.2007 г.

Материал и методика исследований. Для изучения безвредности препарат в условиях кафедры «Фармакологии и физиологии» УО «Гродненский государственный аграрный университет» было сформировано две группы из трехмесячных мышей: опытная и контрольная, по 10 голов в каждой. Группы были подобраны по принципу параналогов и состояли из самцов и самок, содержащихся отдельно. В течение двух недель мыши адаптировались к новым условиям существования, максимально приближенным к условиям вивария. По истечению адаптационного периода опытная группа в течение 21 дня в дополнение к основному рациону получала препарат в дозе десятикратно превышающей рекомендуемую профилактическую из расчета 10 грамм на килограмм корма. Контрольная группа получала основной рацион. Животные находились под ежедневным клиническим наблюдением. До начала опыта и после его завершения проводилось контрольное взвешивание мышей. По завершению опыта мышей убивали методом декапитации и брали органы и кровь для патологоанатомических, токсикологических, гематологических и биохимических исследований. О безвредности испытуемого препарата судили по общему клиническому состоянию животных, изменению живой массы, сохранности, заболеваемости, изменениям со стороны поведенческих реакций, морфологическому состоянию внутренних органов и их массе (сердце, печень, селезенка, почки), биохимическому и лейкоцитарному изменению крови (окрашенных мазков по Паппенгейму).

Исследования по изучению адаптогенных свойств препарата при обезроживании телят проводили в СПК «Коптевка» Гродненского района Гродненской области.

В хозяйстве было подобрано три группы телят в возрасте 2-2,5 месяца. Первая – интактная (n=20), вторая – контрольная (n=22) и третья – опытная (n=24). Телят интактной группы не обезроживали. Животным опытной группы в течение 5 дней выпаивался препарат «Аскорбиновая кислота с глюкозой» из расчета на 1 теленка 10 г в литре воды. Через два дня проводилось обезроживание телят контрольной и опытной групп. Телятам обеих групп за 7 минут до обезроживания в

качестве стресс-протектора вводился препарат «Хула» в дозе 0,1 мл на животное. Сразу после обезроживания у животных всех групп измеряли температуру, а через 1,5 часа была взята кровь. Телятам опытной группы выпаивали «Аскорбиновую кислоту с глюкозой» еще в течение трех дней после обезроживания.

Кровь подвергали биохимическому и гематологическому исследованию. Также определяли продукты перекисного окисления липидов (МДА) и показатель неферментативного звена антиоксидантной системы (восстановленный глутатион). Дифференциальный подсчет лейкоцитов проводили путем визуальной микроскопической оценки сухих фиксированных мазков, окрашенных по Паппенгейму.

Результаты исследований и их обсуждение. При ежедневном клиническом наблюдении за мышами опытной группы, признаков токсемии, продромального периода болезни, патогноматических симптомов и неадекватного поведения выявлено не было. Животные сохраняли обычную двигательную активность, падежа не зафиксировано. Изменений со стороны потребления воды не было, волосяной покров равномерно и плотно прилегал к коже, хорошо удерживался в кожном покрове. Кожный покров без видимых повреждений, наложений и сыпи. Слизистые оболочки влажные, бледно-розовые, целостные, без эрозий. Изменений со стороны функционального состояния сердечно-сосудистой (сердечный толчок выражен, ритм сокращений не нарушен, цианозов и вечерних отеков зарегистрировано не было), нервной (положение тела в пространстве – естественное, признаков неадекватного поведения выявлено не было, тактильная, болевая чувствительность не нарушена), эндокринной, выделительной и пищеварительной систем не наблюдалось (отсутствие синдрома поражения). Начиная со 2-3 дня опыта, зафиксировано улучшение и увеличение поедаемости корма в опытной группе. Это проявлялось полным съеданием предлагаемого рациона в течение суток.

При патологоанатомическом исследовании мышей печень имела упругую консистенцию, края притуплены, цвет бордово-коричневый, напряжение капсулы отсутствовало, при разрезе паренхимы имела дольчатое строение. Патологических образований обнаружено не было. Почки без видимых нарушений, капсула без напряжения, гладкая, на разрезе ярко выражены гломерулярная и пирамидальная зоны. Селезенка во всех исследованных случаях без изменений, белая и красная пульпа хорошо развиты, синусы полнокровны. Легкие, сердце, надпочечники, лимфатические узлы, семенники, кишечник имели обычное морфологическое строение.

При вычислении коэффициентов отношения массы органа к массе тела мышей существенных различий между опытной и контрольной группами не установлено (Табл. 1).

Таблица 1 – Коэффициенты отношения массы органов к массе тела

Группа животных	Масса (г.)								
	Ср. жив.м.	Печень		Почки		Селезенка		Сердце	
	Абс.	Абс.	Отн.жив. м. (%)	Абс.	Отн. жив. м. (%)	Абс.	Отн. жив. м. (%)	Абс.	Отн. жив. м. (%)
Контроль	28,00± 0,99	1,435 ±0,11	5,13	0,536 ±0,02	1,91	0,116 ±0,018	0,41	0,163 ±0,009	0,58
Опытная	28,12± 0,91	1,500 ±0,14	5,33	0,518 ±0,01	1,84	0,127 ±0,008	0,45	0,186 ±0,008	0,66

Процентное отношение лейкоцитов крови опытной группы было в пределах физиологической нормы и существенно не отличалось (Табл. 2).

Таблица 2 – Лейкограмма мышей в конце опыта

	Моноциты	Эозинофилы	Базофилы	Нейтрофилы			Лимфоциты	Миелоциты
				Ю	П	С		
Контроль	2,6 ±0,3	0,8 ±0,4	0,4 ±0,3	0	2,2 ±0,4	23,6 ±1,2	70,4 ±1,2	0
Опыт	2,6 ±0,4	1,6 ±0,4	0,6 ±0,3	0	3,4 ±0,4	22,0 ±0,7	69,8 ±1,0	0

Данные показатели указывают на отсутствие токсического воздействия применяемого препарата, десятикратно превышающей рекомендуемую дозу, на лейкоцитарную формулу и систему кроветворения.

Анализ показателей биохимического исследования крови мышей (Табл. 3) указывает на увеличение по отношению к контролю количества общего белка (на 25%), фосфора (на 29%), магния (на 15%), кальция (на 9%), белков альбуминовой фракции (на 13%) и снижение активности аминотрансфераз АлАТ (на 8%), АсАТ (на 17%), количества железа (на 60%) и глюкозы (на 7%). Увеличение фосфора и кальция может быть связано с синергетическим действием аскорбиновой кислоты и эргокальциферола, который непосредственно участвует в их обмене.

Таблица 3 – Биохимические показатели крови мышей

Показатели	Контроль	Опыт	p
АлАт, Е/л	17,96±0,54	16,46±0,60	>0.05
Альбумины, г/л	23,92±0,14	27,60±1,22	<0.05
АсАт, Е/л	57,92±0,22	47,92±1,24	<0.05
Кальций, ммоль/л	2,75±0,04	3,01±0,26	<0.05
Холестерин, ммоль/л	1,87±0,03	1,99±0,10	>0.05
Глюкоза, моль/л	9,36±0,04	8,70±0,24	>0.05
Железо, мкмоль/л	66,55±1,04	26,17±0,60	<0.05
Магний, мкмоль/л	1,04±0,01	1,21±0,03	<0.05
Фосфор, ммоль/л	2,29±0,04	3,22±0,25	<0.05
Общий белок, г/л	55,55±0,43	74,47±3,46	<0.05

Снижение активности аминотрансфераз является следствием антиоксидантной защиты мембран гепатоцитов, которая в большей степени выражена в опытной группе за счет поступающей аскорбиновой кислоты. Увеличение общего белка в сыворотке крови опытных животных свидетельствует о метаболической активности витаминного препарата.

Десятикратное превышение дозы витаминного препарата привело к изменениям в приросте живой массы самцов мышей (Табл. 4). Этот показатель в опытной группе превысил контроль в 1,9 раз, что связано с метаболической активностью данного препарата и подтверждает его безвредность. Однако в процессе эксперимента были зафиксированы потери живой массы у самок обеих групп, причем в большей степени в контроле. Этот факт можно объяснить наличием половой цикличности у данных животных, сопровождающейся в состоянии охоты большими потерями массы тела.

Таблица 4 – Динамика живой массы мышей опытной и контрольной групп

Масса	Контрольная		Опытная	
	Самцы	Самки	Самцы	Самки
На 1 день опыта (г)	26,74±1,41	26,9±1,03	25,6±1,03	26,7±1,02
На 21 день опыта (г)	28,00±0,99	25,54±0,74	28,12±0,91	25,36±0,68
Прирост массы (г.)	+1,3	-1,4	+2,5	-1,3

Отсутствие токсических эффектов у витаминного препарата «Аскорбиновая кислота с глюкозой» дает возможность продолжить изучение его эффективности на сельскохозяйственных животных, в частности при стрессовых нагрузках.

При изучении стрессовых реакций у телят было установлено, что стресс, вызванный декорнуацией, привел к обезвоживанию и относительному снижению количества железа и активизации аминотрансфераз, увеличению количества глюкозы, общего белка и белков альбуминовой фракции крови (Табл. 5).

Таблица 5 – Биохимические показатели крови животных после обезвоживания

Показатели	Группы животных		
	Интактная	Контроль (ксилазин)	Опытная (Добавка + ксилазин)
АлАт, Е/л	15,13±0,7	20,7±1,5*	18,26±1,27
Альбумины, г/л	33,35±1,29	36,06±1,48	34,77±0,53
АсАт, Е/л	27,12±1,78	32,78±1,63*	28,01±1,34
Кальций, ммоль/л	3,66±0,15	3,77±0,29	3,39±0,13
Холестерин, моль/л	2,64±0,17	3,06±0,29	2,62±0,18
Глюкоза, моль/л	5,1±0,23	11,17±0,81*	10,61±0,8*
Железо, мкмоль/л	15,95±1,21	11,89±1,18*	13,99±0,85
Фосфор, ммоль/л	2,10±0,1	2,21±0,13	2,02±0,18
Общий белок, г/л	65,7±0,97	67,69±2,42	66,2±1,86
Глобулины, г/л	32,35±1,68	31,63±3,31	31,43±2,23

Так, в опытной группе и контроле количество железа оказалось на 12% и 25,5% ниже по отношению к интактной группе. Активность АлАТ в опытной группе также была выше на 17% по отношению к интактной группе и ниже на 11,8% по сравнению с контролем. Общий белок, по сравнению с показателями интактной группы, вырос в контроле на 3%, в опытной – на 0,8%. Количество глюкозы повысилось по сравнению с интактной группой на 54% в контроле и на 48% – в опытной группе. Альбумины увеличились в контроле на 9% и в опыте на 4%. По остальным биохимическим показателям существенных изменений не наблюдалось. Данные биохимические показатели являются чувствительными индикаторами стресс-реакции. Величина их изменений находится в прямой зависимости от силы стрессового ответа со стороны организма. Таким образом, можно сделать вывод, что комбинированное применение витаминного препарата «Аскорбиновая кислота с глюкозой» и седативного средства «Хула» на основе ксилазина, является эффективным средством профилактики отрицательных последствий стресса, связанного с обезвоживанием.

Клинические показатели крови животных трех групп (Табл. 6) существенно не отличались, за исключением количества лейкоцитов. У телят контрольной и опытной группы был зарегистрирован выражен-

ный лейкоцитоз – показатель ответной стрессовой реакции организма. По сравнению с интактной группой в контроле этот показатель вырос в три раза, что является признаком стрессового состояния.

Таблица 6 – Клинические показатели крови телят после обезроживания

Показатели	Группы животных		
	Интактная	Контрольная (Ксилазин)	Опытная (Добавка + ксилазин)
Эритроциты, $10^{12}/л$	9,67±0,31	10,63±0,25*	10,47±0,48
Лейкоциты, $10^9/л$	11,96±1,02	34,30±2,86*	33,93±2,29*
Тромбоциты, $10^9/л$	523,86±29,44	564,00±41,88	629,29±33,57*
Гемоглобин, г/л	110,43±4,16	114,25±4,09	109,14±5,66
Гематокрит, %	34,20±1,59	31,19±1,03	32,71±0,93

При выведении лейкоцитарной формулы было зарегистрировано увеличение нейтрофильной группы лейкоцитов на 11,4% в опыте и на 21% в контроле и уменьшение лимфоцитов на 4% в опыте и 5,6% в контроле по сравнению с интактной группой. Данные изменения имели умеренный характер, а поскольку общеизвестно, что стрессовые реакции сопровождаются выраженным нейтрофилезом, то показатели лейкоформулы свидетельствуют об эффективности предложенной схемы профилактики стресса с использованием ксилазина в сочетании с витаминным препаратом «Аскорбиновая кислота с глюкозой».

Комплексное применение ксилазина и витаминного препарата оказало более выраженное ингибирующее влияние на ПОЛ, чем ксилазин в отдельности. По сравнению с контролем в опытной группе уровень МДА оказался на 6% ниже, а количество восстановленного глутатиона выше на 10%.

Результаты динамики массы тела в трех группах (Табл. 7) существенно отличались.

Таблица 7 – Живая масса и температура тела у телят

Масса (кг)		
Интактная	Опытная (глюк+ксилазин)	Контрольная (ксилазин)
До обезроживания		
47,7±3,2	45,4±1,63	44,3±1,85
После обезроживания		
72±5,09	71,6±2,02	66,9±3,05
Температура тела, °С		
38,7±0,19	39,54±0,28	40,0±0,18
Прирост за период наблюдений, кг		
24,3	26,2	21,6

Как видно из представленных данных, витаминный препарат способствовал большему приросту живой массы телят по сравнению с первой и второй группами. Такой эффект можно объяснить тем, что ксилазин способен оказывать некоторое токсическое действие на организм животного, которое нивелируется действием аскорбиновой кислоты. Кроме того, добавка стимулирует поедаемость корма животными, поэтому общий прирост превысил аналогичный показатель интактной группы.

Заключение. «Аскорбиновая кислота с глюкозой» не оказывает отрицательного воздействия на организм мышей даже при ее употреблении в количествах, превышающих рекомендуемые нормы в 10 раз. Включение в схему профилактических антистрессовых обработок ксилазина или ксилазина в сочетании с препаратом «Аскорбиновая кислота с глюкозой» способствует смягчению стрессового воздействия, что в свою очередь положительно сказывается на общем состоянии животных и интенсивности их роста.

ЛИТЕРАТУРА

1. Lambooi, E., and G. van Putten. Transport of pigs. in *Livestock Handling and Transport*. T. Grandin, ed. CABI, Wallingford, UK. – 1993. – Pages 213–231
2. Внутренние незаразные болезни сельскохозяйственных животных / Б.М. Анохин [и др.]; под ред. В.М. Данилевского. – М.: Агропромиздат, 1991. – с. 339-342.
3. Кучинский, М.П. Проблема профилактики незаразных болезней животных / М.П. Кучинский // Международная научно-практическая конференция “Современные вопросы патологии сельскохозяйственных животных”. – Минск, 2003. – с. 183-185.
4. E. Peeters, B. Driessen and R. Geers Influence of supplemental magnesium, tryptophan, vitamin C, vitamin E, and herbs on stress responses and pork quality/ *Journal of animal science*. – 2006 Jul; 84(7):1827-38
5. Меерсон, Ф.З. «Адаптация, стресс и профилактика» М.: Наука, 1981 6. Богуш, А.А. «Повышение качества мяса» Мн.: Ураджай, 1980. – 120с.
7. Машковский, М.Д. Лекарственные средства / М.Д. Машковский. – 8-е изд., перераб. и дополн. – М.:”Медицина,” 1977. – Т.1. – с. 74-88.
8. Packer, J. E., T. F. Slater, and R. L. Willson. 1979. Direct observation of a free radical interaction between vitamin E and vitamin C. *Nature* 278:737–738
9. Плященко, С.И. Предупреждение стрессов у сельскохозяйственных животных / С.И. Плященко, В.Т. Сидоров. – Мн.: Ураджай, 1983. – с. 122-132.
10. Методы ветеринарной клинической лабораторной диагностики. – Справочник / И.П. Кондрахин [и др.]; под ред. И.П. Кондрахина. – М.: Колос, 2004. – с. 117-122.