ISSN 2074-9414 (Print)
ISSN 2313-1748 (Online)

https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-4-2476
https://elibrary.ru/KRAFSI

Оригинальная статья
https://fptt.ru

Биомедицинские исследования на лабораторных животных сыровяленого мяса птицы, обогащенного пергой пчелиной

М. А. Сухов[1,*], Т. М. Гиро[2], С. В. Козлов[1], И. В. Зирук[1]

[1] *Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н. И. Вавилова, Саратов, Россия*

[2] *Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К. А. Тимирязева, Москва, Россия*

Поступила в редакцию: 09.12.2022
Принята после рецензирования: 05.05.2023
Принята к публикации: 06.06.2023

**М. А. Сухов: maksim.suxow2012@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0003-4999-749X*
Т. М. Гиро: https://orcid.org/0000-0003-3039-1324
С. В. Козлов: https://orcid.org/0000-0003-2164-8140
И. В. Зирук: https://orcid.org/0000-0001-7300-3956

© М. А. Сухов, Т. М. Гиро, С. В. Козлов, И. В. Зирук, 2023

Аннотация.
Применение натуральных пищевых добавок для обогащения мясных продуктов является перспективным направлением мясоперерабатывающей отрасли. Перга пчелиная обладает лечебно-профилактическими свойствами, т. к. в ее состав входят аминокислоты, углеводы, витамины, минеральные вещества, ферменты и т. д. Поэтому пергу пчелиную можно использовать в качестве обогатителя мясных сыровяленых продуктов категории джерки. Цель работы – оценить безопасность сыровяленого мясного изделия (джерки), обогащенного пергой пчелиной, при индуцированном тетрахлорметаном остром токсическом гепатите у крыс.
Объектами исследования являлись группы белых нелинейных крыс. Контрольная группа не подвергалась воздействию и находилась на общем рационе. У крыс опытной группы искусственно был вызван гепатит печени введением CC_{l4}. На 2 сутки опытную группу разделили на 3 подгруппы: I опытная группа (общий рацион + джерки по стандартной рецептуре), II опытная группа (общий рацион + джерки с добавлением перги пчелиной), III опытная группа – положительный контроль $K_п$ (общий рацион). Гематологические исследования выполнялись на анализаторе MicroCC20Vet, биохимические – на анализаторе StatFax 3300 с использованием диагностических систем фирмы «Диакон ДС», гистологические – по методике Г. А. Меркулова.
В ходе эксперимента мы отметили отсутствие изменений по гематологическим показателям; по биохимическим показателям отмечено достоверное увеличение содержания белка у крыс I и II опытных групп относительно интактных животных. По истечении 14-х суток концентрация белка и его фракций во II опытной группе повысилась до уровня интактных животных. Во II и III ($K_п$) опытных группах общий белок был достоверно выше за счет глобулиновой фракции. Это является следствием воспалительно-деструктивных процессов печени на фоне введения ксенобиотика. Отклонения по приросту живой массы и гистологическим исследованиям печени крыс не наблюдались.
Доклиническими исследованиями доказано, что перга пчелиная в составе рецептуры сыровяленых мясных изделий не оказывает негативного воздействия на организм лабораторных животных. В ходе эксперимента подтвердили антиоксидантную способность перги пчелиной.

Ключевые слова. Перга пчелиная, сыровяленые мясные изделия, лабораторные крысы, острый токсический гепатит, биохимические показатели крови, гематологические показатели крови

Финансирование. Работа выполнена на базе Саратовского государственного университета генетики, биотехнологии и инженерии имени Н. И. Вавилова (Вавиловский университет).

Для цитирования: Биомедицинские исследования на лабораторных животных сыровяленого мяса птицы, обогащенного пергой пчелиной / М. А. Сухов [и др.] // Техника и технология пищевых производств. 2023. Т. 53. № 4. С. 775–785. https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-4-2476

https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-4-2476
https://elibrary.ru/KRAFSI

Original article
Available online at https://fptt.ru/en

Raw Cured Poultry Meat Fortified with Bee Pollen: Biomedical Research on Laboratory Animals

Maksim A. Sukhov[1,*], Tatiana M. Giro[2], Sergey V. Kozlov[1], Irina V. Ziruk[1]

[1] N.I. Vavilov Saratov State University of Genetics, Biotechnology and Engineering, Saratov, Russia

[2] Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy, Moscow, Russia

Received: 09.12.2022
Revised: 05.05.2023
Accepted: 06.06.2023

*Maksim A. Sukhov: maksim.suxow2012@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0003-4999-749X
Tatiana M. Giro: https://orcid.org/0000-0003-3039-1324
Sergey V. Kozlov: https://orcid.org/0000-0003-2164-8140
Irina V. Ziruk: https://orcid.org/0000-0001-7300-3956

© M.A. Sukhov, T.M. Giro, S.V. Kozlov, I.V. Ziruk, 2023

Abstract.
Natural food additives can fortify meat products. Bee pollen, also known as beebread or ambrosia, contains amino acids, carbohydrates, vitamins, minerals, enzymes, etc. As a result, it possesses numerous therapeutic and prophylactic properties. Bee pollen has good prospects as a fortifying agent for jerky meat, i.e., lean and dehydrated trimmed meat cut into strips. This study tested dry-cured jerky meat fortified with bee pollen on rats with carbon tetrachloride-induced acute toxic hepatitis.
The research featured white non-linear laboratory rats. The control group obtained a standard diet. The experimental rats were induced with liver hepatitis by administering CC_{l4}. On day 2, the experimental group was divided into three subgroups: experimental group I (standard diet + traditional jerky), experimental group II (standard diet + jerky fortified with bee pollen), and experimental group III (standard diet), which served as positive control. The research involved a MicroCC20Vet analyzer for hematological tests and a StatFax 3300 analyzer with Diacon DS diagnostic systems for biochemical tests. The histological analyses relied on the method developed by G.A. Merkulov.
The hematological parameters demonstrated no changes. As for the biochemistry, experimental groups I and II developed a protein content increase. On day 14, the concentration of protein and its fractions in experimental group II reached the level of intact animals. In experimental groups II and III, the total protein was significantly higher due to the globulin fraction as a result of inflammatory and destructive processes in the liver. However, the rats had normal live weight gain, and their liver demonstrated no histological deviations.
In this preclinical study, bee pollen as part of jerky meat formulation had no negative effect on laboratory rats. Bee pollen also proved its antioxidant properties.

Keywords. Bee bread, dried meat products, laboratory rats, acute toxic hepatitis, biochemical blood parameters, hematological blood parameters

Funding. The research was performed on the premises of the N.I. Vavilov Saratov State University of Genetics, Biotechnology and Engineering (Vavilov University).

For citation: Sukhov MA, Giro TM, Kozlov SV, Ziruk IV. Raw Cured Poultry Meat Fortified with Bee Pollen: Biomedical Research on Laboratory Animals. Food Processing: Techniques and Technology. 2023;53(4):775–785. (In Russ.). https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-4-2476

Введение

Основным направлением Стратегии повышения качества пищевой продукции в Российской Федерации до 2030 г. является обеспечение полноценного питания с целью профилактики заболеваний, увеличения продолжительности и качества жизни населения. Данные направления должны стимулировать развитие производства соответствующей пищевой продукции [1].

Федеральная служба государственной статистики констатирует, что дисмикроэлементоз и полигиповитаминоз отмечаются у 22–38 % взрослого населения. Решением данной проблемы может стать производство мясных продуктов повышенной биологической ценности, в рецептуре которых используются биологически активные ингредиенты [2, 3]. Например, натуральный природный компонент перга пчелиная.

Перга является продуктом пчеловодства и представляет собой белково-углеводный корм, используемый для кормления расплода [4]. Ее получают из пыльцы растений, помещенной в соты и залитой медовым слоем. Состав перги включает аминокислоты, углеводы, витамины, минеральные вещества, ферменты, гормоны и т. д. [5]. Перга обладает лечебно-профилактическими свойствами: повышает иммунитет, улучшает кроветворение, тонус организма, работу головного мозга и сердечно-сосудистой системы; полезна при заболеваниях ЖКТ, печени, почек и щитовидной железы [6–9].

Использование перги в размере 2 % в качестве обогатителя мясных сыровяленых продуктов категории джерки позволяет осуществлять процесс производства практически без изменения технологического цикла [10, 11]. С целью сохранения активности ферментов, витаминов и гормонов в сыровяленых мясных продуктах предусмотрено проведение процесса вяления в диапазоне температур от 35 до 44 °С [12–14]. Данный продукт рекомендован для питания военнослужащих, туристов, спортсменов, лиц, которые попали в неблагоприятные условия, и т. д. [15]. Это связано с повышенной потребностью организма в белке, витаминах, минеральных веществах, ферментах и др. Сыровяленый мясной продукт отличается легким весом, длительным сроком хранения и высоким содержанием белка.

Цель исследования – оценить безопасность перги пчелиной в качестве обогатителя сыровяленых мясных изделий (джерки) при индуцированном тетрахлорметаном остром токсическом гепатите у крыс.

Объекты и методы исследования

Объектами исследования являлись группы белых нелинейных крыс: первая группа – контроль (К), животные не подвергались воздействию и находились на общем рационе; вторая группа – животные, у которых искусственно вызвали гепатит печени введением CCl_4. Через 2-е суток данную группу разделили на 3 подгруппы:

– I опытная группа: животные получали общий рацион + джерки по стандартной рецептуре, 30 г в сутки;
– II опытная группа: животные получали общий рацион + джерки с добавлением перги пчелиной (2 %), 30 г в сутки;
– III опытная группа: положительный контроль ($К_п$), животные получали общий рацион.

Для изучения антиокислительного стресса использовался тетрахлорметан (CCl_4), который является одним из распространенных токсичных веществ для изучения окислительного стресса при экспериментальном моделировании.

Токсическое действие CCl_4 связано с прооксидантным действием образующихся в процессе его метаболизма свободных радикалов – трихлорметильного CCl_3 и высокореактивного трихлорметилпероксильного CCl_3OO. Взаимодействие образующихся радикалов CCl_4 с полиненасыщенными жирными кислотами фосфолипидов мембран инициирует перекисное окисление липидов с последующим развитием цепной реакции свободнорадикального окисления. Это приводит к нарушениям функциональных свойств мембран: подавлению активности мембраносвязанных ферментов, выходу цитозольных ферментов в кровь, апоптозу и некрозу гепатоцитов.

Индуцированный CCl_4 окислительный стресс усугубляется подавлением активности антиоксидантных ферментов, усилением расхода и снижением содержания в клетке таких антиоксидантов, как α-токоферол и восстановленная форма убихинона. В связи с этим CCl_4-индуцированный окислительный стресс находит применение в качестве одной из немногих моделей для оценки *in vivo* антиоксидантных свойств биологически активных соединений, используемых как БАД к пище или как компоненты функциональной пищи [16].

Антиоксидантная способность перги пчелиной отмечена в работах отечественных и зарубежных ученых: Н. З. Хисматуллина, П. А. Красочко, Д. И. Шаврина, V. Aylanc, D. Barbieri, H. Ispirli, Z. Zakaria, Z. Li, S. A. Khalifa и др. [17–23].

Исследования проводили в виварии Вавиловского университета. Эксперименты выполнены согласно Правилам лабораторной практики в Российской Федерации (Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 18.05.2021, № 464н) и методическим указаниям Руководства по проведению доклинических исследований лекарственных средств (часть первая). Эксперименты на животных проводили в соответствии с правилами, принятыми Европейской Конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей.

Подбор животных в группы проводили произвольно методом случайных чисел, используя в качестве критерия массу тела. Индивидуальные значения массы тела не отклонялись от среднего значения в группе более чем на 10 %. Животных взвешивали на весах PA2102C (OHAUS). Дизайн исследования представлен в таблице 1.

В течение всего эксперимента за животными вели наблюдение и учитывали клиническое состояние, потребление корма и воды, активность крыс. В качестве ингаляционного наркоза применяли изофлуран.

У 5 животных из каждой группы отбирали кровь для проведения гематологических и биохимических исследований на 2, 7 и 14-е сутки после начала эксперимента. Аспирацию крови с целью биохимических исследований осуществляли в вакуумные пробирки для *in vitro* диагностики Improvacuter (Guangzhou Improve Medical Instruments Co. Ltd, China) с использованием тромбина в качестве активатора

Таблица 1. Дизайн исследования

Table 1. Research design

Дни	Контрольная группа (К) (n = 5)	Опытная группа (n = 15)		
0	Взвешивание животных	Взвешивание животных. Введение тетрахлорметана в оливковое масло в соотношении 50:50 в объеме 2 мл/кг		
2	Клиническое исследование животных. Взвешивание. Аспирация крови для гематологических и биохимических исследований			
		Формирование опытных групп животных		
	Контрольная группа (К) (n = 5)	I опытная группа (n = 5)	II опытная группа (n = 5)	III опытная группа ($K_п$) (n = 5)
	Взвешивание животных. Общий рацион	Взвешивание животных. Общий рацион + джерки из мяса птицы по стандартной рецептуре (30 г/2 раза в сутки)	Взвешивание животных. Общий рацион + джерки, обогащенные пергой пчелиной (2 %), (30 г/2 раза в сутки)	Взвешивание животных. Общий рацион
7	Клиническое исследование животных. Взвешивание. Аспирация крови для гематологических и биохимических исследований			
14	Клиническое исследование животных. Взвешивание. Аспирация крови для гематологических и биохимических исследований. Эвтаназия крыс. Извлечение печени для гистологических исследований			

сгустка по 2 мл. Для гематологических исследований отбирали по 0,1–0,2 мл в микропробирки с антикоагулянтом К2 ЭДТА для капиллярной крови по 200 мкл ЮНИВЕТ в модификации ЮНИВЕТ-IIм (ТУ 9398-033-59879815-2012). Взятие крови производили из хвостовой вены; кожу предварительно дезинфицировали 95 % раствором этилового спирта.

Мы провели исследование морфологического состава периферической крови, в котором учитывали количество эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов и уровень гемоглобина.

Для изучения системного действия провели оценку основных показателей метаболизма в сыворотке крови животных, которые включают определение общего белка, альбумина, глобулина, креатинина и мочевины, глюкозы, билирубина и щелочной фосфотазы, а также активности основных ферментов, которые имеют диагностическое значение при нарушении функциональной активности печени (основной орган метаболизма) – аспарата и аланинаминотрансфераза [22, 24].

Биохимические исследования проводили на анализаторе StatFax 3300 с использованием диагностических систем фирмы «Диакон ДС». Для проверки правильности и точности определения биохимических показателей в сыворотке крови использовали контрольную сыворотку по ТУ 9398-022-09807247-2009 (ООО «HOSPITEX DIAGNOSTICS»).

Гистологические исследования проводили следующим способом: извлекали кусочки печени величиной 1×1 см и делали срез органа на замораживающем микротоме. Гистологические срезы толщиной 5–7 мкм изготавливали на замораживающем микротоме Microm HM 525. Для обзорного просмотра гистологические срезы окрашивали гематоксилином и эозином. Окрашенные гистосрезы заключали в канадский бальзам под покровное стекло и подвергали микроскопическому исследованию при помощи биологического микроскопа Биомед С-1 и Fluorescence microscope LF-302 при увеличении окуляра на 10×, объективов на 4×, 10×, 15×, 40× и фотографий на 100× [25].

Все манипуляции с животными были осуществлены в соответствии с Директивой Совета ЕС 2010/63/EU и одобрены этическим комитетом ФГБОУ ВО «Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н. И. Вавилова».

Результаты и их обсуждение

В ходе исследования мы установили, что у животных опытной группы на 2 сутки после применения ксенобиотика развивались клинические симптомы интоксикации, которые выражались в гиподинамии и угнетении животных. У животных отмечалась пониженная активность, взъерошенный волосяной покров матового цвета, слизистые оболочки и кожные покровы были бледными с желтоватым оттенком, аппетит снижен.

При анализе гематологических показателей периферической крови крыс опытной группы через 48 ч после начала эксперимента (рис. 1) установлено достоверное повышение общего количества лейкоцитов у крыс с индуцированным гепатитом по сравнению с животными контрольной группы. Увеличение общего количества лейкоцитов возникло за счет гранулоцитарных клеток. Данный факт указывает на развитие воспалительных процессов в организме животных, в частности в печени опытных групп.

При анализе биохимических показателей сыворотки крови крыс (табл. 2) установлено достоверное

повышение индикаторных ферментов печени аланиновой и аспарагиновой трансаминаз в сыворотке крови опытных групп крыс через 48 ч после введения 50 % раствора тетрахлорметана на оливковом масле. Данные изменения указывают на способность четыреххлористого углерода запускать процессы перекисного окисления липидов и снижать интегральную антирадикальную активность в печени. Это приводит к повреждению клеточных мембран, в первую очередь, центролобулярных долек печени. Следствием этого является выход цитоплазматических ферментов, к которым относятся трансаминазы, в межклеточное пространство. Их межклеточного пространства цитоплазматические ферменты поступают в кровь, где их активность возрастает.

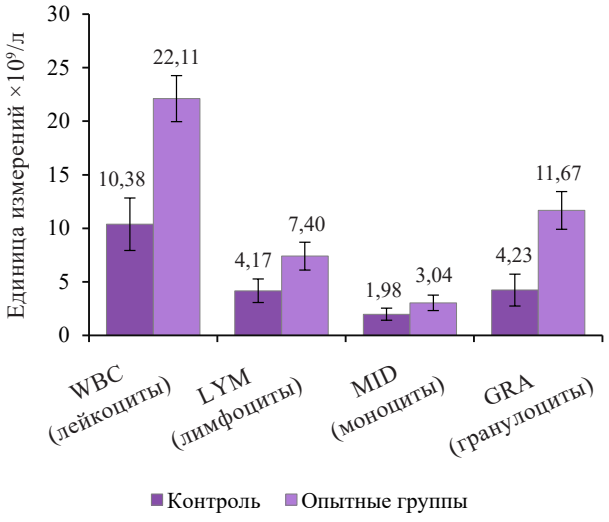


Рисунок 1. Динамика изменений гематологических показателей крови через 48 ч послеведения тетрахлорметана

Figure 1. Hematological blood parameters 48 h after carbon tetrachloride inejction

В процессе исследования зафиксировали резкое уменьшение концентрации глюкозы в сыворотке крови крыс. Это является следствием повышенных затрат энергии на компенсацию деструктивно-дегенеративных процессов в организме подопытных.

На 7-ой день после начала опыта в I и II опытных группах фиксировали улучшение общего состояния. Лабораторные животные потребляли корм, а также были активны и реагировали на внешние раздражители. В III опытной группе ($К_п$), содержащейся на основном рационе, улучшение общего состояния животных отметили только на 14 сутки. На 14 сутки после начала опыта у животных II опытной группы клинических симптомов интоксикации не отмечалось. У животных I и III ($К_п$) опытных групп отметили гиподинамию и минимальную взъерошенность волосяного покрова.

При анализе гематологических показателей (табл. 3) достоверной разницы между группами животных на 7-е и 14-е сутки эксперимента выявлено не было.

Анализируя биохимические показатели сыворотки крови крыс на 7-е сутки (табл. 4), выявили достоверное повышение белка за счет глобулиновой фракции в I и II опытных группах относительно интактных животных. Это указывает на развитие защитно-компенсаторных механизмов в ответ на действие ксенобиотика (CCl_4). В III опытной группе ($К_п$) общий белок был повышен за счет альбуминов, а сывороточный глобулин был достоверно ниже, чем в контрольной группе. Данный факт может указывать на снижение общей сопротивляемости организма при воздействии внешних патогенных факторов.

На 14-е сутки эксперимента во II опытной группе концентрация белка и его фракций достигла уровня интактных животных, тогда как в I и III ($К_п$) опытных группах общий белок был достоверно выше за счет глобулиновой фракции. Это может быть следствием хронизации воспалительно-деструктивных процессов печени на фоне введения ксенобиотика.

Таблица 2. Биохимические показатели сыворотки крови животных через 48 ч после начала эксперимента

Table 2. Biochemical variables of animal blood serum 48 h into the experiment

Показатель	Норма	Контрольная группа	Опытные группы
Аланинаминотрансфераза, ед./л	34–76	63,70 ± 18,67	478,70 ± 38,30*
Аспартатаминотрансфераза, ед./л	60–223	48,64 ± 3,04	391,10 ± 37,90*
Щелочная фосфотаза ед./л	61–287	213,10 ± 28,50	502,60 ± 112,80*
Мочевина, ммоль/л	3,0–7,8	6,90 ± 1,31	6,40 ± 1,90
Креатинин, ммоль/л	44–85	63,18 ± 4,45	74,80 ± 3,45
Общий белок, г/л	59–82	76,90 ± 5,10	73,10 ± 11,10
Альбумин, г/л	25–38	37,20 ± 3,00	21,90 ± 2,80*
Глобулин, г/л	–	39,70 ± 2,80	50,20 ± 12,70*
Глюкоза, моль/л	3–13	6,17 ± 1,40	9,70 ± 1,00
Гамма-глутамилтрансфераза, ед./л	до 7,1	2,90 ± 0,40	14,60 ± 2,12*

* Различие по данному показателю статистически достоверно между опытными и контрольной группами ($p \leq 0{,}05$ при t критическом 2,78).

* The difference in this indicator is statistically significant between the experimental and control groups ($p \leq 0.05$ with a critical t of 2.78).

Таблица 3. Гематологические показатели крови крыс

Table 3. Hematological profile of rat blood

Показатели	Продолжительность эксперимента, сутки							
	7				14			
	Контрольная группа	I опытная группа	II опытная группа	III опытная группа ($K_п$)	Контрольная группа	I опытная группа	II опытная группа	III опытная группа ($K_п$)
Лейкоциты (WBC), $\times 10^9$/л	11,9 ± 5,8	14,5 ± 2,7	18,6 ± 11,7	10,7 ± 3,1	8,6 ± 6,1	11,6 ± 2,8	13,6 ± 8,2	11,2 ± 6,6
Лимфоциты (LYM), $\times 10^9$/л	2,6 ± 1,4	4,0 ± 3,4	4,2 ± 4,0	5,4 ± 0,1	3,2 ± 3,1	3,1 ± 0,8	3,5 ± 2,9	3,0 ± 1,1
Моноциты (MID), $\times 10^9$/л	1,2 ± 1,3	1,1 ± 0,7	1,4 ± 0,2	1,0 ± 0,5	0,7 ± 0,3	1,1 ± 1,3	0,8 ± 0,6	1,3 ± 1,2
Гранулоциты (GRA), $\times 10^9$/л	8,1 ± 3,2	9,4 ± 5,5	13,0 ± 8,4	4,5 ± 2,5	4,7 ± 2,9	7,4 ± 1,2	9,3 ± 4,9	6,0 ± 5,1
Эритроциты (RBC), $\times 10^{12}$/л	7,3 ± 0,5	8,1 ± 0,1	8,5 ± 0,1	7,3 ± 0,7	7,1 ± 0,8	7,8 ± 0,4	8,6 ± 0,4	7,8 ± 0,8
Гемоглобин (HGB), $\times 10^{12}$/л	137,0 ± 2,6	149,7 ± 7,2	145,7 ± 0,8	124,0 ± 19,1	137,7 ± 15,7	147,7 ± 7,2	154,7 ± 11,4	137,7 ± 21,9
Средняя концентрация гемоглобина в эритроците (MCHC), г/л	351,3 ± 0,7	364,0 ± 2,6	355,3 ± 7,8	346,7 ± 14,6	375,3 ± 8,6	364,7 ± 9,1	373,3 ± 13,2	362,7 ± 24,5
Содержание гемоглобина в эритроцитах (MCH), Pg	18,4 ± 0,9	18,5 ± 0,6	17,1 ± 0,2	15,5 ± 1,5	19,5 ± 0,5	18,9 ± 0,1	18,0 ± 0,5	17,2 ± 2,5
Средний объем эритроцита (MCV), Fl	52,5 ± 2,7	50,9 ± 1,4	48,0 ± 1,4	50,4 ± 2,2	52,1 ± 2,3	51,8 ± 0,8	48,2 ± 1,4	49,8 ± 3,1
Отклонение объема эритроцитов, (RDW-CV), %	14,7 ± 0,8	13,8 ± 2,5	14,2 ± 2,4	14,0 ± 1,8	14,3 ± 0,4	15,1 ± 0,8	15,5 ± 3,4	13,7 ± 1,4
Средний размер эритроцитов (RDW-SD), Fl	32,7 ± 0,3	29,9 ± 4,8	29,0 ± 4,7	29,9 ± 2,6	31,8 ± 2,2	33,1 ± 1,6	31,6 ± 6,1	28,8 ± 1,1
Гематокрит (HCT), %	38,4 ± 0,7	41,2 ± 1,7	41,0 ± 1,1	38,3 ± 6,6	36,7 ± 3,5	40,5 ± 2,6	41,4 ± 1,7	40,5 ± 2,7
Тромбоциты (PLT), $\times 10^9$/л	544,3 ± 215,7	659,0 ± 23,9	670,0 ± 64,8	489,3 ± 84,3	548,0 ± 31,5	719,3 ± 37,6	683,0 ± 43,9	718,7 ± 43,9
Средний объем тромбоцитов (MPV), Fl	6,0 ± 0,7	6,7 ± 1,4	7,1 ± 0,1	8,6 ± 2,9	7,5 ± 1,7	6,9 ± 0,4	7,3 ± 0,2	7,2 ± 0,8
Относительная ширина распределения тромбоцитов по объему (PDW), Fl	6,1 ± 0,7	7,1 ± 2,5	8,8 ± 0,5	10,2 ± 4,8	8,0 ± 3,2	8,4 ± 1,1	9,4 ± 0,1	8,8 ± 0,7
Тромбокрит (PCT), %	0,3 ± 0,2	0,4 ± 0,2	0,5 ± 0,0	0,4 ± 0,3	0,4 ± 0,3	0,5 ± 0,1	0,5 ± 0,2	0,5 ± 0,1
Содержание больших тромбоцитов (P-LCR), %	2,5 ± 0,6	7,3 ± 1,0	7,7 ± 0,9	22,4 ± 2,7	11,3 ± 1,8	6,9 ± 2,3	8,5 ± 2,5	9,1 ± 0,8

Таблица 4. Биохимические показатели сыворотки крови крыс

Table 4. Biochemical profile of rat blood serum

Показатели	Норма	Продолжительность эксперимента, сутки							
		7				14			
		Контрольная группа	I опытная группа	II опытная группа	III опытная группа ($K_п$)	Контрольная группа	I опытная группа	II опытная группа	III опытная группа ($K_п$)
Аланинаминотрансфераза, ед./л	34–76	67,9 ± 14,7	92,7 ± 28,3	87,1 ± 8,0	141,9 ± 76,6	52,6 ± 28,2	66,6 ± 24,8	62,8 ± 7,5	90,1 ± 21,4
Аспартатаминотрансфераза, ед./л	60–23	169,9 ± 6,9	157,1 ± 43,9	122,2 ± 8,9	165,5 ± 63,0	110,6 ± 12,3	91,8 ± 7,5	177,9 ± 17,6	136,0 ± 18,8
Щелочная фосфотаза ед./л	61–87	203,1 ± 66,5	296,8 ± 161,8	325,2 ± 67,5	572,8 ± 47,0	197,4 ± 73,0	201,6 ± 5,7	232,4 ± 58,6	215,2 ± 116,8
Мочевина, ммоль/л	3,0–7,8	6,4 ± 0,6	7,8 ± 0,8	7,2 ± 2,3	4,6 ± 0,9	4,5 ± 3,6	5,6 ± 1,1	6,3 ± 2,3	7,0 ± 7,6
Креатинин, ммоль/л	44–85	69,9 ± 22,9	71,5 ± 10,8	72,5 ± 13,8	54,0 ± 3,3	69,3 ± 20,6	74,1 ± 16,6	81,8 ± 4,6	69,9 ± 20,2
Общий белок, г/л	59–82	78,4 ± 4,7	88,9 ± 8,9*	84,8 ± 7,8*	84,8 ± 17,0	65,1 ± 9,3	86,2 ± 7,5*	71,2 ± 16,6*	88,9 ± 5,7*
Альбумин, г/л	25–38	37,2 ± 3,0	31,9 ± 4,5	33,0 ± 1,6	48,1 ± 3,0*	36,4 ± 6,7	35,2 ± 9,4	36,1 ± 9,3	30,8 ± 1,9
Глобулин, г/л	–	41,2 ± 2,8	57,0 ± 8,9*	51,8 ± 8,3*	38,8 ± 7,6*	28,7 ± 8,5	51,0 ± 15,1*	35,1 ± 12,5	58,2 ± 14,8*
Глюкоза, моль/л	3–13	9,3 ± 1,8	9,7 ± 1,0	9,3 ± 1,4	14,0 ± 1,3*	6,7 ± 1,8	7,7 ± 2,0	9,9 ± 2,0	15,3 ± 2,3*
Гамма-глутамилтрансфераза, ед./л	до 7,1	5,9 ± 1,9	5,5 ± 0,6	5,4 ± 1,8	5,1 ± 0,9	5,1 ± 0,2	5,4 ± 0,1	5,0 ± 0,1	6,6 ± 0,2

* Различие по данному показателю статистически достоверно между опытными и контрольной группами ($p \leq 0,05$ при t критическом 2,78).

* The difference in this indicator is statistically significant between the experimental and control groups ($p \leq 0.05$ with a critical t of 2.78).

На 7-е и 14-е сутки эксперимента наблюдалось достоверное увеличение концентрации глюкозы в сыворотке крови III опытной группы ($К_п$), что является следствием нарушения белково-улеводного обмена на фоне поражения печени введением четыреххлористого углерода.

К 7-м суткам эксперимента отметили положительную динамику активности цитолитических ферментов печени аланиновой и аспарагиновой аминотрансфераз. Активность аспартатаминотрансферазы во всех опытных группах, а также в контрольной группе достигает референсных значений для данного вида животных и не имеет достоверных отличий от фоновых значений. Аланинаминотрансфераза, хотя и имеет тенденцию к снижению активности в опытных и контрольной группах, остается выше физиологической нормы. Динамика снижения данного показателя варьируется между группами животных. Интенсивное снижение отмечается во II опытной группе, затем в I, наименее выражено в III ($К_п$). Это указывает на постепенную стабилизацию клеточных мембран гепатоцитов.

К 14 суткам эксперимента активность аланинаминотрансферазы в опытных группах достигает физиологических значений, тогда как в III опытной группе ($К_п$), животным которой вводили ксенобиотик и содержали на основном рационе, активность данного фермента в сыворотке крови остается повышенной. Данные изменения можно интерпретировать как положительное влияние перги пчелиной в составе сыровяленого продукта на регенеративные процессы в паренхиме печени.

Еще одним показателем, характеризующим деструктивно-воспалительные процессы в печени, является щелочная фосфатаза, активность которой в сыворотке крови опытных и контрольных животных через 7 дней эксперимента достоверно выше, чем у фоновых крыс. Это указывает на нарушение желчевыделительной функции печени. Однако прослеживается положительная динамика. В I опытной группе к этому времени активность данного фермента достигает референсных значений для данного вида животных и не выходит за их пределы. Во II опытной группе активность данного фермента остается выше нормы, но не имеет достоверных отличий от животных I опытной группы. В то время как у животных III опытной группы ($К_п$) активность щелочной фосфатазы к 7-м суткам опыта в 2 раза превышает фоновые значения. Данный факт подтверждает ранее сделанные выводы о положительном влиянии перги пчелиной в составе сыровяленого продукта на саногенетические процессы в организме животных.

Исследуемые показатели функциональной активности почек, такие как мочевина и креатинин, на всем протяжении опыта не выходили за пределы физиологических значений во всех группах животных. Это указывает на отсутствие нефротоксического действия потребления разрабатываемого продукта животными с индуцированным четыреххлористым углеродом гепатитом.

Еще одним показателем, характеризующим физиологическое развитие животных, является прирост массы тела. Результаты по динамике прироста массы тела крыс при добавлении в рацион кормления разрабатываемых продуктов приведены в таблице 5.

Анализируя полученные данные по динамике прироста живой массы тела лабораторных животных, мы выявили, что интенсивность роста животных (I опытная группа) в первые 7 суток эксперимента была достоверно выше, чем в аналоговых группах. В III опытной группе ($К_п$) животных, которые содержались на основном рационе, отмечалась отрицательная динамика массы тела, что указывает на нарушение со стороны пищеварительной системы при введении четыреххлористого углерода. С 7 по 14 сутки эксперимента среднесуточный прирост живой массы тела крыс III опытной группы ($К_п$) восстановился и не отличался от крыс I и II опытных групп. Снижения пророста живой массы крыс II опытной группы в ходе эксперимента не отмечено, негативных последствий при внесении перги пчелиной в продукт на среднесуточном приросте не выявлено.

На 14-е сутки эксперимента из каждой группы отбирали по одному животному и проводили эвтаназию с извлечением печени для гистологических исследований.

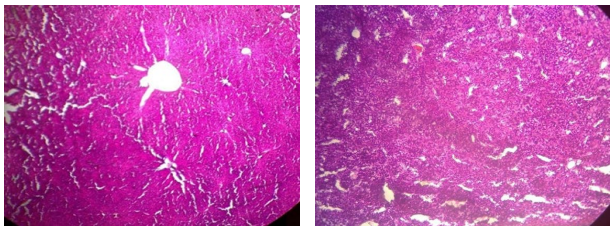
Таблица 5. Динамика прироста живой массы крыс

Table 5. Live weight gain

Группы	Масса, г			Среднесуточный прирост за 7 дней	
	0 суток	7 сутки	14 сутки	с 0 до 7 суток эксперимента	с 7 по 1 сутки эксперимента
Контрольная	318,70 ± 17,46	339,30 ± 24,26	342,30 ± 20,09	3,00 ± 0,98	0,40 ± 0,70
I опытная	260,00 ± 28,82	315,30 ± 14,24	327,70 ± 19,47	7,90 ± 1,29*	1,80 ± 0,77
II опытная	357,70 ± 32,23	365,30 ± 11,30	379,70 ± 14,07	1,10 ± 0,01	2,00 ± 0,71*
III опытная ($К_п$)	320,70 ± 37,55	292,70 ± 22,95	308,30 ± 30,10	–4,00 ± 0,31	2,20 ± 0,98*

* Различие по данному показателю статистически достоверно между опытными и контрольной группами ($p \leq 0{,}05$ при t критическом 2,26).

* The difference in this indicator is statistically significant between the experimental and control groups ($p \leq 0.05$ with a critical t of 2.26).

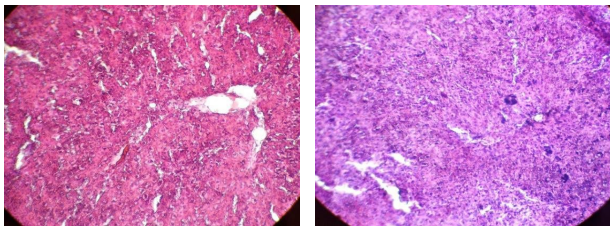


a b

Примечание. Окрашивание гематоксилином и эозином. Увеличение a – 40×, b – 100×

Рисунок 2. Гистологическое строение печени крыс контрольной группы (К)

Figure 2. Liver histology: control group



a b

Примечание. Окрашивание гематоксилином и эозином, Увеличение a – 40×, b – 100×

Рисунок 3. Гистологическое строение печени крыс I опытной группы

Figure 3. Liver histology: experimental group I

У животных контрольной группы (К) (рис. 2) зафиксирована декомплексация балочных структур долек печени, междольковая соединительная ткань минимально дифференцирована, междольковые триады многогранной или кубической формы нечеткие, дифференцируются слабо, на перисинусоидальное пространство приходится большая часть органа по сравнению с опытными группами. Ядра гепатоцитов нечеткие и слабо дифференцируются. Стенки центральных вен нечеткие, контуры их слабо выражены, незначительно нарушены, в некоторых присутствует минимальное количество клеток крови.

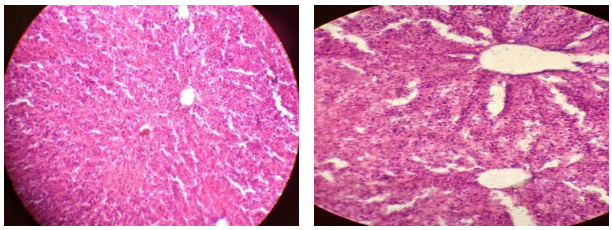
У животных I опытной группы (рис. 3) наблюдалась развитая и четко дифференцированная паренхима печени в виде многогранных долек, которые минимально разграничены междольковой соединительной тканью. Балки расположены радиально. Гепатоциты в виде шестигранника четко дифференцированы. Ядра гепатоцитов четкие и хорошо дифференцируются, чаще наблюдали одно ядро округлой или овальной формы. Междольковые триады в соединительной ткани, состоящие из артерии, вены и желчного выводного протока, прослеживаются на границе трех долек. Животные, получавшие мясные джерки в составе рациона, имели четкие стенки центральных вен, которые хорошо контурированы. Некоторые из них содержали минимальное количество клеток крови, что указывает на более интенсивное течение кровообращения в застенной пищеварительной железе животных опытных групп по сравнению с контрольной (К).

Развитую паренхиму застенной пищеварительной железы в виде многогранных долек, разграниченных минимальным количеством междольковой соединительной ткани, фиксировали у лабораторных животных II опытной группы (рис. 4). Балки, следующие от стенок долек до центральных вен, расположены радиально. Гепатоциты многогранной или кубической формы четкие. Ядра гепатоцитов четкие и хорошо дифференцируются, чаще наблюдали одно ядро округлой или овальной формы. Между балками печени хорошо видны синусоидальные пространства. Междольковые триады четкие, включают в себя междольковую артерию, вену и желчный выводной проток.

У животных, в состав рациона которых добавляли джерки, обогащенные пергой пчелиной, стенки центральных сосудов печени были более четкими и контурированными. Присутствие у крыс II опытной группы минимального количества клеток крови указывает на интенсивное течение метаболических процессов и кровообращение по сравнению с контрольной группой. Колебания радиуса печеночных долек в опытных группах указывает на интенсивное кровообращение у животных и свидетельствует о повышении активности метаболических процессов по сравнению с животными контрольной группы.

У животных III опытной группы ($К_п$) (рис. 5) паренхима печени в виде балок сохранена, междольковая ткань развита минимально. Балки, следующие радиально от стенок многогранных долек до центральных сосудов изучаемого органа, на некоторых участках минимально не дифференцируются. Гепатоциты многогранной формы плотно прилегают друг к другу. Ядра гепатоцитов нечеткие и слабо дифференцируются. Междольковые триады слабо дифференцируются. Целостность стенки центральных вен и структура междольковых триад нарушены, перисинусоидальное пространство минимально дифференцируется по сравнению с крысами I и II опытных групп.

Указанные положительные влияния в печени животных II опытной группы связаны с антиоксидантной способностью перги пчелиной, подтвержденной в работах V. Aylanc с соавторами [26]. Антиоксидантная активность перги пчелиной связана с биодоступностью общего содержания фенолов и флавоноидов – 38 и 35 % соответственно. Z. Zakaria с соавторами провели эксперимент на крысах и доказали, что перга пчелиная подавляла

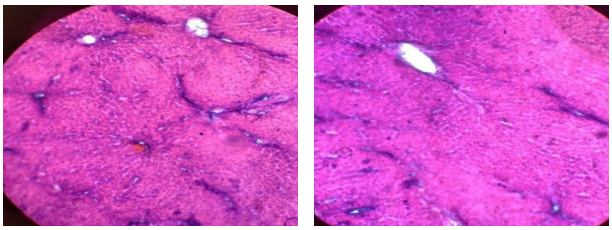


a b

Примечание. Окрашивание гематоксилином и эозином, Увеличение a – 40×, b –100×

Рисунок 4. Гистологическое строение печени крыс II опытной группы

Figure 4. Liver histology: experimental group II



a b

Примечание. Окрашивание гематоксилином и эозином, Увеличение a – 40×, b – 100×

Рисунок 5. Гистологическое строение печени крыс III опытной группы ($К_п$)

Figure 5. Liver histology: experimental group III (positive control)

синтез липидов и повышала уровень β-окисления жирных кислот в печени крыс с ожирением. Это соответствовало снижению уровня липидов, улучшало гистопатологические изменения в печени (стеатоз, гепатоцеллюлярная гипертрофия, воспаление и экспрессия гликогена) и предотвращало прогрессирование донеалкогольного стеатогепатита [27].

Выводы

Потребление лабораторными крысами сыровяленых мясных изделий, обогащенных пергой пчелиной, не оказывает отрицательного и побочного действия, что доказано при доклиническом исследовании в процессе опыта. Нежелательные осложнения и аллергические реакции со стороны крыс во время и после применения продукта отсутствовали.

Опытным животным в ходе опыта лекарственная терапия не проводилась. Разрабатываемый продукт не является терапевтическим средством, поэтому достоверной разницы физиологических показателей, кроме белкового и углеводного обменов, а также общих клинических показателей, нами не наблюдалось.

Применение сыровяленых мясных продуктов (джерки) с добавлением перги пчелиной в рационах крыс при моделированном остром токсическом гепатите способствует более быстрому купированию патологического процесса, вызванного четыреххлористым углеродом, что может быть связано с антиоксидантными свойствами перги пчелиной.

Критерии авторства

М. А. Сухов – обзор литературы, проведение и обработка результатов экспериментальных исследований, написание статьи. Т. М. Гиро – научное руководство, анализ результатов исследования, написание и редактирование статьи. С. В. Козлов – постановка и проведение опытов на лабораторных животных, обработка результатов эксперимента. И. В. Зирук – проведение гистологических исследований, обработка полученных результатов.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution

M.A. Sukhov performed the review, conducted the experimental studies, processed their results, and wrote the manuscript. T.M. Giro supervised the research, analyzed the results, wrote and proofread the manuscript. S.V. Kozlov organized and conducted the experiments on laboratory animals, as well as processed the experimental results. I.V. Ziruk was responsible for the histological tests.

Conflict of interest

The authors declare that there is no conflict of interest regarding the publication of this article.

References/Список литературы

1. Moliboga EA, Sukhostav EV, Kozlova OA, Zinich AV. Functional food market analysis: Russian and international aspects. Food Processing: Techniques and Technology. 2022;52(4):775–786. (In Russ.). https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-4-2405

2. Burakova EV. Optimization of enriching technology for cooked sausages with biologically active micronutrients. Izvestiya Vuzov. Food Technology. 2020;385(1):11–15. (In Russ.). https://doi.org/10.26297/0579-3009.2022.1.2

3. Giro TM, Kozlov SV, Gorlov IF, Kulikovskii AV, Giro AV, Slozhenkina MI, *et al.* Biomedical evaluation of antioxidant properties of lamb meat enriched with iodine and selenium. Open Life Sciences. 2022;17(1):180–188. https://doi.org/10.1515/biol-2022-0020

4. Klychenkov SV, Kruchinina AD. Antibacterial properties of beekeeping products. EurasiaScience: Collected Papers XII International Scientific-Practical conference; 2017; Moscow. Moscow: Actualnost.RF; 2017. p. 22–24. (In Russ.). [Клыченков С. В., Кручинина А. Д. Антибактериальные свойства продуктов пчеловодства // EurasiaScience: Сборник статей XII международной научно-практической конференции. М., 2017. С. 22–24.]. https://elibrary.ru/XNWXVU

5. Shavrina DI, Nesterova NV, Nesterova OV, Birukova NV, Iaroshenko AA. Studying possibilities of using beebread in medicine with the follow-up development of a means to improve immunity. RUDN Journal of Medicine. 2019;23(4): 412–417. (In Russ.). https://doi.org/10.22363/2313-0245-2019-23-4-412-417

6. Barbieri D, Gabriele M, Summa M, Colosimo R, Leonardi D, Domenici V. Antioxidant, nutraceutical properties, and fluorescence spectral profiles of bee pollen samples from different botanical origins. Antioxidants. 2020;9(10). https://doi.org/10.3390/antiox9101001

7. Mărgăoan R, Stranț M, Varadi A, Topal E, Yücel B, Cornea-Cipcigan M, *et al.* Bee collected pollen and bee bread: Bioactive constituents and health benefits. Antioxidants. 2019;8(12). https://doi.org/10.3390/antiox8120568

8. Dranca F, Ursachi F, Oroian M. Bee bread: Physicochemical characterization and phenolic content extraction optimization. Foods. 2020;9(10). https://doi.org/10.3390/foods9101358

9. Olas B. Bee products as interesting natural agents for the prevention and treatment of common cardiovascular diseases. Nutrients. 2022;14(11). https://doi.org/10.3390/nu14112267

10. Sukhov MA, Giro TM. Jerky snacks enriched with vitamin-mineral complex. Meat Industry. 2021;(3):36–40. (In Russ.). https://doi.org/10.37861/2618-8252-2021-03-36-40

11. Sukhov MA, Giro TM. Development of technology for meat products enriched with essential trace elements. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. 2021;640. https://doi.org/10.1088/1755-1315/640/3/032032

12. Fatyanov EV, Avylov ChK, Aleinikov AK, Evteev AV, Mokretsov IV. Study of changes in physical and chemical parameters in the production of meat snacks. The Agrarian Scientific Journal. 2022;(10):116–120. (In Russ.). https://doi.org/10.28983/asj.y2022i10pp116-120

13. Elmas F, Bodruk A, Köprüalan Ö, Arikaya S, Koca N, Serdaroglu FM, *et al.* The effect of pre-drying methods on physicochemical, textural and sensory characteristics on puff dried Turkey breast meat. LWT. 2021;145. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111350

14. Ghosh S, Gillis A, Levkov K, Vitkin E, Golberg A. Saving energy on meat air convection drying with pulsed electric field coupled to mechanical press water removal. Innovative Food Science and Emerging Technologies. 2020;66. https://doi.org/10.1016/j.ifset.2020.102509

15. Lisitsyn AB, Chernukha IM, Nikitina MA. Russian methodology for designing multicomponent foods in retrospect. Foods and Raw Materials. 2020;8(1):2–11. https://doi.org/10.21603/2308-4057-2020-1-2-11

16. Staroverov SA, Kozlov SV, Brovko FA, Fursova KK, Shardin VV, Fomin AS, *et al.* Phage antibodies against heat shock proteins as tools for *in vitro* cancer diagnosis. Biosensors and Bioelectronics: X. 2022;11. https://doi.org/10.1016/j.biosx.2022.100211

17. Krasochko PA, Moroz DN, Ponaskov MA, Kolesnikovich KV. Toxicology study of a new feed based on modified bee-bread. Bulletin of Altai State Agricultural University. 2020;186(4):77–85. (In Russ.). [Токсическое исследование нового корма на основе модифицированной пчелиной перги / П. А. Красочко [и др.] // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. 2020. Т. 186. № 4. С. 77–85.]. https://www.elibrary.ru/ADKDXD

18. Ispirli H, Dertli E. Detection of fructophilic lactic acid bacteria (FLAB) in bee bread and bee pollen samples and determination of their functional roles. Journal of Food Processing and Preservation. 2021;45(5). https://doi.org/10.1111/jfpp.15414

19. Suleiman JB, Mohamed M, Abu Bakar AB, Nna VU, Zakaria Z, Othman ZA, *et al.* Chemical profile, antioxidant properties and antimicrobial activities of Malaysian *Heterotrigona itama* bee bread. Molecules. 2021;26(16). https://doi.org/10.3390/molecules26164943

20. Bakour M, Laaroussi H, Ousaaid D, El Ghouizi A, Es-Safi I, Mechchate Hamza, *et al.* Bee bread as a promising source of bioactive molecules and functional properties: An up-to-date review. Antibiotics. 2022;11(2). https://doi.org/10.3390/antibiotics11020203

21. Khalifa SAM, Elashal M, Kieliszek M, Ghazala NE, Farag MA, Saeed A, *et al.* Recent insights into chemical and pharmacological studies of bee bread. Trends in Food Science and Technology. 2020;97:300–316. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.08.021

22. Pavelková A, Haščík P, Kalafová A, Capcarová M, Čuboň J, Bučko O, *et al.* Chemical composition of muscle after bee bread application in the nutrition of Japanese quails. Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences. 2020;9(4):831–835. https://doi.org/10.15414/jmbfs.2020.9.4.831-835

23. Li Z, Huang Q, Liu Y, Peng C, Zeng Z. Natural bee bread positively regulates lipid metabolism in rats. International Journal of Agricultural Science and Food Technology. 2021;7(3):266–271. https://doi.org/10.17352/2455-815X.000118

24. Krasnikova ES, Kozlov SV, Krasnikov AV, Belyakova AS, Radionov RV. The dynamics of humoral immunity factors in rats under experimental BLV infection. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. 2021;677. https://doi.org/10.1088/1755-1315/677/3/032114

25. Ziruk IV, Rysmukhambetova GE, Beloglazova KE, Kopchekchi ME, Tarasova AA. Effect of food additive E415 on the microstructure of rat liver. Agrarian Science. 2021;(10):14–16. (In Russ.). https://doi.org/10.32634/0869-8155-2021-353-10-14-16

26. Aylanc V, Tomás A, Russo-Almeida P, Falcão SI, Vilas-Boas M. Assessment of bioactive compounds under simulated gastrointestinal digestion of bee pollen and bee bread: Bioaccessibility and antioxidant activity. Antioxidants. 2021;10(5). https://doi.org/10.3390/antiox10050651

27. Zakaria Z, Othman ZA, Suleiman JB, Mustaffa KMF, Jalil NAC, Ghazali WSW, *et al.* Therapeutic effects of *Heterotrigona itama* (stingless bee) bee bread in improving hepatic lipid metabolism through the activation of the Keap1/Nrf2 signaling pathway in an obese rat model. Antioxidants. 2022;11(11). https://doi.org/10.3390/antiox11112190