

Физиология, биохимия и питание

УДК 636.2:636.084/.087:591.147:591.111.05

doi: 10.15389/agrobiolgy.2013.6.70rus

ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ИНСУЛЯРНОГО АППАРАТА ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ У БЫЧКОВ В СВЯЗИ С ФАКТОРАМИ ЛИПИДНОГО ПИТАНИЯ**В.А. МАТВЕЕВ, А.В. НОВОСЕЛОВ**

Инсулин играет ключевую роль в контроле роста у животных. Метаболиты, образующиеся в процессе обмена веществ или всасывающиеся из желудочно-кишечного тракта после переваривания пищи, могут влиять на интенсивность синтеза и секреции инсулина. У крупного рогатого скота наблюдается стимуляция выделения гормона, которая зависит от рациона животных и не связана с изменением концентрации глюкозы, в связи с чем жвачные животные представляют собой удобную модель для изучения механизмов синтеза и секреции инсулина. На бычках холмогорской породы с живой массой 240-250 кг исследовали влияние скармливания липидных добавок на концентрацию в крови инсулина, глюкозы, мочевины и свободных жирных кислот. Установили, что липиды в составе подсолнечного, льняного масла и кормовой добавки Бергафат Т-300 (Россия) не оказывают влияния на концентрацию инсулина в плазме крови у бычков. Кормовая добавка для лактирующих коров Бергафат Т-300 представляет собой фракционированное пальмовое масло с удаленными ненасыщенными жирными кислотами, то есть в его состав входят преимущественно насыщенные жирные кислоты, в частности пальмитиновая кислота. Конъюгированная линолевая кислота в составе коммерческого препарата Лута-CLA («BASF», Германия), повышает содержание инсулина в плазме крови. В этой кормовой добавке линолевая кислота защищена от воздействия микрофлоры в рубце жвачных животных. Без существенных изменений после всасывания в кишечнике она поступает в метаболический пул и тормозит интенсивность процессов липогенеза в секреторных клетках молочной железы. Мы предполагаем, что это действие связано с регуляцией содержания инсулина в крови у животных. Таким образом, свободные жирные кислоты не являются физиологическим индуктором секреции инсулина у жвачных животных после приема корма.

Ключевые слова: жвачные, инсулин, биосинтез, секреция, механизм регуляции секреции, липидное питание.

Инсулин участвует в регуляции метаболизма углеводов, липидов и белков, усиливает аппетит и играет ключевую роль в контроле роста у животных (1-3). Он увеличивает транспорт глюкозы, аминокислот, жирных кислот, нуклеотидов и ионов через мембрану клетки, стимулирует синтез гликогена, белков, триглицеридов, повышает интенсивность гликолиза, но тормозит глюконеогенез, гликогенолиз, протеолиз и липолиз. Эти биологические свойства инсулина позволяют отнести его к анаболическим гормонам. Секреция инсулина минимальна при голодании, мышечной и нервной нагрузке и других формах стресса, а также при росте потребности в использовании углеводов и жиров и максимальна после приема пищи (4).

Метаболиты, образующиеся в процессе обмена веществ или всасывающиеся из желудочно-кишечного тракта после переваривания пищи, могут влиять на интенсивность синтеза и секреции инсулина. Показано, что эффекты метаболитов на секреторную активность β -клеток поджелудочной железы — результат их прямого взаимодействия с клеточными мембранами железистых клеток (5). Глюкоза и другие метаболиты, включая некоторые аминокислоты и жирные кислоты, транспортируются в β -клетки островков Лангерганса, где образуется АТФ. Считается, что усиление продукции АТФ обеспечивает стимул для начала секреции инсулина (5).

У человека и моногастричных животных ведущим регулятором активности инсулярного аппарата служит глюкоза (2, 6, 7). По изменению ее содержания или одновременно по динамике концентрации глюкозы и инсулина в крови до и после приема пищи принято оценивать функцио-

нальное состояние инсулярного аппарата — его способность к синтезу и выделению инсулина. У жвачных животных в результате ферментации углеводов микрофлорой рубца глюкоза поступает из желудочно-кишечного тракта в метаболический пул в небольшом количестве, и ее содержание в крови после приема корма обычно не изменяется. Однако у крупного рогатого скота наблюдается значительное увеличение концентрации инсулина в крови после приема корма — постпрандиальная стимуляция выделения гормона, которая зависит от рациона животных (8, 9) и не связана с изменением концентрации глюкозы (10). В связи с этим жвачные животные представляют собой удобную модель для изучения механизмов синтеза и секреции инсулина (11).

У жвачных в результате переваривания белков, углеводов и липидов из желудочно-кишечного тракта в кровь поступают аминокислоты и жирные кислоты. Результаты экспериментов *in vitro* и *in vivo* показали, что пропионат, бутират и валерат могут стимулировать выделение инсулина из поджелудочной железы жвачных животных. Ацетат — основная летучая жирная кислота в периферической крови такого действия не оказывает (12-14). Другие исследователи не разделяют мнения о роли пропионата и других летучих жирных кислот в регуляции секреции инсулина (8, 9). Ранее мы показали, что динамика изменения концентрации пропионата и аминокислот в крови у бычков после приема корма не совпадает по времени с увеличением концентрации инсулина (10). Из этого следует, что летучие жирные кислоты не играют существенной роли в физиологическом механизме регуляции синтеза и секреции инсулина.

У человека глюкоза, поступающая в кровь из желудочно-кишечного тракта, способствует более значительному высвобождению инсулина из β -клеток поджелудочной железы и увеличению содержания инсулина в сыворотке крови по сравнению с тем же количеством глюкозы, но введенной внутривенно (15). Аналогичные данные получены нами в опытах на бычках (10). Поступившая в желудочно-кишечный тракт глюкоза стимулирует секрецию инсулина не только через повышение ее концентрации в крови, но и посредством активации механизма, включающего секрецию ряда гормонов желудочно-кишечного тракта: гастрин, секретин, панкреозимин, глюкагон, желудочного ингибиторного полипептида, глюкозозависимого инсулинотропного пептида и различных нейромедиаторов (ацетилхолин, вазоактивный интестинальный пептид, холецистокинин, глюкагоноподобный пептид). Перечисленные гормоны и медиаторы обуславливают так называемые энтероинсулярные стимулы секреции инсулина. Следует отметить, что их значение второстепенно: основными служат «пищевые» стимулы.

Дополнительное образование инсулина и его выделение после кормления стимулируют аминокислоты, особенно лейцин и аргинин, жирные кислоты, ионы калия и кальция, некоторые гормоны гастроэнтеропанкреатической системы, холецистокинин, гастроингибирующий пептид, гормоны общего действия (глюкагон, кортикотропин, соматотропин, эстрогены и др.), а также препараты сульфаниламочевин (5). β -Клетки находятся под влиянием автономной нервной системы: парасимпатическая часть (холинергические окончания блуждающего нерва) стимулирует выделение инсулина, симпатическая (активация β -2-адренорецепторов) — подавляет его выделение.

В растительных кормах в достаточно большом количестве содержатся ненасыщенные жирные кислоты. В рубце жвачных под воздействием микрофлоры они превращаются в насыщенные жирные кислоты (стеа-

риновую или пальмитиновую), которые поступают в метаболический пул и используются в обменных процессах (16). Жирнокислотный состав липидов из разных кормовых источников может существенно различаться (17). В ряде кормов содержится преимущественно линолевая кислота (масло подсолнечное — 18,3-74,0 %; масло соевое — 49,8-57,1 %; масло кукурузное — 34,0-62,0 % от общего количества липидов). В составе липидов пальмового масла доминирует ненасыщенная олеиновая кислота.

С биологической точки зрения большой интерес представляет льняное масло, в состав липидов которого входит преимущественно линоленовая кислота — предшественник для образования простагландинов, играющих существенную роль в гормональной регуляции обмена веществ. В рубце жвачных животных линолевая кислота превращается в конъюгированную линолевою кислоту и в таком виде поступает в метаболический пул. Конъюгированная линолевая кислота — биологически активное вещество, на основе которого разработан ряд кормовых добавок для регуляции обмена веществ и биосинтеза компонентов молока у коров, например, препарат Лута-CLA («BASF», Германия). В этой кормовой добавке конъюгированная линолевая кислота защищена от воздействия микрофлоры в рубце жвачных животных. Без существенных изменений после всасывания в кишечнике она поступает в метаболический пул организма коров и тормозит интенсивность процессов липогенеза в секреторных клетках молочной железы. Мы предполагаем, что это действие связано с регуляцией содержания инсулина в крови у животных.

В настоящее время появилась кормовая добавка для лактирующих коров Бергафат Т-300 (Россия), которая представляет собой фракционированное пальмовое масло с удаленными ненасыщенными жирными кислотами, то есть в его состав входят преимущественно насыщенные жирные кислоты, в частности пальмитиновая кислота.

Целью настоящей работы стало изучение роли липидов в регуляции синтеза и инкреции инсулина у молодняка крупного рогатого скота.

Методика. Объектом исследований служили бычки холмогорской породы с живой массой 240-250 кг, содержащиеся на привязи в виварии Всероссийского НИИ физиологии, биохимии и питания сельскохозяйственных животных. Кормление животных двухразовое, индивидуальное. Потребление корма учитывали ежедневно. Животные получали рацион, сбалансированный по питательным веществам согласно существующим нормам и обеспечивающий среднесуточный прирост 1200-1400 г (16). В состав рациона входило сено из козлятника восточного, силос вико-овсяный и комбикорм в количестве 55-60 % по обменной энергии. Бычков ежемесячно взвешивали перед утренним кормлением в течение двух смежных суток. По принципу парных аналогов с учетом живой массы и интенсивности роста животных распределили на две группы (по 3 гол.). Все исследования выполняли на одних и тех же животных. Бычки I (контрольной) группы содержались на обычном рационе, животные II (опытной) группы получали добавки при каждом кормлении к разовой порции комбикорма.

В опыте 1 бычки получали коммерческий препарат Лута-CLA («BASF», Германия) (суточная доза 0,1 г на 1 кг живой массы), содержащий защищенную ненасыщенную конъюгированную линолевою кислоту — цис-9-транс-11-линолевою кислоту (октадекадиеновая, C_{18:2}). Продолжительность эксперимента составляла 38 сут. В начале и конце опыта всех бычков взвесили. В опыте 2 к комбикорму добавляли подсолнечное масло (100 мл на 1 гол./сут), в состав которого входит незащищенная ненасыщенная линолевая кислота (октадекадиеновая, C_{18:2}). В опыте 3 при каж-

дом кормления животным давали льняное масло (150 мл на 1 гол/сут), содержащее незащищенную ненасыщенную линоленовую кислоту (октадекатриеновая, C_{18:3}). Продолжительность второго и третьего опытов — по 7 сут. В опыте 4 бычки получали кормовую добавку Бергафат Т-300 (Россия) (доза 200 г на 1 гол/сут), в состав которой входит насыщенная пальмитиновая кислота (гексадекановая, C_{16:0}). Продолжительность этой серии исследований — 65 сут.

Кровь отбирали в конце каждого эксперимента из яремной вены до утреннего кормления и через 1 и 3 ч после приема корма. Концентрацию инсулина определяли иммуноферментным методом с применением готовых коммерческих наборов («DRG», Германия), содержание мочевины — с помощью тест-системы («БИО-Ла-ТЕСТ», Чешская Республика). Другие показатели оценивали с использованием собственных тест-систем: содержание глюкозы — глюкозооксидазным методом (18), количество свободных жирных кислот (исследовали только в четвертом опыте) — колориметрически (20).

Математическую обработку данных проводили стандартными биометрическими методами (21).

Результаты. При скармливании бычкам вместе с кормом конъюгированной линолевой кислоты наблюдалось увеличение концентрации инсулина в плазме крови. Через 1 ч после приема корма этот показатель у животных II группы был на 36,7 % выше, чем в контроле (табл.), что свидетельствует об индукции секреции инсулина. Содержание глюкозы и мочевины существенно не различалось у бычков контрольной и опытной групп (см. табл.).

Концентрация инсулина и свободных жирных кислот в плазме крови, а также содержание глюкозы и мочевины в цельной крови у бычков холмогорской породы при введении в рацион липидных добавок ($M \pm m$; виварий Всероссийского НИИ физиологии, биохимии и питания сельскохозяйственных животных)

Показатель	Группа	Время после приема корма, ч		
		0	1	3
Опыт 1				
Инсулин, мкед/мл	I	8,03±1,24	13,13±0,89	9,09±1,46
	II	9,00±0,33	17,94±1,67	10,35±0,78
	К контролю, %	112,1	136,7	113,9
Глюкоза, ммоль/л	I	4,24±0,16	3,92±0,03	4,12±0,08
	II	3,99±0,06	4,00±0,02	4,06±0,11
	К контролю, %	94,1	102,0	98,7
Мочевина, ммоль/л	I	3,18±0,29	3,91±0,30	3,81±0,59
	II	3,13±0,16	3,93±0,11	3,59±0,13
	К контролю, %	98,4	100,6	94,4
Опыт 2				
Инсулин, мкед/мл	I	9,22±5,32	20,26±11,70	16,86±9,74
	II	9,58±1,13	21,15±1,48	16,62±2,32
	К контролю, %	104,0	104,4	98,5
Глюкоза, ммоль/л	I	3,49±0,08	3,66±0,01	3,57±0,06
	II	3,40±0,07	3,16±0,01	3,31±0,03
	К контролю, %	97,4	86,3*	92,7*
Мочевина, ммоль/л	I	3,71±0,16	4,40±0,11	5,79±0,16
	II	3,26±0,16	4,25±0,24	5,69±0,33
	К контролю, %	88,1	96,6	98,3
Опыт 3				
Инсулин, мкед/мл	I	10,98±0,95	18,97±4,42	12,74±1,87
	II	12,09±1,16	21,24±1,63	14,33±0,65
	К контролю, %	110,1	112,0	112,5
Глюкоза, ммоль/л	I	2,64±0,04	2,69±0,03	2,96±0,05
	II	2,68±0,05	2,58±0,02	3,04±0,01
	К контролю, %	101,5	95,9	102,7

Продолжение таблицы

Мочевина, ммоль/л	I	3,47±0,49	3,76±0,33	4,20±0,28
	II	3,34±0,09	3,54±0,12	4,15±0,14
	К контролю, %	96,2	94,1	98,8
О п ы т 4				
Инсулин, мкед/мл	I	13,29±0,67	22,18±4,79	24,49±5,35
	II	13,31±0,93	26,49±4,72	17,71±3,80
	К контролю, %	100,1	119,4	72,3
Свободные жирные кислоты, ммоль/л	I	0,142±0,01	0,178±0,01	0,708±0,01
	II	0,145±0,06	0,191±0,01	0,723±0,04
	К контролю, %	102,1	107,3	102,1
Глюкоза, ммоль/л	I	3,44±0,01	2,80±0,01	3,23±0,04
	II	3,44±0,01	2,73±0,02	3,07±0,01
	К контролю, %	100,0	97,5	95,0
Мочевина, ммоль/л	I	4,54±0,14	5,65±0,28	6,03±0,17
	II	5,13±0,43	6,18±0,49	6,60±0,56
	К контролю, %	113,0	109,4	109,4

П р и м е ч а н и е. Описание опытов и групп см. в разделе «Методика».

* $P \leq 0,05$.

Среднесуточный прирост живой массы особей в опыте 1 в контрольной и опытной группах составил соответственно 1482 ± 61 и 1596 ± 72 г. Количество линолевой кислоты, которое получали бычки, в энергетическом эквиваленте составляло небольшой процент от обменной энергии рациона. Увеличение интенсивности роста бычков при скармливании им конъюгированной линолевой кислоты объясняется ее влиянием на регуляторные системы организма и, в частности, повышением функциональной активности инсулярного аппарата поджелудочной железы.

Добавление в рацион подсолнечного масла не оказывало влияния на содержание инсулина в плазме крови у бычков (см. табл.), то есть ненасыщенная линолевая кислота не была индуктором синтеза и инкреции этого гормона после приема корма. Через 1 ч после кормления у животных опытной группы концентрация глюкозы в крови оказалась на 13,9 % меньше по сравнению с контролем ($P < 0,05$). Постпрандиальный подъем инсулина в плазме крови бычков в этот период не был связан с изменением содержания глюкозы. У животных II группы более низкое содержание глюкозы сохранялось и через 3 ч после приема корма. Концентрация мочевины в крови у бычков не зависела от скармливания им подсолнечного нерафинированного масла.

Включение в рацион льняного масла не влияло на содержание инсулина, глюкозы и мочевины в крови у животных (см. табл.). Как и в опыте 2, через 1 ч после приема корма у бычков из II группы наблюдалось снижение концентрации глюкозы (на 4,2 % по сравнению с контролем), что, по-видимому, связано с усилением использования этого вещества клетками стенки желудочно-кишечного тракта для обеспечения процессов пищеварения.

При скармливании препарата Бергафат Т-300 среднесуточный прирост живой массы в контроле составил 952 ± 124 , в опытной группе — 1071 ± 74 г, то есть интенсивность роста бычков повысилась на 12,5 % (поскольку в других сериях эксперимента продолжительность наблюдений составила всего 7 сут, прирост массы не учитывали).

Через 1 и 3 ч после приема корма концентрация инсулина в плазме крови у бычков разных групп существенно не различалась (см. табл.). При этом через 1 ч у всех животных наблюдался значительный подъем содержания гормона. Концентрация глюкозы у животных из обеих групп через 1 и 3 ч после приема корма снижалась. Следовательно, в этих условиях доля глюкозы в крови не служит физиологическим индуктором роста концентрации инсулина после приема корма.

Увеличение доли жира в составе обменной энергии в рационе у бычков не оказало существенного влияния на параметры углеводного обмена. Концентрация глюкозы в крови определяется соотношением интенсивности ее поступления из пищеварительной системы, скорости выделения из клеток печени в процессе глюконеогенеза и интенсивности использования в органах и тканях. В нашем опыте после приема корма интенсивность потребления глюкозы клетками тканей значительно превышала скорость ее поступления в метаболический пул.

Доля свободных жирных кислот в крови у бычков обеих групп значительно увеличивалась через 3 ч после приема корма. Не установлено достоверной связи между концентрацией инсулина и свободных жирных кислот в плазме крови (коэффициент корреляции $< 0,3$). Свободные жирные кислоты не были физиологическим регулятором постпрандиальной секреции инсулина.

Во всех экспериментах наблюдалась типичная динамика концентрации мочевины в крови (см. табл.). Так, в опыте 4 через 1 ч после приема корма этот показатель у животных обеих групп в среднем достоверно увеличился на 20,5-24,4 %. В результате протеолиза белков корма микроорганизмами образуется аммиак, который частично всасывается и, поступая в метаболический пул, в конечном итоге обеспечивает увеличение образования мочевины в печени и повышение ее концентрации в крови после приема корма. Введение в рацион жира не оказывало существенного влияния на интенсивность протеолиза в рубце.

Таким образом, традиционные липидные компоненты корма, за исключением конъюгированной линолевой кислоты, и свободные жирные кислоты, поступающие после переваривания липидов из пищеварительной системы в метаболический пул, не оказывают влияния на постпрандиальное увеличение секреции инсулина у жвачных животных.

ГНУ Всероссийский НИИ физиологии, биохимии и питания сельскохозяйственных животных Россельхозакадемии,
249013 Россия, Калужская обл., г. Боровск, ВНИИФБиП,
e-mail: valmat46@yandex.ru

Поступила в редакцию
24 января 2012 года

Sel'skokhozyaistvennaya biologiya [Agricultural Biology], 2013, № 6, pp. 70-76

PANCREATIC INSULAR FUNCTION IN STEERS AS RELATED TO THE FACTORS OF LIPID FEEDING

V.A. Matveev, A.V. Novoselov

All-Russian Research Institute of Physiology, Biochemistry and Nutrition of Farm Animals, Russian Academy of Agricultural Sciences, VNIIFBiP, Borovsk, Kaluga Province, 249013 Russia, e-mail valmat46@yandex.ru
Received January 24, 2012

doi: 10.15389/agrobiology.2013.6.70eng

Abstract

Insulin is a key factor in control of animal growth. The substrates, produced in the course of metabolic exchange, or nutrients penetrating through the gastrointestinal tract after digestion affect the insulin synthesis and secretion. In cattle, the insulin stimulation depends on an animal diet but not on the glucose concentration. That is why the ruminants are a suitable model for investigation of the mechanisms of insulin synthesis and secretion. On the steers of Kholmogor breed with the living mass of 240-250 kg we studied the influence of lipid additives to the blood concentration of insulin, glucose, urea and free fatty acids. The lipids of sunflower and flax oils, and the feed additive Bergafat T-300 (Russia) were shown not to change the insulin concentration in blood plasma. Bergafat T-300, recommended for lactating cows, consists of fractionated palm oil free of unsaturated fatty acids, and contains mainly the saturated fatty acids, in particular, the palmitic acid. In contrary, conjugated linoleic acid, an ingredient of the Luta-CLA commercial additive preparation («BASF», Germany), increased the insulin concentration in blood plasma and, as a result, the growth of animals fed with Luta-CLA. In this additive the linoleic acids is protected from microbial degradation in the paunch of ruminants. After involving into the animal metabolism, it could depress the lipogenesis, presumably

through regulation of blood insulin content. So, free fatty acids are unable to be a physiological inductor for insulin secretion in ruminants after feeding.

Keywords: ruminant, insulin, biosynthesis, secretion, mechanism of regulation of secretion, lipid nutrition.

REFERENCES

1. Zelenov Yu.N. *Uchenye zapiski Kazanskoi gosudarstvennoi akademii veterinarnoi meditsiny imeni N.E. Baumana «Osobennosti fiziologicheskikh funktsii zivotnykh v svyazi s vozrastom, sostavom ratsiona, produktivnost'yu, ekologiei i etologiei»*. Kazan', 2006, 185: 111-119.
2. Maksimyuk N.N., Skopichev V.G. *Fiziologiya kormleniya zivotnykh: Teorii pi-taniya, priem korma, osobennosti pishchevareniya* [Physiology of animal alimentation: the concepts of feeding, fodder intake and digestion]. St. Petersburg, 2004.
3. Shamberev Yu.N. *Materialy II Mezhdunarodnoi konferentsii «Aktual'nye problemy biologii v zivotnovodstve»* [Actual problems of biology in animal husbandry (Proc. II Int. Conf.)]. Borovsk, 1997: 190-200.
4. Rozen V.B. *Osnovy endokrinologii. Uchebnoe posobie, 3-e izdanie, pererabotannoe i dopolnennoe* [Fundamental endocrinology]. Moscow, 1994.
5. Klimin V.G., Chereshev V.A., Cheresheva M.V., Yushkov B.G. *Endokrinnyaya regulyatsiya fiziologicheskikh funktsii (Izbrannye razdely fiziologii)* [Endocrine regulation of physiological functions]. Ekaterinburg, 2001.
6. Galochkina V.P., Galochkin V.A. *Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya [Agricultural Biology]*, 2008, 6: 44-52.
7. Pankov Yu.A. *Problemy endokrinologii*, 2000, 46(2): 3-8.
8. Dhiman T.R., Nam S.H., Ure A.L. Factors affecting conjugated linoleic acid content in milk and meat. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 2005, 45(6): 463-482.
9. Pariza M.W., Park Y., Cook M.E. The biologically active isomers of conjugated linoleic acid. *Prog Lipid Res.* 2001, 40(4): 283-298.
10. Matveev V.A. *Osobennosti funktsional'nogo sostoyaniya endokrinnykh zhelez u krupnogo rogatogo skota v svyazi s vozrastom i produktivnost'yu. Avtoreferat doktorskoj dissertatsii* [Particular functional state of glandulae endocrinae in cattle as related to age and productivity (DSc Thesis)]. Dubrovitsy, 2001.
11. Matveev V.A. *Problemy biologii produktivnykh zivotnykh (Borovsk)*, 2007, 1: 62-71.
12. Manns J.G., Boda J.M. Effects of ovine growth hormone and prolactin on blood glucose, serum insulin, plasma nonesterified fatty acids and amino nitrogen in sheep. *Endocrinology*, 1965, 76: 1109-1114.
13. Manns J.G., Boda J.M., Willes R.F. Probable role of propionate and butyrate in control of insulin secretion in sheep. *Am. J. Physiol.*, 1967, 213: 756-764.
14. Horino M., Machlin L.J., Hertelendy F., Kipnis D.M. Effect of short-chain fatty acids on plasma insulin in ruminant and nonruminant species. *Endocrinology*, 1968, 83(1): 118-128.
15. Peter R.F., Clifford J.B. Molecular mechanisms of insulin secretion and insulin action. *J. of Biological Education*, 1991, 25: 1-17.
16. Aliev A.A. *Obmen veshchest u zhvachnykh zivotnykh* [Metabolism in ruminants]. Moscow, 1997.
17. *Zhiry v pitanii sel'skokhozyaistvennykh zivotnykh* /Pod redaktsiei A.A. Alieva [Fats in the farm animals nutrition. A.A. Aliev (ed.)]. Moscow, 1987.
18. *Normy i ratsiony kormleniya sel'skokhozyaistvennykh zivotnykh: spravochnoe posobie* /Pod red. A.P. Kalashnikova, V.I. Fisina, V.V. Shcheglova, N.I. Kleimenova [Norms and diets for farm animals. A.P. Kalashnikov, V.I. Fisina, V.V. Shcheglov, N.I. Kleimenov (eds.)]. Moscow, 2003.
19. Materikin A.M., Matveev V.A., Galochkina V.P., Martynova A.S., Semina N.N. *Metody analiza metabolitov i aktivnosti fermentov uglevodnogo obmena. Metody biokhimicheskogo analiza (spravochnoe posobie)* [Methods to analyze the metabolites and enzymes of carbohydrate metabolism]. Borovsk, 1997: 231-253.
20. Smith S.W. A new salting-out technique for colorimetric free fatty acid assays. *Analytical Biochemistry*, 1975, 67: 531-539.
21. Lakin G.F. *Biometriya. Uchebnoe posobie dlya biologicheskikh spetsializirovannykh vuzov* [Biometry]. Moscow, 1980.