

ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ПЕЧІНКИ КУРЕЙ-НЕСУЧОК ПІД ВПЛИВОМ ПЛЮМБУМУ АЦЕТАТУ ЗА АЛІМЕНТАРНОГО ХРОНІЧНОГО ТОКСИКОЗУ

*К. А. Лантєва**

Національний науковий центр «Інститут експериментальної
та клінічної ветеринарної медицини»

Вивчено вплив плюмбуму ацетату на показники функціонального стану печінки курей-несучок. Встановлено, що надходження токсиканту в дозах 75, 150 і 300 мг/кг корму, за умови хронічного експерименту, призводить до вірогідного зниження рівня загального білка, сечовини, сечової кислоти та індикаторних ферментів у сироватці крові курей-несучок усіх дослідних груп на 30, 60, 90 добу, а також через 14 діб після припинення введення плюмбуму ацетату з кормом.

Ключові слова: ПЛЮМБУМУ АЦЕТАТ, ХРОНІЧНИЙ, ТОКСИКОЗ, ПЕЧІНКА, ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН, КУРИ-НЕСУЧКИ

Актуальним питанням для сучасного птахівництва є проблема забруднення комбікормів для птиці сполуками важких металів, токсичність яких зумовлена пригніченням ферментних систем внаслідок блокування сульфгідрильних груп в активних центрах та високою здатністю до кумуляції в тканинах [1]. Токсичне ураження печінки є наслідком хронічної дії важких металів, більшість яких виявляють цитотоксичний ефект відносно гепатоцитів [2]. За літературними даними, систематична довготривала дія малих концентрацій плюмбуму на організм тварин призводить до ураження гепатобіліарної системи, що супроводжується деструктивними змінами клітинних мембран гепатоцитів та розладом жовчовидільної функції печінки [3, 4]. Встановлено, що важлива роль у біотрансформації ксенобіотиків належить мікросомальним ферментам печінки [5]. Результати експериментальних досліджень свідчать про гепатотропний ефект плюмбуму, що позначається на пригніченні протеосинтетичної функції печінки [6]. Діагностичне значення при отруєнні сполуками важких металів має визначення концентрації загального білка та активності індикаторних ферментів, вихід яких у кров зумовлений порушенням стану клітинної мембрани [7–9]. Вивченню механізмів негативного впливу плюмбуму на організм птиці присвячено багато робіт, однак залишається актуальним питання щодо функціональних змін, які виникають в організмі курей-несучок високопродуктивних кросів під впливом полютанту впродовж тривалого часу.

Отже, метою роботи було дослідити функціональний стан печінки курей-несучок під впливом плюмбуму ацетату за аліментарного хронічного токсикозу.

Матеріали і методи

Дослідження гепатотоксичної дії плюмбуму ацетату були проведені на курах-несучках кросу «Lohmann Brown» (n=80), віком 250 діб, продуктивністю 98 %, які утримувалися в умовах віварію відділу токсикології, безпеки та якості с.-г. продукції ННЦ «ІЕКВМ». До початку експерименту птицю протягом 14 діб для адаптації витримували в клітках на стандартному раціоні [10].

*Науковий курівник: доктор ветеринарних наук, професор, член-кореспондент НААН О. Т. Куцан

Для проведення досліджень було сформовано три дослідні і одну контрольну групи, по 20 курей у кожній ($n=20$). До початку дослідів тварин зважували, маркували. Птиці контрольної групи згодовували повнораціонний комбікорм. Птиці дослідних груп плюмбуму ацетат вводили щоденно з комбікормом у дозах (у перерахунку на метал): I група — 75 мг/кг корму, II група — 150 мг/кг корму, III група — 300 мг/кг корму, доступ до води не обмежували. Оцінку загального клінічного стану проводили щоденно один раз на добу [11]. Загальний термін експерименту становив 90 діб. Під час проведення досліджень дотримувалися принципів біоетики відповідно до вимог Європейської конвенції з захисту експериментальних тварин (86/609 ЄС) [12].

Відбір проб крові у курей-несучок для біохімічних досліджень проводили зажиттєво з підкрилової вени з використанням вакуумних пробірок Vacuette (Greiner, Австрія) через 30, 60, 90 діб, а також через 14 діб після припинення введення ксенобіотику до корму.

З метою оцінки функціонального стану печінки у сироватці крові курей-несучок визначали наступні показники: загальний білок турбодиметричним методом, сечовину діацетилмонооксимним методом, сечову кислоту — у реакції з фосфорновольфрамним реагентом [13], активність аланінамінотрансферази (АлАТ; К.Ф. 2.6.1.2) та аспартатамінотрансферази (АсАТ; К.Ф. 2.6.1.1) — за методом Райтмана-Френкеля [14, 15], гаммаглутамілтранспептидази (ГГТ; К.Ф. 2.3.2.2) [16] — за науково-виробничими наборами «Філісіт-Діагностика» (Україна). Результати біохімічних досліджень наведені у відповідності до Міжнародної системи одиниць, рекомендованої для використання в клінічній лабораторній практиці та статистично оброблені із застосуванням комп'ютерної програми STATISTICA 6.0 (StatSoft) для Windows [17]. Вірогідність розходжень між показниками оцінювали за критерієм Фішера.

Результати й обговорення

Клінічними дослідженнями було встановлено, що надходження плюмбуму ацетату з кормом протягом експерименту не викликало клінічних ознак отруєння у курей-несучок. Птиця дослідних груп через 30, 60 та 90 діб після введення токсиканту була рухливою, охоче приймала корм і воду, продуктивність птиці дослідних груп не відрізнялася від контрольної і складала 98 %.

Оцінюючи динаміку показників функціонального стану печінки курей-несучок, встановлено, що введення токсиканту до корму викликало вірогідне ($p<0,001$) зменшення концентрації загального білка на 30 та 60 добу в II та III дослідних групах (دوزи 150 мг/кг та 300 мг/кг корму) на 25,6 і 41,9 та 22,8 і 37,6 % відповідно, порівняно з показниками у контрольній групі. На 90 добу експерименту рівень білка зменшився в усіх дослідних групах ($p<0,001$) на 25,7; 45,2 і 51 % відповідно. Концентрація загального білка через 14 діб після припинення введення плюмбуму ацетату залишилася нижчою за контрольні показники в усіх дослідних групах на 14,4; 14,4 та 33,3 % відповідно. Розвиток диспротеїнозу може свідчити про порушення білоксинтезуючої функції печінки, зумовлене цитотоксичною дією металу на гепатоцити (рис. 1).

За результатами досліджень встановлено, що концентрація сечовини у сироватці крові курей-несучок усіх дослідних груп на 30 добу експерименту була в межах від $6,71\pm0,63$ до $8,21\pm0,25$ ммоль/л, порівняно з показниками у контролі — $7,29\pm0,47$ ммоль/л. На 60 та 90 добу дослідів рівень сечовини вірогідно підвищився у птиці II і III дослідних груп у 1,2 і 1,5 та 1,3 і 1,4 рази відповідно, порівняно з контрольними показниками. Через 14 діб після припинення введення токсиканту встановлено вірогідне ($p<0,05$) збільшення рівня сечовини у курей-несучок III дослідної групи у 1,3 рази відповідно до контролю (рис. 2). Відомо, що синтез сечовини у клітинах печінки є основним шляхом знешкодження аміаку, що утворюється в процесі дезамінування амінокислот, а визначення її концентрації у сироватці

крові є важливим діагностичним тестом для оцінки функціонального стану печінки та нирок. Слід зазначити, що утворення сечовини пов'язане із затратами значної кількості енергії. У зв'язку з цим зрозуміло, що за ураження гепатоцитів знижується утворення АТФ та порушується синтез сечовини. Таким чином, підвищення рівня сечовини у курей-несучок дослідних груп, які отримували плюмбуму ацетат у дозах 150 та 300 мг/кг корму протягом 60 та 90 діб, може свідчити про розвиток гепаторенального синдрому, внаслідок чого порушується синтез сечовини у печінці та фільтрація в проксимальних канальцях нирок, що призводить до підвищення її концентрації в сироватці крові.

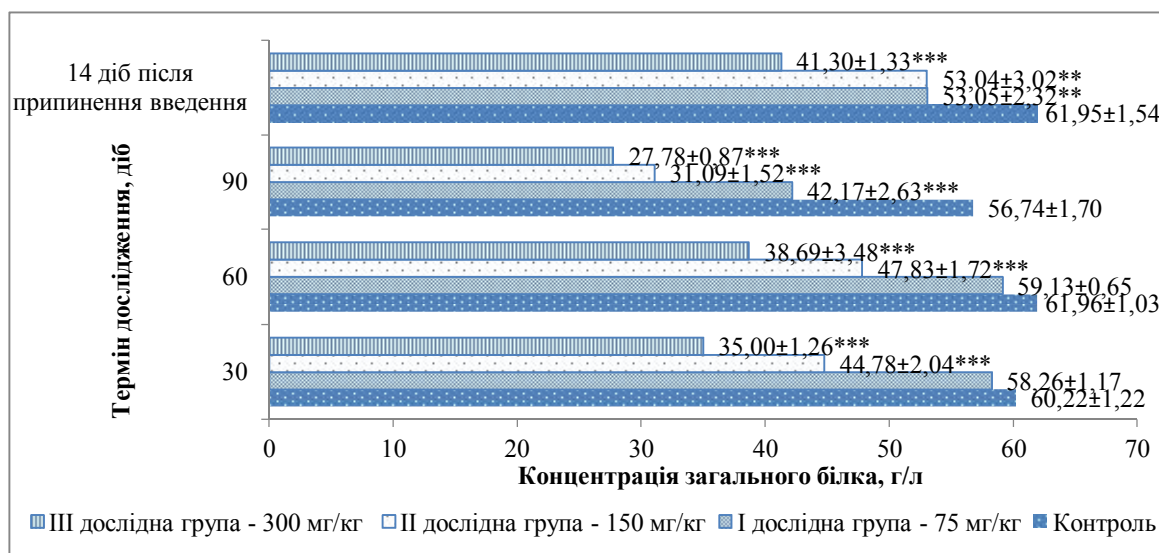


Рис. 1. Динаміка рівня загального білка в сироватці крові курей-несучок під впливом плюмбуму ацетату за аліментарного хронічного токсикозу ($M \pm m$, $n=20$)
Примітка: ** — $p < 0,01$, *** — $p < 0,001$ — відповідно до показника у контролі

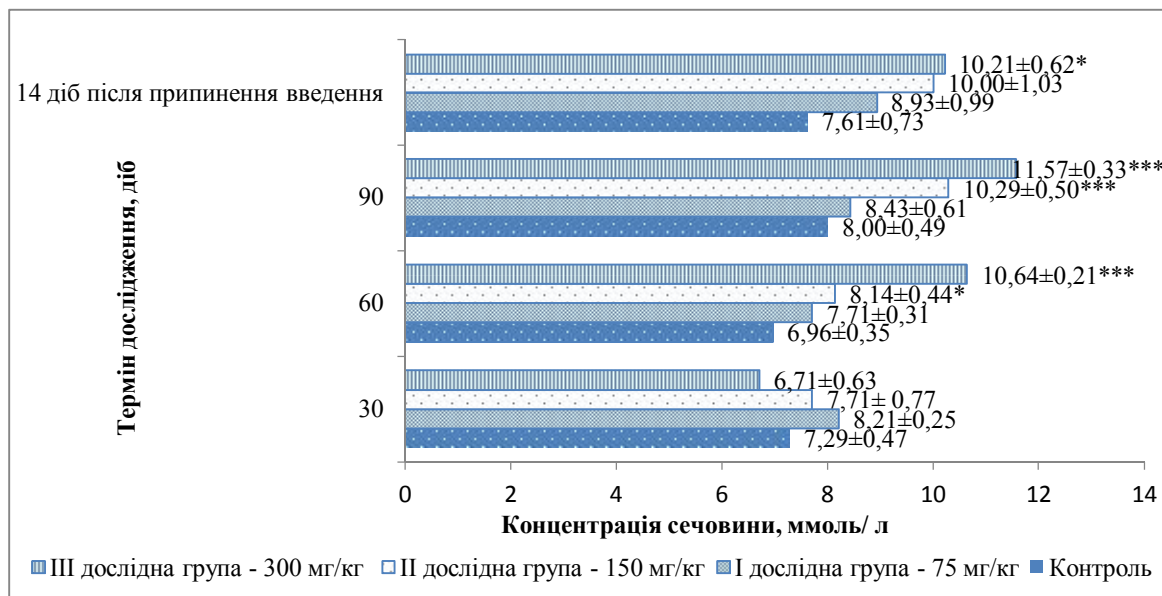


Рис. 2. Динаміка рівня сечовини у сироватці крові курей-несучок під впливом плюмбуму ацетату за аліментарного хронічного токсикозу ($M \pm m$, $n=20$)
Примітка: * — $p < 0,05$, ** — $p < 0,01$, *** — $p < 0,001$ — відповідно до показника у контролі

За результатами досліджень встановлено, що хронічна експозиція плумбуму ацетату спричинила вірогідне зниження рівня сечової кислоти, кінцевого продукту обміну білків у птиці. Так, на 30 добу експерименту концентрація у сироватці крові курей-несучок усіх дослідних груп (дозы 75, 150 і 300 мг/кг корму) знизилася на 18,6; 36,7 і 33,7 % відповідно, порівняно з контрольними показниками. Через 60 та 90 діб спостерігали гіпоурикемію у птиці I, II і III дослідних груп на 25,3; 37,1 і 45,9 % та 31,3; 37,5 і 39,1 % відповідно ($p < 0,001$). На 14 добу після припинення введення токсиканту рівень сечової кислоти залишився вірогідно нижчим за контрольні показники в усіх групах на 34,4; 27,9 і 26,9 відповідно (рис. 3).

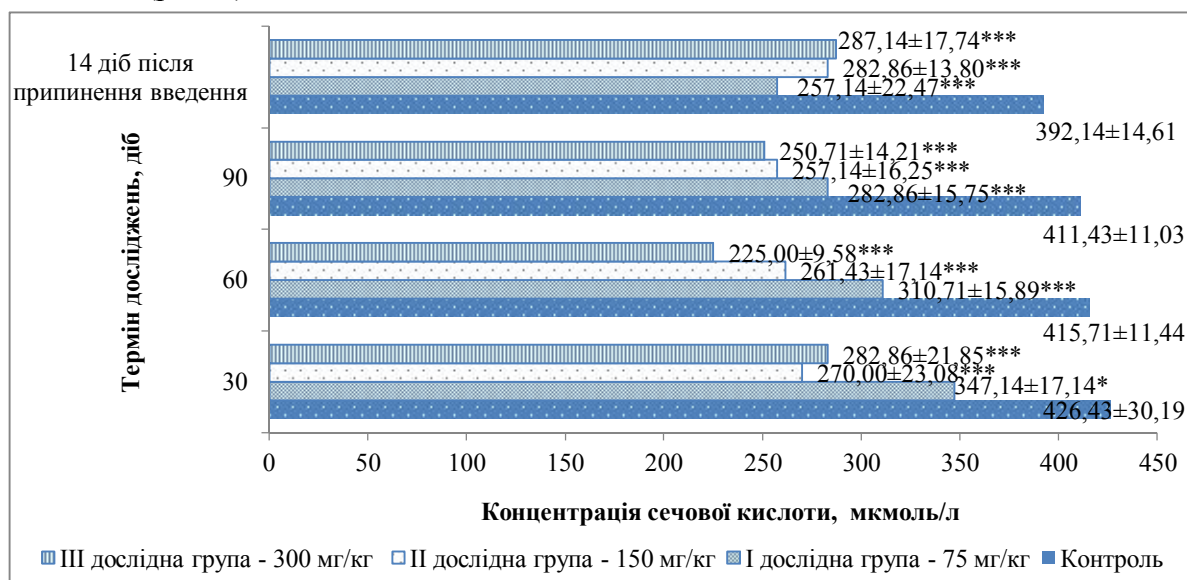


Рис. 3. Динаміка рівня сечової кислоти у сироватці крові курей-несучок під впливом плумбуму ацетату за аліментарного хронічного токсикозу ($M \pm m$, $n=20$)

Примітка: * — $p < 0,05$, *** — $p < 0,001$ — відповідно до показника у контролі

Оцінюючи характер змін активності індикаторних ферментів у сироватці крові курей-несучок за хронічного впливу плумбуму ацетату, встановлено вірогідне зниження АЛАТ на усіх термінах дослідження (табл.). На 30 добу активність ферменту у I і III дослідних групах була вірогідно ($p < 0,05$) нижчою за контрольні показники на 23,08 і 23,07 % відповідно. Через 60 діб відмічали зниження активності у птиці усіх дослідних груп (дозы 75, 150 і 300 мг/кг корму) на 30,6; 38,8 і 64,3 % відповідно. Введення токсиканту протягом 90 діб зумовило зниження активності АЛАТ у сироватці крові курей-несучок III дослідної групи на 66,3 %, порівняно з показниками у контролі. На 14 добу після припинення введення відмічали зниження активності у птиці II і III дослідних груп на 50 і 71 % відповідно ($p < 0,001$).

За експериментальними даними, активність АсАТ на 30 добу досліді вірогідно знизилася у курей-несучок III дослідної групи на 78,9 % відносно контролю ($p < 0,01$). Через 60 та 90 діб відмічали зниження активності ферменту у птиці II дослідної групи (доза 150 мг/кг корму) на 18,8 і 28,1 % відповідно ($p < 0,01$), III дослідної групи (доза 300 мг/кг корму) — на 29,9 і 34,9 % відповідно ($p < 0,001$). На 14 добу після припинення введення встановлено вірогідне зниження активності АсАТ у птиці усіх дослідних груп на 17,9; 22,1 і 24,6 % відповідно до контролю.

Вивчаючи динаміку активності ГГТ, секреторного ензиму, який локалізується здебільшого в печінці, встановлено вірогідне його зниження протягом всього дослідного періоду. Так, рівень вірогідно ($p < 0,01$) знизився у птиці III дослідної групи на 30 добу в 1,3 рази порівняно з показниками у контролі. Через 60 діб активність ГГТ була

вірогідно ($p < 0,001$) нижчою у дослідних групах у 1,3; 1,4 і 1,5 раза. Введення плюмбуму ацетату з кормом протягом 90 діб у дозах 75, 150 і 300 мг/кг корму спричинило зниження активності у 1,2; 1,9 і 4,9 раза відповідно. Оцінюючи активність ГГТ на 14 добу після припинення введення токсиканту, встановлено підвищення в усіх дослідних групах, порівняно з показниками за попередній термін дослідження, але значення залишилися вірогідно нижчими за контроль у 1,2; 1,5 і 1,9 раза. Оскільки, за проведеними нами гістологічними дослідженнями встановлено, що ацетат плюмбуму за матеріальної кумуляції призводить до змін гістоморфологічної структури печінки у курей-несучок, а саме: до порушення балочної структури печінки, диспротеїнозу та некрозу, то гіпоферментемія зумовлена значним зменшенням кількості гепатоцитів, які здатні синтезувати індикаторні ферменти, що вказує на порушення функціонального стану печінки.

Таблиця

Активність індикаторних ферментів у сироватці крові курей-несучок за тривалого надходження плюмбуму ацетату з кормом ($M \pm m$, $n=20$)

Дослідні групи (دوزи)	Термін дослідження, діб			
	30	60	90	14 після припинення введення
<i>АлАТ, нмоль/с×л</i>				
Контроль	144,56 ± 7,09	136,22±11,96	127,88±17,25	139,00±11,63
I (75 мг/кг)	111,20 ±11,63*	94,52±13,48*	136,22±11,96	105,64±13,62
II (150 мг/кг)	119,54±12,89	83,40±17,02**	105,64±1,29	69,50±15,85***
III (300 мг/кг)	111,20±12,43*	48,65±10,31***	43,09±6,37***	40,31±5,56***
<i>АсАТ, нмоль/с×л</i>				
Контроль	539,32±35,55	575,46±29,02	583,80±28,82	542,10 27,10
I (75 мг/кг)	497,62±22,15	494,84±38,72	486,50±35,98	444,80 35,44*
II (150 мг/кг)	553,22±21,71	467,04±25,10**	419,78±33,88**	422,56 23,91 **
III (300 мг/кг)	425,34±22,67**	403,10±16,45***	379,54±39,46** *	408,66 38,47***
<i>ГГТ, нмоль/с×л</i>				
Контроль	1510,58 ±91,93	1792,06±119,0	1641,94±51,39	1632,56± 40,36
I (75 мг/кг)	1229,11±119,05	1294,79±48,30***	1407,38±105,94 *	1379,23±48,30**
II (150 мг/кг)	1444,91±96,60	1266,64±66,34***	844,43± 66,34***	1060,22±94,53***
III (300 мг/кг)	1135,28±67,00 **	1200,96±60,44***	337,77 ±54,31***	872,57±56,68***

Примітка: * — $p < 0,05$, ** — $p < 0,01$, *** — $p < 0,001$ — відповідно до показника у контролі

Отже, згідно з отриманими результатами, плюмбуму ацетат, за хронічного надходження з кормом, викликає зміни функціонального стану печінки у курей-несучок, зокрема, порушення білоксинтезуючої функції печінки, що супроводжувалося гіпопротеїнемією та зниженням активності індикаторних ферментів за хронічного перебігу гепатодистрофії.

Висновки

1. Плюмбуму ацетат у дозах 75, 150 і 300 мг/кг корму, за умови хронічного надходження з кормом, зумовлює вірогідне зниження концентрації загального білка, сечовини та сечової кислоти у сироватці крові курей-несучок протягом всього дослідного періоду, що свідчить про цитотоксичну дію металу на гепатоцити.

2. Введення плюмбуму ацетату протягом 90 діб у дозах 75, 150 і 300 мг/кг корму викликає вірогідне зниження активності індикаторних ферментів у сироватці крові курей-несучок, а саме: аланінової і аспарагінової трансфераз (АлАТ, АсАТ) та гамма-глутамілтрансептидази (ГГТ), що вказує на розвиток дистрофічних процесів у клітинах печінки.

Перспективи подальших досліджень. Планується провести дослідження інтенсивності окиснювальних процесів у клітинах печінки та сироватці крові курей-несучок під впливом довготривалого надходження плюмбуму ацетату з кормом.

К. А. Lapteva

THE FUNCTIONAL CONDITION OF THE LIVER OF LYING HENS UNDER ALIMENTARY CHRONIC TOXICITIES OF LEAD ACETATE

S u m m a r y

It has been studied the influence of lead acetate on the functional condition of the liver of laying hens. It has been determined, that receipt of toxin in the doses at 75, 150 and 300 ppm per kg of feed under the chronic experiment conditions results in a credible decline level of total protein, urea, uric acid and display enzymes in blood serum of laying hens at all treatment groups on 30, 60, 90 day and 14 days after treatment of lead acetate by feed.

Е. А. Лантева

ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ПЕЧЕНИ КУР-НЕСУШЕК ПОД ВЛИЯНИЕМ ПЛЮМБУМА АЦЕТАТА ПРИ АЛИМЕНТАРНОМ ХРОНИЧЕСКОМ ТОКСИКОЗЕ

А н н о т а ц и я

Изучено влияние плюмбума ацетата на функциональное состояние печени кур-несушек. Установлено, что поступление токсиканта в дозах 75, 150 и 300 мг/кг корма, при условии хронического эксперимента, приводит к вероятному снижению уровня общего белка, мочевины, мочевой кислоты и индикаторных ферментов в сыворотке крови кур-несушек всех опытных групп на 30, 60, 90 сутки, а также через 14 суток после прекращения введения плюмбума ацетата с кормом.

1. *Трахтенберг И. М.* Тяжелые металлы как химические загрязнители производственной и окружающей среды (эколого-гигиенические аспекты) [Текст] / И. М. Трахтенберг // Довкілля та здоров'я. — 1997. — № 2. — С. 48–51.

2. *Апихтіна О. Л.* Продукція оксиду азоту в печінці за умов впливу ацетату свинцю в експерименті / О. Л. Апихтіна та ін. // Современные проблемы токсикологии. — 2007. — № 2. — С. 22–26.

3. *Грищенко К. Н.* Патологическая физиология печени: учеб.-метод. пособие [Текст] / К. Н. Грищенко, Ф. И Висмонт. — Минск : БГМУ, 2010. — 23 с.

4. Матиосов А. Д. Влияние свинца и кадмия на биохимические показатели и продуктивность кур-несушек [Текст] : автореф. дис. ... канд. биол. наук / А. Д. Матиосов. — Новосибирск, 2004. — 22 с.
5. Спринчак Д. В. Детоксикация тяжелых металлов (свинца и кадмия) в системе почва–растение–животное : автореф. дис. ... канд. биол. наук / Д. В. Спринчак. — Красноярск, 2005. — 22 с.
6. Хэммонд П. Б. Токсичность иона металла в организме человека и животных / П. Б. Хэммонд, Э. К. Фолкс // Некоторые вопросы токсичности ионов металлов. — М. : Мир, 1993. — С. 131–165.
7. Abdull M. New aspect on the distribution and metabolism of essential trace elements after dietary exposure to toxic metals / M. Abdull, I. Chmielnicka // Biol. Trace elements res. — 1989. — Vol. 12, № 23. — P. 25–53.
8. Blazovics A. Biochemical and morphological changes in liver and gallbladder bile of broiler chicken exposed to heavy metals (cadmium, lead, mercury) / A. Blazovics et al. // Trace Elem. Electrol. — 2001. — Vol. 19. — P. 42–47.
9. Georing P. L. Lead-protein interaction as a basis for lead toxicity / P. L. Georing // Neurotoxicology. — 1993. — Vol. 14. — P. 45–60.
10. Агеев В. Н. Кормление высокопродуктивных яйценоских кур [Текст] / В. Н. Агеев. — М. : Колос, 1973. — 101 с.
11. Левченко В. І. Ветеринарна клінічна біохімія [Текст] / В. І. Левченко, В. В. Влізло, І. П. Кондрахін. — Біла Церква, 2002. — 400 с.
12. Council Directive 86/609/EEC of 24 November 1986 on the approximation of laws, regulations and administrative provisions of the Member States regarding the protection of animals used for experimental and other scientific purposes [Text] // Official Journal of the European Communities L 358. — 1986. — P. 1–29.
13. Камышников В. С. Клинико-биохимическая лабораторная диагностика : в 2 т. справочник [Текст] / В. С. Камышников. — Мн. : Интерпрессервис, 2003. — Т. 2. — 463 с.
14. Інструкція до набору реактивів для визначення активності аланінамінотрансферази в сироватці крові (метод Райтмана-Френкея) (кат № НР 001.01) [Текст]. — ТОВ НВП «Філісіт-Діагностика». — 2011. — 2 с.
15. Інструкція до набору реактивів для визначення активності аспарагінамінотрансферази в сироватці крові (метод Райтмана-Френкея) (кат № НР 004.01) [Текст]. — ТОВ НВП «Філісіт-Діагностика». — 2011. — 2 с.
16. Інструкція до набору реактивів для визначення активності гамма-глутамілтранспептідази (γ ГГТ) в сироватці крові (метод Райтмана-Френкея) (кат № НР 007.01) [Текст]. — ТОВ НВП «Філісіт-Діагностика». — 2008. — 2 с.
17. Боровиков В. Statistica: искусство анализа данных на компьютере для профессионалов [Текст] / В. Боровиков. — СПб. : Питер, 2003. — 688 с.

Рецензент: старший науковий співробітник лабораторії фізіології, біохімії та живлення птиці, кандидат сільськогосподарських наук Сірко Я. М.