

УДК 619:615.9:636.5

Хаммаді Джасім Навфал*, аспірант ©
Університет Басре, Республіка Ірак

ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ПЕЧІНКИ КУРЕЙ-НЕСУЧОК ЗА УМОВИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО СУБХРОНІЧНОГО ОТРУЄННЯ ДИХЛОРИДОМ НІКЕЛЮ

Розвиток токсикозу за умов експериментального субхронічного отруєння курей-несучок нікелю дихлоридом у дозах 25,0 та 37,5 мг/кг маси корму (за елементом) супроводжується порушенням стану власних детоксикаційних систем та білоксинтезуючої функції печінки з ознаками розвитку запальних процесів і витратами енергетичних ресурсів (за індукцією розкладу білків і порушення їх синтезу, характером змін індикаторних печінкових ферментів, надмірного утворення токсичних продуктів пуринового обміну, посиленням гліколізу), що вказує на функціональну кумуляцію Нікелю, та, очевидно, пов'язано з інтенсифікацією процесів елімінації металу з організму птиці.

Ключові слова: біохімічні показники, дихлорид нікелю, кури-несучки, плазма крові, субхронічне отруєння

УДК 619:615.9:636.5

Хаммади Джасим Навфал*, аспірант
Університет Басре, Республіка Ірак

ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ПЕЧЕНИ У КУРЕЙ-НЕСУШЕК В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО СУБХРОНИЧЕСКОГО ОТРАВЛЕНИЯ ДИХЛОРИДОМ НИКЕЛЯ

Развитие токсикоза в условиях экспериментального субхронического отравления курей-несушек дихлоридом никеля в дозах 25,0 та 37,5 мг/кг массы корма (из расчета на металл) сопровождалось нарушением состояния собственных детоксикационных систем и белок-синтетической функции печени с признаками развития воспалительных процессов, а также потерей энергетических ресурсов (по причине индукции распада белков и нарушение процессов их синтеза, характером изменений индикаторных печеночных ферментов, чрезмерного образования токсических продуктов пуринового обмена, усилением гликолиза), что указывает на развитие функциональной кумуляции Никеля и возможно связано с интенсификацией процессов элиминации металла из организма птицы.

Ключевые слова: биохимические показатели, дихлорид никеля, куры-несушки, плазма крови, субхроническое отравление.

© Хаммаді Джасім Навфал, 2014

* Науковий керівник - член-кореспондент НААН Куцан О.Т.

UDC 619:615.9:636.5

Nawfal Hammadi Jasim*,
University of Basrah, Republic of Iraq

THE FUNCTIONAL STATUS OF THE LIVER CHICKENS UNDER EXPERIMENTAL SUB-CHRONIC POISONING BY NICKELE DIHLORID

The development toxicity sub-chronic testing in poisoning the chickens laying hens nickel dichloride in doses the 25.0 and 37.5 mg/kg of feed (metal) was accompanied by a violation of the own detoxication systems and protein-synthetic of the liver with signs of inflammation, as well as loss of energy resources (due to induction of proteins and their synthesis processes the nature of change indicator of liver enzymes, the excessive production of toxic products of purine metabolism, increased glycolysis), that indicates the development of functional kumulation of nickel and possibly associated with the intensification of processes of metal elimination from the body of the bird.

Key words: *biochemical parameters, nickel dichloride, chickens, blood plasma, sub-chronic poisoning.*

Вступ. За даними ВОЗ, Нікель є одним із найнебезпечніших забруднювачів навколишнього середовища [1]. Токсичність Нікелю та його сполук для тварин залежить від їх здатності розчинятися у воді, надходити із шлунково-кишкового тракту в кров. В основному Нікель потрапляє до організму птиці з комбікормами, що встановлено нашими попередніми дослідженнями (з 79 досліджених проб у 27 % випадків було перевищення максимально допустимого рівня за Нікелем) [2]. Хронічні нікелеві токсикози відзначають у зонах, де вміст Нікелю в кормах перевищує 10 мг/кг.

Але чисельні відомості щодо біохімічних механізмів розвитку нікелевих токсикозів стосуються лише їх експериментального відтворення на лабораторних і дрібних свійських тваринах. Так, тривале потрапляння NiSO_4 з водою у добовій дозі 0,54 мг/кг (за металом) викликало в кролів значні дегенеративні зміни у печінці, нирках, серцевому м'язі та гіперплазію селезінки. У щурів, які одержували з кормом впродовж 13 тижнів добавку NiCl_2 у дозі 0,3 мг/кг (за металом), встановлювали зниження кількості еритроцитів, активності каталази крові, маси тіла. Введення *per os* $\text{Ni}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)$ і NiCl_2 котам і собакам у дозі 4 – 12 мг/кг (за металом) впродовж 200 діб не викликало наявних ознак токсичної дії. Зниження маси тіла, вмісту аскорбінової кислоти та активності лужної фосфатази у внутрішніх органах і слизовій кишечника реєстрували в щурів за щоденного впливу NiCl_2 у діапазоні доз 0,5 – 5,0 мг/кг (за металом) впродовж 7 місяців. При додаванні до корму 0,01% NiSO_4 (за металом) у крові бурих щурів визначали порушення активності низки ферментів, посилення активності церулоплазміну в печінці [3 – 7].

Птахівництво в Україні є однією з найбільш продуктивних, інтенсивних і динамічних галузей сільськогосподарського виробництва, яка постачає для

промисловості цінний сировинний матеріал. Продукція птахівництва є для людей дієтичною та висококалорійною, що є необхідним для фізіологічно обгрунтованої норми харчування, контролювання та оцінювання можливих ризиків виникнення токсикозів техногенного походження, питання їх діагностики набувають важливого наукового та народногосподарського значення для всіх країн світу, у тому числі й для України.

Метою нашої роботи стало дослідження показників функціонального стану печінки у плазмі крові курей-несучок у динаміці за субхронічного отруєння дихлоридом нікелю.

Матеріал та методи. Експериментальні дослідження проводили на базі віварію лабораторії токсикологічного моніторингу відділу токсикології, безпеки та якості сільськогосподарської продукції ННЦ «ІЕКВМ». Об'єктом дослідження були кури 250-добового віку породи *Хайсекс Браун* (n=60) із середньою масою (1,3–1,6) кг. Птицю перед дослідом за принципом аналогів розділили на три групи курей (n=20) з подальшим утриманням впродовж 10 днів у вирівнювальному періоді. Птицю годували повнораціонним комбікормом (основний раціон (ОР)), згідно з нормами для курей яєчного напрямку продуктивності. Перша група була контрольною – птиця отримувала комбікорм без добавок (фоновий вміст Нікелю становив 2,0 мг/кг маси корму); І дослідна група – щоденно одержувала добавку Нікелю у дозі 25,0 мг/кг маси корму (1/3 LD₅₀) до ОР з урахуванням фону; ІІ дослідна група – добавку Нікелю у дозі 37,5 мг/кг маси корму (1/2 LD₅₀) відповідно. Розрахунок доз проводили на метал, так як Нікель застосовували у формі нікелю дихлориду шестиводного, вміст елемента в якому складав 23,7 %. Наважку солі розчиняли у 200 см³ води водопровідної і вносили до корму, ретельно перемішуючи, безпосередньо перед згодовуванням. Птиця мала вільний доступ до води та корму.

До задавання розчину солі Нікелю, через 14, 28 днів після початку та через 14 днів після закінчення згодовування солі проводили декапітацію курей після попереднього легкого хлороформного наркозу по 5 птахів з групи, під час тотального знекровлення проводили відбір проб крові з подальшим отриманням плазми для біохімічних досліджень. Загальний термін дослідження склав 42 доби.

У плазмі крові курей на визначені терміни досліджували рівень загального білка та його фракцій, глюкози, сечової кислоти, креатиніну та активність індикаторних ферментів – аспартатамінотрансферази (АсАТ, К.Ф. 2.6.1.1), аланінамінотрансферази (АлАТ, К.Ф. 2.6.1.2), лужної фосфатази (ЛФ, К.Ф. 3.1.3.1) і альфа-амілази (α -амілаза, К.Ф. 3.2.1.1) спектрофотометричними методами за використання наборів реактивів виробництва НВП «Філісіт-Діагностика» (Україна).

Результати досліджень статистично оброблені за використання пакету програм STATISTICA 6, вірогідність отриманих результатів оцінювали за критерієм Стьюдента.

Результати дослідження. У таблиці 1 наведені результати досліджень показників білкового профілю у плазмі крові курей, що одержували з кормом

дихлорид нікелю у дозах 25,0 мг/кг і 37,5 мг/кг корму, у динаміці хронічного токсикологічного експерименту.

Таблиця 1

Стан показників білкового профілю у плазмі крові курей-несучок за хронічного аліментарного задавання розчину дихлориду нікелю у дозах 25,0 мг/кг і 37,5 мг/кг корму в динаміці експерименту (M±m; n=5)

Групи тварин		Термін досліджень	Загальний білок, г/л	Альбуміни, г/л	Загальні глобуліни, г/л	Альбумін/Глобуліновий коефіцієнт
Контрольна		I	56,70±1,83	16,00±0,20	40,70±2,05	0,390±0,005
		II	53,12±2,18	11,88±0,54	41,24±2,40	0,290±0,006
		III	54,64±1,22	14,45±0,42	40,20±1,64	0,360±0,030
		IV	51,60±0,43	14,20±1,40	37,40±2,12	0,380±0,004
Дослідні	Перша – 25,0 мг/кг корму (за Ni)	I	55,30±0,57	15,60±0,82	39,70±2,00	0,390±0,030
		II	47,17±1,57	9,60±0,67*	37,57±2,23	0,260±0,006*
		III	48,30±1,83*	11,87±0,43*	36,60±1,40*	0,320±0,010
		IV	52,80±2,90	14,20±1,80	38,60±2,50	0,370±0,006
	Друга – 37,5 мг/кг корму (за Ni)	I	54,30±0,70	13,00±1,25	41,30±2,05	0,320±0,003
		II	51,50±0,40	12,77±0,37	38,73±2,30	0,330±0,007
		III	45,17±2,46*	12,71±0,49*	32,46±2,00*	0,390±0,050
		IV	45,53±1,40*	12,50±0,40*	33,03±2,25*	0,380±0,004

Примітки тут і далі: * – різниця значень вірогідна за ($p \leq 0,05$) відносно значень такого показника у контрольних тварин у відповідний термін досліджень;

I – до початку задавання дихлориду нікелю;

II – через 14 діб після початку задавання дихлориду нікелю;

III – через 28 діб після початку задавання дихлориду нікелю;

IV – через 14 діб після припинення задавання дихлориду нікелю.

Встановлено, що вже на 14-ту добу досліду в плазмі крові курей, яким задавали токсикант у дозі 25,0 мг/кг корму (I дослід), реєстрували тенденцію щодо зниження вмісту загального білка, яка супроводжувалась вірогідним зниженням рівня альбумінів і значення альбумін/глобулінового коефіцієнта в середньому на 19,2 % і 10,3 %. Тенденція щодо зниження вмісту загального білка у плазмі крові птиці цієї групи набула вірогідності на 28-му добу досліду разом із зниженням рівня як альбумінів, так й глобулінів, відсоток яких складав відповідно 11,8, 17,9 й 9,6 %.

Рівень загального білка та його фракцій у плазмі крові курей, що одержували вищу дозу токсиканту (II дослід) починав вірогідно знижуватись лише на 28-му добу експерименту, але залишався таким навіть після припинення задавання дихлориду нікелю, що не спостерігали для курей I дослідної групи. Так, через 14 діб після припинення задавання токсиканту

рівень загального білка, альбумінів та загальних глобулінів залишався зниженим на 11,8 %, 12,0 % та 11,7 % ($p \leq 0,05$) відповідно.

Значні перебудови у функціональному стані печінки дослідних курей обох груп внаслідок хронічного потрапляння дихлориду нікелю аліментарним шляхом спостерігали, починаючи вже з 14-ої доби експерименту. Дані, наведені у таблиці 2, показують, що вміст глюкози у плазмі крові курей обох дослідних груп на цей час був знижений на 33,6 % і 14,1 % ($p \leq 0,05$) відносно рівня цього показника в контролі.

Слід зауважити, що зареєстровані зміни залишались такими до кінця експерименту у курей, які одержали найвищу дозу токсиканту. Через 14 діб після припинення надходження дихлориду нікелю у плазмі крові дослідної птиці II групи рівень глюкози залишався зниженим, що, очевидно, пов'язано із витратами енергетичних ресурсів на інтенсифікацію процесів елімінації нікелю з організму курей у даний термін досліджень.

Рівень утворення сечової кислоти у крові дослідної птиці змінювався впродовж експерименту таким чином. У плазмі крові курей I дослідної групи вміст даного метаболіту підвищувався на 14-ту добу після задавання дихлориду нікелю на 51,7 % ($p \leq 0,05$) відносно рівня цього показника в контролі, але у подальшому його значення наближались у середньому до контрольних. Вірогідне зростання рівня сечової кислоти у курей II дослідної групи реєстрували лише через 28 діб після початку експерименту на 26,2 %, яке залишалось таким навіть після припинення задавання токсиканту і складало 11,5 % відповідно.

Таблиця 2

Вміст сечової кислоти та креатиніну в плазмі крові курей-несучок за хронічного аліментарного задавання розчину дихлориду нікелю у дозах 25,0 мг/кг і 37,5 мг/кг корму в динаміці експерименту ($M \pm m$; $n=5$)

Групи тварин		Термін дослідження			
		I	II	III	IV
Глюкоза, ммоль/л					
Контрольна		6,37±0,20	7,28±0,12	6,71±0,25	6,00±0,06
Дослідні	Перша – 25,0 мг/кг корму (за Ni)	6,50±0,28	4,83±0,38*	6,55±0,42	6,22±0,22
	Друга – 37,5 мг/кг корму (за Ni)	6,46±0,25	6,25±0,08*	5,80±0,08*	5,55±0,30
Сечова кислота, мкмоль/л					
Контрольна		509,93±14,6	511,3±26,4	471,6±22,0	502,7±28,6
Дослідні	Перша – 25,0 мг/кг корму (за Ni)	526,6±35,1	775,7±26,5*	431,9±25,3	480,9±32,0
	Друга – 37,5 мг/кг корму (за Ni)	534,0±24,2	537,7±26,5	595,0±30,9*	560,7±24,3*
Креатинін, мкмоль/л					
Контрольна		159,10±5,65	149,80±8,22	152,30±10,02	160,20±10,5
Дослідні	Перша – 25,0 мг/кг корму (за Ni)	160,00±10,05	153,40±10,80	162,00±18,00	188,4±11,1*
	Друга – 37,5 мг/кг корму (за Ni)	159,80±6,90	138,60±13,45	142,60±8,08	174,8±9,8*

Вміст ще одного кінцевого продукту розкладу білків – креатиніну – у плазмі крові дослідних курей, що одержали меншу дозу дихлориду нікелю, мав подібну до рівня сечової кислоти тенденцію змін. Так, через 14 діб потрапляння сполуки елемента в крові курей I дослідної групи визначали вірогідне зростання рівня креатиніну в середньому на 15,7 %.

На фоні порушення синтезу білків та елімінації продуктів їх розкладу поряд із посиленням гліколізу реєстрували також виражене напруження активності ферментних систем природної детоксикації в організмі отруєної птиці. Результати досліджень динаміки активності основних гепатоспецифічних ферментів у крові експериментальних курей наведені в таблиці 3.

Таблиця 3

Активність гепатоспецифічних ферментів у плазмі крові курей-несучок за хронічного аліментарного задавання розчину дихлориду нікелю у дозах 25,0 мг/кг і 37,5 мг/кг корму в динаміці експерименту ($M \pm m$; $n=5$)

Групи тварин		Термін дослідження	АлАТ, мкмоль/год мл	АсАТ, мкмоль/год мл	α -амілаза, мг/сек л	ЛФ, нмоль/сек л
Контрольна		I	0,49±0,04	1,98±0,15	5,26±0,26	4396,5±58,2
		II	0,47±0,02	2,13±0,10	4,78±0,33	4215,4±70,4
		III	0,52±0,003	2,00±0,03	5,78±0,62	4025,2±40,2
		IV	0,55±0,03	1,90±0,03	5,55±0,16	3829,4±115,8
Дослідні	Перша – 25,0 мг/кг корму (за Ni)	I	0,48±0,02	1,83±0,06	6,10±0,71	4442,6±108,0
		II	0,27±0,01*	2,30±0,07	6,89±0,44*	3405,1±94,1*
		III	0,26±0,01*	2,37±0,03*	10,67±0,44*	1430,1±71,5*
		IV	0,48±0,05	2,90±0,07*	7,02±0,34*	2199,9±127,9*
	Друга – 37,5 мг/кг корму (за Ni)	I	0,51±0,03	2,00±0,09	5,58±0,21	4456,4±151,5
		II	0,22±0,01*	2,76±0,12*	11,33±0,44*	1242,8±17,0*
		III	0,20±0,01*	2,50±0,13*	15,33±0,24*	919,4±40,9*
		IV	0,35±0,02*	2,83±0,07*	15,02±1,62*	902,6±55,4*

Встановлено, що активність таких ферментів, як АлАТ, АсАТ, α -амілази та ЛФ у плазмі крові отруєних дихлоридом нікелю курей обох дослідних груп починала змінюватись за характером однаково: через 14 діб після початку та в основному не набувала відновлення навіть після припинення задавання токсиканту. Так, під час задавання сполуки елемента активність АлАТ та мембранозв'язаної ЛФ поступово знижувалась у плазмі крові курей I і II дослідних груп, що складало у межах (1,7 – 2,6) та (1,2 – 4,4) раза відповідно ($p \leq 0,05$) відносно рівня активності цих ферментів в контролі. Відновлення активності у крові курей після припинення потрапляння дихлориду нікелю у меншій дозі (I дослід) реєстрували лише для значень АлАТ.

На розвиток запальних реакцій та напруження процесів природної детоксикації в печінці та жовчно-видільних шляхах курей обох дослідних груп впродовж експерименту вказує поступове зростання активності АсАТ від 8,0 до 29,6 % та α -амілази – від 1,3 до 2,7 раза відповідно ($p \leq 0,05$) відносно контрольних значень активності цих ферментів. Відновлення активності таких

ферментів до фізіологічного після припинення задавання токсиканту не відбувалось.

Отримані результати біохімічних досліджень корелюють із встановленими під час патологоанатомічного розтину змінами печінки та інших паренхіматозних органів, значним накопиченням Нікелю в печінці курей обох дослідних груп, яке набувало найвищих значень на 28-му добу експерименту та складало у середньому 2,3 (I група) і 2,4 (II група) рази ($P < 0,001$) відносно контрольного рівня [8] і свідчать про небезпечний вплив цього токсиканту на організм курей-несучок, що не може не позначитись на продуктивності птиці та якості її продукції, у тому числі – печінки, яєць тощо, і може призвести до значних економічних збитків. Той факт, що навіть після припинення задавання сполуки Нікелю в організмі курей не відбувалось остаточного відновлення зрушення власних детоксикаційних систем і білоксинтезуючої функції печінки (за індукцією розкладу білків і порушення їх синтезу, характером змін індикаторних печінкових ферментів, надмірного утворення токсичних продуктів пуринового обміну) може вказувати на підвищення виведення металу з організму та його функціональну кумуляцію.

Висновки.

1. За умов експериментального субхронічного отруєння курей-несучок нікелю дихлоридом у дозах 25,0 та 37,5 мг/кг маси корму (за елементом) встановлено зрушення у протеїнограмі плазми крові, що супроводжується зниженням рівня загального білка та його фракцій, і може свідчити про пригнічення білоксинтезуючої функції печінки.

2. У курей-несучок обох дослідних груп реєстрували посилення процесів гліколізу, починаючи з 14-ої доби надходження токсиканту (рівень глюкози залишався зниженим на 13,6 % ($P < 0,05$) відносно контрольного до 28-ої доби експерименту у курей, які одержали токсикант у дозі 37,5 мг/кг маси корму), що, очевидно, пов'язано із витратами енергетичних ресурсів на інтенсифікацію процесів елімінації Нікелю з організму птиці у даний термін досліджень.

3. Розвиток нікелевого токсикозу в організмі отруєних курей супроводжується порушенням стану детоксикаційних систем з ознаками розвитку запальних процесів (за характером змін індикаторних печінкових ферментів: гальмування активності АЛАТ і ЛФ та вивільнення АсАТ і α -амілази; надмірного утворення токсичних продуктів пуринового обміну).

4. Зрушення показників функціонального стану печінки отруєних курей були більш вираженими та не набували відновлення навіть після припинення згодовування токсиканту в дозі 37,5 мг/кг корму, що вказує на функціональну кумуляцію Нікелю.

Перспективи подальших досліджень. В подальшій роботі будемо вивчати токсикокінетику Нікелю в організмі курей-несучок за умов субхронічного отруєння їх дихлоридом металу.

Література

1. Barceloux Donald G. Nickel. [Text] // J. Toxicol. Clin. Toxicol. – 1999. – 37, №2. – P. 239-258.
2. Куцан, О.Т. Нікель – фактор небезпечності комбікормів для тварин [Текст] / О.Т. Куцан, О.Л. Оробченко, Г.М. Шевцова // ВМУ. – 2012. – № 8. – С. 28-30.
3. Смоляр, В.І. Аліментарні гіпо- та гіпермікроелементози [Электронный ресурс] / В.І.Смоляр, Г.І. Петрашенко // Проблеми харчування. – Вип. 4. – 2005. – Режим доступу : www.medved.kiev.ua/arh_nutr/nt4_2005.htm.
4. Anke, M. Nickel – an essential element [Text] / M. Anke, B. Groppel, H. Kronemann, M Grün // IARC Sci Publ. - 1984. – Vol.53. – P. 339-65.
5. Anke, M. Nickel – an essential trace element. 1. Influence of the supply of nickel on live weight gains, food consumption and body composition of growing pigs and goats [Text] / M. Anke et all. // Arch Tierernahr. – 1977. – Vol. 27(1). – P. 25-38.
6. Грибовский, Ю.Г. Научное обоснование комплекса мероприятий по снижению отрицательного влияния никеля на организм домашних животных и санитарное качество продуктов животноводства в природно-техногенных провинциях Урала [Текст] / Ю.Г. Грибовский.; Дис. ... д-ра вет. наук : 16.00.04, Троицк, 2000.
7. Дрогомирецька, І.З. Імунотоксичність нікелю та його сполук [Текст] / І.З. Дрогомирецька, І.В. Мазепа, М.А. Мазепа // Современные проблемы токсикологии. – 2009. – Вып. 3-4. – С. 25-31.
8. Хаммаді, Д.Н. Уміст нікелю у продукції птахівництва за умов експериментального субхронічного отруєння курей-несучок дихлоридом металу [Текст] / Д.Н. Хаммаді, О.Т. Куцан, О.Л. Оробченко, М.Є. Романько // Вет. медицина: Міжвід. темат. наук. зб. – Харків, 2013. – Вип. 97. – С. 424-426.
Рецензент – д.вет.н., професор Гунчак В.М.