

Науковий вісник Львівського національного університету
ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького

Scientific Messenger of Lviv National University
of Veterinary Medicine and Biotechnologies

ISSN 2518–7554 print
ISSN 2518–1327 online

doi: 10.32718/nvlvet9246
http://nvlvet.com.ua

UDC 616.091. 615.9:54

Clinical signs and pathoanatomical changes in the brain for poisoning of domestic turkeys with diazinon

R.S. Dankovych, V.V. Tumanov

Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies Lviv, Ukraine

Article info

Received 09.11.2018
Received in revised form
11.12.2018
Accepted 12.12.2018

Stepan Gzhytskyi National
University of Veterinary Medicine
and Biotechnologies Lviv,
Pekarska Str., 50, Lviv,
79010, Ukraine.
Tel.: +38-067-574-68-01
E-mail: dancor1802@i.ua,
borisfent1980@gmail.com

Dankovych, R.S., & Tumanov, V.V. (2018). Clinical signs and pathoanatomical changes in the brain for poisoning of domestic turkeys with diazinon. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies, 20(92), 222–228. doi: 10.32718/nvlvet9246

For today, the actual problem of veterinary medicine is the poisoning of animals with organophosphorus pesticides, which are used as insecticides and acaricides, fungicides, herbicides, rodenticides, nematocides. One of the highly effective nonspecific organophosphorus insecticides is diazinon, which enters the body causing poisoning of various species of birds. The basis of the toxic action of diazinon is the ability to block the enzyme acetylcholinesterase. As a result, acetylcholine is accumulated in cholinergic synapses, excessive stimulation of the nerves and muscles is noted, and in the future, a violation of the normal passage of nerve impulses develops. Research was carried out of domestic turkeys (*Meleagris gallopavo*) in which spontaneous poisoning with diazinon was recorded. Detailed study of clinical signs that develop as a result of poisoning. The activity of the acetylcholinesterase of the serum of blood in the experimental birds was determined by the method of Hestrin. The section of birds that were killed was carried out by the method of Shore. Sections of organs were fixed in 10% neutral formalin, 96% ethanol and Carnoua liquid. The histocuttings were made by means of a stent microtome, stained with hematoxylin and eosin. The histological study of the preparations and their photographing was performed using a Leica DM-2500 (Switzerland) microscope, a Leica DFC450C camera and the Leica Application Suite Version 4.4 software. For the production of ultrathin sections, as well as for conducting electron microscopy, pieces of organs were fixed in Millonig's buffer pH 7,36. Half-thin and ultrathin cuts were made on ultramicrotome LKB-2188 Ultratome NOVA. The specimens were viewed and photographed in a Tesla BS-500 transmissive electron microscope, at an accelerating voltage of 60, 90 kV. In the pathoanatomical study, expressed discirculatory processes in the form of acute congestive hyperemia, stasis, perivascular edema and hemorrhages, as well as necrotic changes in cardiomyocytes, hepatocytes, nephrocytes and brain neurons. An electron microscopic study also found destruction of synapses in the cerebral cortex, cerebellum and medulla oblongata. When autopsy selected material (feed the masses crop of birds) for chemical-toxicological research. As a result the research the extract of selected content crop of birds by the method of thin-layer chromatography paper manifestation of iodine bismuth quality received positive reaction on the compound diazinon.

Key words: diazinon, poisoning, Domestic turkey, acetylcholinesterase, pathomorphology, brain, synapses, hyperemia, necrosis.

Клінічні ознаки та патологоанатомічні зміни в головному мозку за отруєння домашніх індиків діазиноном

Р.С. Данкович, В.В. Туманов

Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького,
м. Львів, Україна

Одним з високоефективних неспецифічних фосфорорганічних інсектицидів є діазинон, потрапляння якого в організм стає причиною отруєння різних видів птахів. В основі токсичної дії діазинону лежить здатність блокувати фермент ацетилхолінестеразу. Унаслідок цього ацетилхолін нагромаджується в холінергічних синапсах, відзначається надмірна стимуляція нервів та м'язів, а надалі розвивається порушення нормального проходження нервових імпульсів. Структурні зміни в органах нервової системи за

отруєння діазиноном вивчені недостатньо. Зважаючи на виключно важливе значення органів нервової системи в регуляції усіх життєвих функцій, вивчення структурних змін в головному мозку за отруєння діазиноном має наукове та практичне значення. Проведено комплексне дослідження домашніх індиків (*Meleagris gallopavo*) у яких реєстрували спонтанне отруєння діазиноном. Детально вивчали клінічні ознаки, що розвиваються унаслідок отруєння. Активність ацетилхолінестерази сироватки крові у дослідних птахів визначали за методом Хестріна. Розтин птахів, які загинули проводили за методом Шора. Фрагменти органів фіксували у 10% нейтральному формаліні, 96% етиловому спирті та рідині Карнуа. Гістозрізи виготовляли за допомогою санного мікротома та мікротома-кріостата, фарбували гематоксиліном та еозином, суданом-III за методом Ніссля. PAS-реакцію провели за Мак-Манусом. Для виготовлення ультратонких зрізів фрагменти органів фіксували у фіксаторі Міллоніга з рН 7,36. Напівтонкі та ультратонкі зрізи виготовляли на ультрамікротомі LKB-2188 Ultratome NOVA. Напівтонкі зрізи фарбували метиленовим синім та основним фуксином. Зразки для трансмісійної електронної мікроскопії переглядали і фотографували в електронному мікроскопі Tesla BS-500, за прискорюючої напруги 60, 90 kV. За отруєння діазиноном клінічно у хворих домашніх індиків відзначали різке пригнічення активності ацетилхолінестерази сироватки крові, що супроводжувалось вираженими симптоми ураження нервової системи. Реєстрували тремор та парези крил, порушення координації рухів, судоми та спастичні скорочення м'язів, плавальні рухи тазовими кінцівками, утруднене та часте дихання, що супроводжувалось хрипами. Унаслідок серцево-судинної та дихальної недостатності розвивалась гостра застійна гіперемія, що супроводжувалась вираженим ціаноз шкіри. За дослідження головного мозку реєстрували гіперемію, стази, діapedезні крововиливи, периваскулярні набряки, важкі зміни нервових клітин, деструкцію синапсів. Унаслідок проведення токсикологічного дослідження екстракту з відібраного вмісту вола індиків методом тонкошарової хроматографії на папері з проявленням йодвісмутовим реактивом отримано якісну позитивну реакцію щодо сполуки діазинон.

Ключові слова: діазинон, отруєння, Домашній індик, ацетилхолінестераза, патоморфологія, головний мозок, синапс, гіперемія, некроз

Вступ

На сьогоднішній день актуальним питанням ветеринарної медицини є діагностика отруєнь птахів фосфорорганічними пестицидами. Це насамперед пов'язано з широким використанням зазначених токсичних сполук у рослинництві та ветеринарній медицині (Dagaev et al., 1991; Nedopytanska, 2010; Botha et al., 2015; Maleki et al., 2016).

В останні роки діазинон досить часто використовують для несанкціонованого отруєння диких та свійських птахів, які є дуже чутливими до впливу фосфорорганічних пестицидів. За аліментарного потрапляння діазинону в організм відбувається швидко його всмоктування у шлунково-кишковому тракті. У організмі діазинон метаболізує з утворенням токсичного метаболіту діазоксону (Aleksandrova and Goncharenko, 1983; Cox, 2000; Majeed and Al-Sereah Bahaa, 2012; Alam et al., 2015; Dankovych and Tumanov, 2016; Al-Attar et al., 2017).

Патологоанатомічні зміни за отруєння діазиноном охоплюють різні органи і системи, оскільки відзначається холінергічна дія в усіх нервових структурах, у яких передача імпульсів здійснюється завдяки ацетилхоліну (Dagaev et al., 1991; Nedopytanska, 2010; Proskocil et al., 2010; Sarhan and Al-Sahhaf, 2011; Yilmaz et al., 2012; Botha et al., 2015). Вираженість структурних змін залежить від дози та кратності надходження діазинону, тривалості інтоксикації тощо. У сучасній ветеринарній практиці під час діагностики хвороб різного генезу (у тому числі отруєнь), слід використовувати комплексний підхід, за якого необхідно детально зібрати анамнез, вивчити клінічні ознаки, провести аналіз біохімічних показників крові, а також виявлених патологоанатомічних змін. Також слід відбирати матеріал для проведення додаткових лабораторних досліджень: у випадку підозріння на отруєння – хіміко-токсикологічних. Комплексне вивчення структурних змін у таких випадках є міцним фундаментом та орієнтиром для проведення хіміко-токсикологічних досліджень, а також розробки схеми

лікування (Rady, 2009; Majeed and Al-Sereah Bahaa, 2012; Yilmaz et al., 2012; Dankovych and Tumanov, 2016). У зв'язку з цим вивчення патоморфології отруєння птахів діазиноном є актуальним питанням сучасної ветеринарної медицини і має науково-практичне значення.

Матеріал і методи досліджень

Дослідження провели на домашніх індиках (*Meleagris gallopavo*, n = 8, ♂ – 4, ♀ – 4). Хвора птиця надійшла на кафедру нормальної та патологічної морфології і судової ветеринарії Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій ім. С.З. Гжицького для встановлення діагнозу.

Під час проведення дослідження для встановлення норми використовували контрольних птахів. Дослідні та контрольні групи формувались за принципом аналогів. Для контролю використовували клінічно здорових домашніх індиків (*Meleagris gallopavo*, n = 8, ♂ – 4, ♀ – 4).

Зважаючи на складність діагностики отруєнь під час проведення досліджень нами була вибрано комплексний підхід, що включав такі основні напрямки роботи: 1) вивчення анамнезу та клінічної картини, з обов'язковим дослідженням активності ацетилхолінестерази сироватки крові птахів у яких було зареєстровано отруєння діазиноном; 2) комплексне патологоанатомічне дослідження, з проведенням макроскопічного, гістологічного, гістохімічного та електронномікроскопічного досліджень; 3) хіміко-токсикологічне дослідження екстракту екстракту вмістимого вола методом тонкошарової хроматографії на папері з проявленням йодвісмутовим реактивом (експрес-метод для визначення наявності діазинону).

Перед дослідженням детально збирали анамнез. Кров для біохімічного дослідження відбирали з підкрильцевої вени. Біохімічне дослідження сироватки крові проводили за допомогою біохімічного аналізатора "Cobas Integra 400 plus". Активність ацетилхолінестерази сироватки крові у дослідних птахів визна-

чали за методом Хестріна, що описаний у практично-му керівництві Лемперта М.Д. (Lempert, 1968). Ця методика є досить чутливою і найкращою з описаних колориметричних методів визначення активності ацетилхолінестерази. Суть методу полягає у визначенні ступеня гідролізу ацетилхоліну в лужному розчині гідроксиламінхлориду. У таких умовах утворюється гідроксамова кислота, яка в кислому середовищі з хлористим залізом дає кольорову реакцію. Від концентрації ацетилхоліну залежить інтенсивність забарвлення, яку визначали за допомогою фотоелектрокалориметра КФК-3.

Під час виконання експериментальних досліджень дотримано всіх біоетичних вимог по відношенню до тварин, що відповідають Закону України “Про захист тварин від жорстокого поводження” від 28.03.2006 р. та “Європейській конвенції на захист хребетних тварин” від 13.11.1987 р. Наказу Міністра освіти і науки, молоді та спорту України 01.03.2012 р. № 249. Зареєстровано в Міністерстві юстиції України 16 березня 2012 р. за № 416/20729 про “Порядок проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах”.

Розтин птахів, які загинули проводили за методом Шора. Фрагменти органів фіксували у 10% нейтральному формаліні, 96% етиловому спирті та рідині Карнуа. Гістозрізи виготовляли за допомогою санного мікротома МС-2 та мікротома-кріостата МЗ-2, з використанням напівпровідникового столика ТОС-П. Гістозрізи фарбували гематоксиліном Ерліха та еозином, суданом-III, а також за методом Ніссля, PAS-реакцію провели за Мак-Манусом (Merkulov, 1969; Horalskyi et al., 2005; Bahriy and Dibrova, 2016). Гістологічне дослідження препаратів та їх фотографування проводили з використанням мікроскопа Leica DM-2500 (Switzerland), фотокамери Leica DFC450C і програмного забезпечення Leica Application Suite Version 4.4.

Для електронно-мікроскопічного дослідження матеріал фіксували у фіксаторі Міллоніга з рН 7,36 впродовж 2 годин у термосі за температури танучого льоду. Після фіксації промивали у фосфатному охолодженному буфері Міллоніга, дегідрували в етанолі зростаючої міцності по 10 хв у кожному з різницею концентрації 10%, починаючи з 70% розчину етанолу на дистильованій воді. Витримували у 3 порціях абсолютного етанолу по 10 хв у кожному, переносили в 2 порції пропілен-оксиду по 5 хв і просмолювали 24 год в суміші аралдіту наступного складу: Аралдіт М, ущільнювач НУ964 1:1, ретельно змішавши. До 20 мл цього розчину додавали 0,4 мл каталізатора ДУ064 та 0,6 мл дибутилфталату. Потім просмолені фрагменти переносили у поліетиленові форми зі свіжою сумішшю аралдіту на 24 год за 60 °С для полімеризації, попередньо їх розмістили у необхідній площині. Сформовані блоки заточували у вигляді трапедії та закріплювали у тримач блоків за допомогою скляного ножа отримували напівтонкі зрізи на ультрамікротомі LKB-2188 Ultratome NOVA товщиною 2 мкм. Зрізи монтували на предметному склі, підігріваючи на при-

ладі фірми LKB-2208 MULTIPATE (Швеція). Прикріплені зрізи фарбували метиленовим синім – основним фуксином. З наступним заключенням у розчин полістеролу на ксилолі та подальшим покриттям покривним склом (Merkulov, 1969; Horalskyi et al., 2005; Mulish and Welsh, 2010; Bahriy and Dibrova, 2016).

Матеріал для електронно-мікроскопічного дослідження фіксували та виготовляли з тих самих блоків (аналогічно методиці, що описана вище), що були використані для виготовлення ультратонких зрізів. Ультратонкі зрізи товщиною 60 нм виготовляли за допомогою ультрамікротома LKB 2188 Ultratome NOVA. Отримані зрізи через воду монтували на опорні сітки, підсушували впродовж 2 год за температури 60 °С та контрастували ураніл-ацетатом і цитратом свинцю по Рейнольдсу. Промивали у 0,02 М розчині NaOH, а надалі в дистильованій воді з наступним висушуванням. Зразки переглядали і фотографували в трансмісійному електронному мікроскопі Tesla BS-500, за прискорюючої напруги 60, 90 kV (Mulish and Welsh, 2010; Bahriy and Dibrova, 2016). Фотофіксацію проводили з використанням фотоплівки ФТ-41П. Отримані негативи переводили у цифровий формат за допомогою фотосканера Epson perfection V 500 photo та програмного забезпечення до нього.

Морфологічні зміни в клітинах головного мозку вивчали відповідно до класифікації, що наведена у науковій праці “Гистопатология центральной нервной системы” (Ermohin, 1969).

Також проводили хіміко-токсикологічне дослідження екстракту вмістимого вола методом тонкошарової хроматографії на папері з проявленням йодвісмутовим реактивом (експрес-метод) для визначення наявності діазинону (Filov, 1964).

Отриманий цифровий матеріал обробляли статистично за допомогою комп’ютерної програми з визначенням середньої арифметичної (M), статистичної помилки середньої арифметичної (m), вірогідності різниці (P) між середніми арифметичними двох варіаційних рядів за критерієм достовірності (t) за таблицями Стьюдента. Різницю між двома величинами вважали вірогідною за $P < 0,05$; $P < 0,01$; $P < 0,001$ (Lapach et al., 2000).

Результати та їх обговорення

Клінічно у хворих домашніх індиків за отруєння діазиноном на початкових етапах захворювання реєстрували блідість слизових оболонок та шкіри, пригнічення, птахи сиділи опустивши крила, не поїдали корм, гірше пили воду, у них розвивався пронос. Виникали тремор та парези крил. Реєстрували опістотонус, за якого птахи закидали голову та шию назад. Хворі індикі падали на спину, не могли підвестись, слабо орієнтувались у просторі. Наростали судороми та спастичні скорочення м’язів тазових кінцівок, відзначаючи плавальні рухи тазовими кінцівками. З ротової порожнини виділялась рідка слизиста маса. Реєстрували випинання клоаки. Після приступів збудження та спастичних скорочень м’язів з’являлась м’язова

слабкість. Також реєстрували спазми різних груп м'язів, паралічі, утруднене та часте дихання, що супроводжувалось хрипами.

У термінальні періоди хвороби відзначали виражені некоординовані рухи. Унаслідок серцево-судинної та дихальної недостатності розвивалась гостра застійна гіперемія шкіри у ділянці шиї та вола, а також в ділянці підгрудка та крил. В результаті виникнення гострого венозного застою шкіра забарвлювалась у темно-вишневий колір з ціанотичним відтінком.

Слід зазначити, що провідною ланкою в механізмі токсичної дії фосфорорганічних сполук на організм є порушення каталітичної функції ферментів ацетилхолінестерази. У результаті проведеного нами дослідження встановлено достовірне ($P \leq 0,001$) виражене зниження рівня активності ацетилхолінестерази сироватки крові в домашніх індиків за гострого отруєння діазиноном. Зокрема, у дослідних домашніх індиків активність ацетилхолінестерази сироватки крові становила $29,67 \pm 0,50$ мкг/мл/год, у той час як у контролі – $204,22 \pm 0,56$ мкг/мл/год. Унаслідок різкого пригнічення активності ацетилхолінестерази у дослідних тварин відзначали порушення проведення нервових імпульсів, розвивалась виражені симптоми ураження центральної та периферичної нервової системи, а також порушення роботи внутрішніх органів.

За патологоанатомічного дослідження розвивались виражені дисциркуляторні зміни у вигляді гострої

застійної гіперемії, стазів, периваскулярних набряків та крововиливів, а також дистрофічні та некротичні зміни паренхіматозних елементів. Виражених перифокальних запальних змін не спостерігали.

За макроскопічного дослідження головного мозку виявили розширення судин м'якої мозкової оболонки, а також речовини головного мозку (рис. 1). Тверда мозкова оболонка без нашарувань. Великі півкулі головного мозку були набухлі, речовина головного мозку волога. У шлуночках головного мозку збільшувалась кількість ліквору.

За гістологічного дослідження виражені гістологічні зміни виявили у судинній системі та нейронах різних відділів головного мозку (у великих півкулях головного мозку, мозочку, середньому та довгастому мозку). Зокрема, спостерігали розширення та переповнення кров'ю венозних судин різного калібру (рис. 2).

Зміни в артеріальних судинах головного мозку були менш виражені, у порівнянні з венозним руслом. Лише окремі дрібні артерії були розширені, переповнені еритроцитами. Зміни в судинах гемімікроциркуляторного русла різних відділів головного мозку також були яскраво вираженими. Зокрема, капіляри були розширені, переповнені еритроцитами, які досить часто розташовувались у декілька рядів, у вигляді монетного стовпчика, нерідко склеювались, що вказує на розвиток стазу. Траплялись локальні крововиливи та периваскулярні набряки.

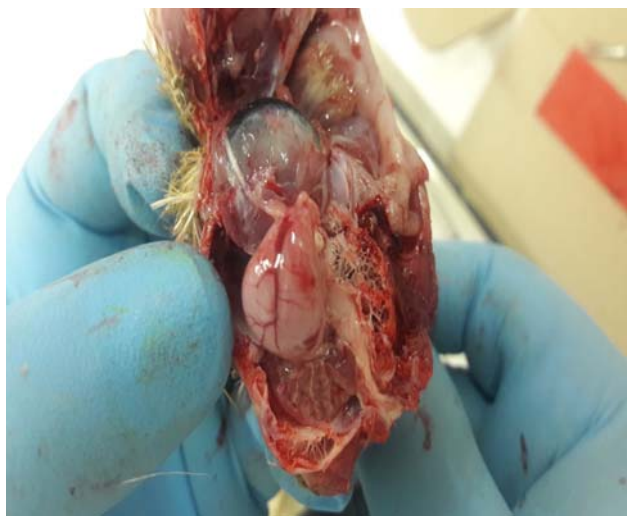


Рис. 1. Розширення та переповнення кров'ю судин головного мозку

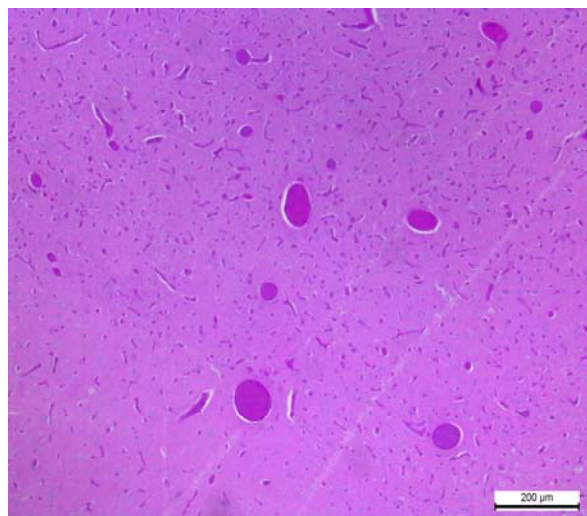


Рис. 2. Гостра застійна гіперемія та стази у судинах головного мозку. PAS-реакція за Мак-Манусом x 100

За електронно-мікроскопічного дослідження виявили, що навколо розширених капілярів, візуалізувались просвітлені ділянки (рис. 3), що свідчить про розвиток периваскулярного набряку. Відзначали вихід еритроцитів (рис. 4) за межі судин. У трансудаті, що розташовувався за межами судин візуалізувались хаотично розташовані та частково зруйновані мітохондрії нейроналію.

У нейронах головного мозку розвивались виражені альтеративні зміни. Виявили ураження характерні для

важких змін нервових клітин. Зокрема, реєстрували набухання тіла та відростків нейронів, унаслідок чого клітини дещо округлювались. Відзначали розчинення тигроїдної субстанції, унаслідок чого цитоплазма нервових клітин забарвлювалась у гомогенно блідо-голубий колір. Ядро розташовувалось ексцентрично, ставало інтенсивно базofilним або нерівномірно зафарбованим, а в окремих нервових клітинах відзначали зморщення ядра (каріопікноз). Спостерігали перинуклеарне просвітлення цитоплазми.

Подекуди у цитоплазмі з'являлись вакуолі видовженої форми, що були заповнені просвітленою рідиною. Виявляли клітини-тіні.

Слід зазначити, що під час вивчення патоморфологічних змін в центральній нервовій системі, особливо за дослідження отруєнь фосфорорганічними сполуками, за яких відбувається порушення передачі

нервових імпульсів, необхідно проводити електронно-мікроскопічне дослідження. Зважаючи на високу чутливість різних структурних компонентів головного мозку до дії токсичних агентів та гіпоксії, особливо до отрут, які пригнічують активність ацетилхолінес-теразидів дослідження синапсів є особливо важливим.

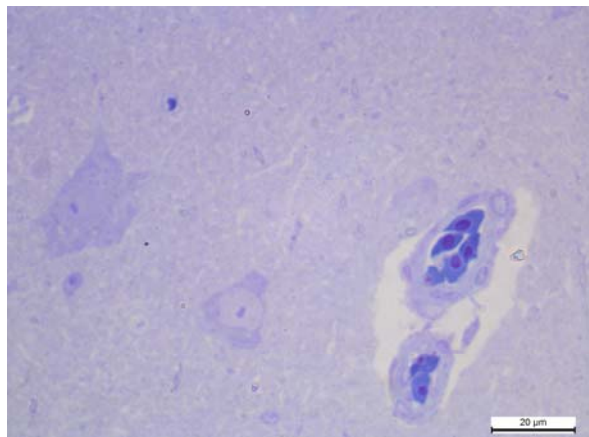


Рис. 3. Розширення та переповнення еритроцитами артеріол. Периваскулярний набряк. Напівтонкий зріз. Метиленовий-синій x 1000

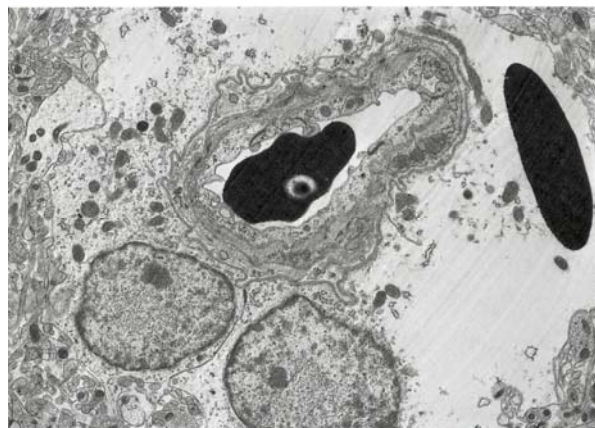


Рис. 4. Периваскулярний набряк. Еритроцит у периваскулярній ділянці. Електронogramма x 6000

У результаті проведеного нами електронно-мікроскопічного дослідження у синапсах різних відділів головного мозку виявили набухання пресинаптичного відростка та зменшення кількості синаптичних міхурців (рис. 5). У окремих синапсах відзначали збільшення відстані між пре- та постсинаптичною мембранами. Цитоплазма пресинаптичного відростка набухала, дещо просвітлювалась. Відзначали дезорганізацію розміщення та розподілення синаптичних міхурців. Зокрема, синаптичні міхурці збирались в окремі групи. У порівнянні з контролем різко зменшувалась кількість синаптичних міхурців. Більшість синаптичних міхурців набирали неправильної форми, вони були з нерівними контурами різко коливалась їх осміофільність. Подекуди траплялись синаптичні

міхурці неправильної бобовидної форми. Досить часто візуалізувались синаптичні міхурці з неоднорідною та інтенсивноосміофільною, іноді хвилястою мембраною. Досить часто спостерігали аглютинацію синаптичних міхурців. В цитоплазмі пресинаптичного відростка з'являлись тонкі осміофільні нитки.

Пре- та постсинаптичні мембрани були переважно збережені. Лише подекуди спостерігали часткову деструкцію пресинаптичної, рідше постсинаптичної мембрани. Відзначали інтенсивну осміофільність пре- та постсинаптичної мембран (рис. 6), що свідчить про розвиток процесів стійкої деполяризації. Також відзначали адгезію синаптичних міхурців до пресинаптичної мембрани.



Рис. 5. Зменшення кількості синаптичних міхурців та зміна їх форми. Електронogramма x 32000

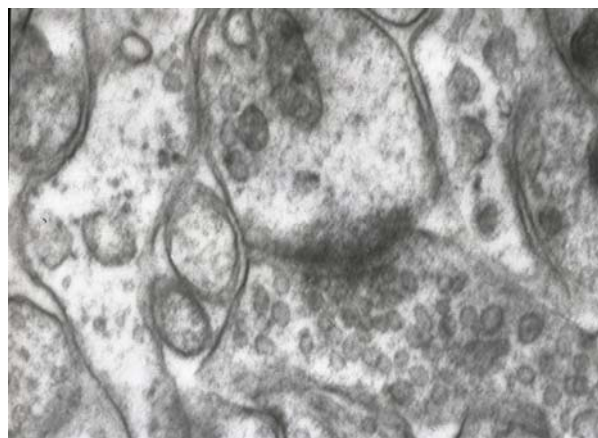


Рис. 6. Інтенсивна осміофільність пре- та постсинаптичної мембран. Адгезія синаптичних міхурців до пресинаптичної мембрани. Електронogramма x 44000

Зміни у синаптичних міхурцях також супроводжувались значним пошкодженням мітохондрій. Зокрема, мітохондрії у цитоплазмі пресинаптичного відростка візуалізувались рідко. Відзначали набухання матриксу мітохондрій. Кристи в мітохондріях руйнувались. Контур зовнішньої та внутрішньої мембран мітохондрій був нерівним. Відзначали просвітлення, а також вакуолізацію матриксу мітохондрій. Подекуди траплялись мітохондрії з інтенсивноосміофільним матриксом. Зустрічались частково або повністю зруйновані мітохондрії.

Під час розтину відбирали матеріал для хіміко-токсикологічного дослідження. Унаслідок проведення дослідження екстракту з відібраного вмісту вола індиків методом тонкошарової хроматографії на папері з проявленням йодвісмутним реактивом отримано якісну позитивну реакцію щодо сполуки діазинон [O, O-діетил-O-(2-ізопропіл-4-метилпіримідил-6)тіофосфат]. Чутливість реакції 4 мкг/см².

Висновки

Під час отруєння домішних індиків діазиноном виявлено зниження активності ацетилхолінестерази, виражену нервову симптоматику, а у термінальні періоди хвороби серцево-судинну недостатність, що супроводжувалась ціанозом шкіри. У головному мозку реєстрували гіперемію, стази, діapedезні крововиливи, периваскулярні набряки, важкі зміни нервових клітин. За електронномікроскопічного дослідження також виявили деструкцію синапсів у великих півкулях головного мозку, мозочку та довгастому мозку.

Перспективи подальших досліджень. Перспективними напрямками подальших досліджень є вивчення гістохімічних змін, з визначенням концентрації та локалізації ацетилхоліну у головному мозку, патогенезу уражень внутрішніх органів за дії діазинону. Також необхідно вивчити можливість розвитку нехोलінергічних ефектів за дії діазинону, розробити ефективні методи лікування отруєнь фосфорорганічними пестицидами.

References

Aleksandrova, L.G., & Goncharenko, N.G. (1983). Raszpredelenie i vyvedenie diazinona iz organizma teplokrovnyh zhivotnyh pri razlichnyh putjah postuplenija. *Gigiena i sanitarija*, 5, 68–70 (in Russian).

Horalskyi, L.P., Khomych, V.T., & Kononskyi, O.I. (2005). Osnovy histolohichnoi tekhniki i morfofunktsionalni metody doslidzhen u normi ta pry patolohii: navch. posib. Zhytomyr: Polissia (in Ukrainian).

Dagaev, V.N., Iskanderov, A.I., & Samibaev, K.M. (1991). Kliniko-morfologicheskaja toksikodinamika otravlenij fosfororganicheskimi insekticidami. *Sudebno-medicinskaja jekspertiza*, 2, 34–37 (in Russian).

Dankovych, R.S., & Tumanov, V.V. (2016). Patomorfologichni zminy za spontannoho otruiennia holubiv diazynonom. *Naukovyi visnyk Lvivskoho natsionalnoho universytetu veterynarnoi medytsyny ta biotekhnolohii im. S.Z. Hzhyskoho*, 18, 3(70), 74–77. doi: 10.15421/nvlvet7017 (in Ukrainian).

Ermohin, P.N. (1969). *Gistopatologija central'noj nervnoj sistemy*. Moskva: Medicina (in Russian).

Lapach, S.N., Chubenko, A.V., & Babich, P.N. (2000). Statisticheskie metody v mediko-biologicheskikh issledovaniyah s ispol'zovaniem Excel. Kyiv: MIRION (in Russian).

Lempert, M.D. (1968). *Biohimicheskie metody issledovanija*. Kishinev (in Russian).

Bahriy, M.M., & Dibrova, V.A. (2016). *Metodyky morfologichnykh doslidzhen: monohrafiia*. Vinnytsia: Nova knyha (in Ukrainian).

Merkulov, G.A. (1969). *Kurs patogistologicheskoy tehniky*. L.: Medicina (in Russian).

Nedopytanska, M.N. (2010). Diazynon. Problema kantserohennoi nebezpeky ta pereotsinka toksykologichnykh vlastyvostei. *Sovremennyje problemy toksykolohii*, 4, 29–38 (in Ukrainian).

Filov, V.A. (1964). *Opreделение jadohimikatov v biologicheskikh substratah*. Leningrad, Nauka (in Russian).

Alam, M. N., Chowdhury, M.A.Z., Hossain, M.S., Mijanur Rahman, M., Rahman, M.A., Gan, S.H., & Khalil, M.I. (2015). Detection of Residual Levels and Associated Health Risk of Seven Pesticides in Fresh Eggplant and Tomato Samples from Narayanganj District, Bangladesh. *Journal of Chemistry*, 2015, 1–7. doi: 10.1155/2015/243574.

Al-Attar, A.M., Elnaggar, M.H.R., & Almalki, E.A. (2017). Protective effect of some plant oils on diazinon induced hepatorenal toxicity in male rats. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 24(6), 1162–1171 doi: 10.1016/j.sjbs.2016.10.013.

Botha, C., Coetser, H., & Labuschagne, L. (2015). Confirmed organophosphorus and carbamate pesticide poisonings in South African wildlife (2009–2014). *Journal of the South African Veterinary Association*, 86(1), 1329–1335. doi: 10.4102/jsava.v86i1.1329.

Cox, C. (2000). Diazinon: toxicology. *Journal of pesticide reform*, 20(2), 15–21. <http://www.wolf.sk/dok/pesticidy/diazinontox.pdf>.

Maleki, L., Sadrabadi Haghighi, R., & Bazregar, A.B. (2016). The study of environmental impact quotient (EIQ) of pesticides used in wheat and barley farms in Mashhad. *Būm/shināsī-i kishāvarzī*, 7(1), 109–119. doi: 10.22067/jag.v7i1.48270.

Majeed, S.K., & Al-Sereah Bahaa, A. (2012). Toxological and pathological study of diazinon on male wild pigeon (*Columba livia gaddi*) in Basrah City. *Bas. J. Vet. Res.*, 11(1), 270–282. <https://www.iasj.net/iasj?func=fulltext&aId=54854>.

Mulish, M., & Welsh, U. (2010). Romeis. *Mikroskopische technic*. Heidelberg, 127–154.

Proskocil, B.J., Bruun, D.A., Thompson, C.M., Fryer, A.D., & Lein, P.J. (2010). Organophosphorus pesticides decrease M2 muscarinic receptor function in guinea pig

- airway nerves via indirect mechanisms. PLoS ONE, 5(5), e10562. doi: 10.1371/journal.pone.0010562.
- Rady, M. (2009). Effects of exposure to Diazinon on the lung and small intestine of Guinea pig, histological and some histochemical changes. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 52(2), 317–326. doi: 10.1590/S1516-89132009000200008.
- Sarhan, O.M., & Al-Sahhaf, Z.Y. (2011). Histological and biochemical effects of diazinon on liver and kidney of rabbits. *Life Science Journal*, 1183–1189. http://www.lifesciencesite.com/lcj/life0804/145_89361ife0804_1183_1189.pdf.
- Yilmaz, N., Yilmaz, M., & Altuntas, I. (2012). Diazinon-induced brain toxicity and protection by vitamins E plus C. *Toxicology and industrial health*, 28(1), 51–57. doi: 10.1177/0748233711404035.