

гностика и лечение) / О.В. Вологодская. — Автореф. дисс...канд. вет. наук. — Омск, 2006. — 20 с. 3. Смирнова, Л.И. Выделение и дифференциация урогенитальных микоплазм от крупного рогатого скота [Текст] // Л.И. Смирнова, К.В. Племяшов, Л.В. Темникова / Ветеринария. — 2008. — № 8. — С. 9-10. 4. Коромыслов, Г.Ф. Микоплазмозы в патологии животных [Текст] / Г.Ф. Коромыслов, Я. Месарош, Л. Штипкович. — М.: ВО Агропромиздат, 1987. — 304 с. 5. Прозоровский, С.В. Медицинская микоплазмозология [Текст] / С.В. Прозоровский, И.В. Раковская, Ю.В. Вульфвич. — М.: Медицина, 1995. — 310 с. 6. Стегній, Б.Т. Діагностика мікоплазмозів птиці (методичні рекомендації) [Текст] / Б.Т. Стегній, В.В. Кіприч, О.В. Обуховська та інші. — Харків, 2008. — 29 с.

INTRAVITAL DIAGNOSIS OF THE CATTLE MYCOPLASMOSIS WITH APPLICATION OF DIFFERENT SCHEMES OF PREPARATION OF PATHOLOGICAL MATERIAL SAMPLES

Orlov S.N., Obukhovskaya O.V., Glebova K.V.

National Scientific Centre «Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine»,
Kharkov

It is proved, that the most effective at carrying out of researches of the samples of pathological material from cattle on mycoplasmosis was use of the transport medium with addition of penicillin, streptomycin and nystatin. One time or double freezing of sample of pathological material does not result in inhibition of concomitant microflora, but also does not depress growth of mycoplasma. Scheme with application of one-day incubation of sample in the transport medium with subsequent reinoculation on diagnostic mediums was considered the most effective.

УДК 619:615.9:612.015

ЗМІНИ АКТИВНОСТІ ІНДИКАТОРНИХ ФЕРМЕНТІВ ПЕЧІНКИ КУРЕЙ ЗА УМОВ ОДНОРАЗОВОГО ПЕРОРАЛЬНОГО ВВЕДЕННЯ ФУРАДАНУ

Пащук Ю.Г.

Національний науковий центр «Інститут експериментальної
і клінічної ветеринарної медицини», м. Харків

Метою роботи було визначити зміни активності індикаторних ферментів печінки курей за умов одноразового перорального введення фурадану. Під впливом фурадану за умов одноразового перорального введення в дозах 2,5 та 5,0 мг/кг маси тіла в організмі курей відзначали підвищення активності індикаторних ферментів — АсАТ, АлАТ і ЛДГ в сироватці крові. У тканині печінки було встановлено пригнічення активності АсАТ, АлАТ і ЛДГ. Ці зміни були встановлені на ранніх строках інтоксикації (через чотири години, одну та три доби після введення пестициду). На сьому добу досліді змін з боку вказаних показників майже не спостерігали.

Фурадан — пестицид з групи похідних карбамінової кислоти. багатофункціональної дії. Він широко використовується в сільському господарстві як акарицид, інсектицид, нематод і фунгіцид [1].

Цей пестицид пригнічує активність холінестерази мозку, сироватки (плазми), еритроцитів та м'язів, чим і пояснюється його основна токсична дія на організм тварин, що описано в роботах багатьох учених [2, 3]. Окрім цих даних у джерелах літератури майже немає інформації щодо впливу цього пестициду на активність індикаторних ферментів печінки.

Як відомо, у свійських тварин та птиці вміст АсАТ у печінці превалює над вмістом АлАТ [4]. До того ж встановлено, що обидві амінотрансферази містяться як у цитоплазмі, так і в мітохондріях гепатоцитів, хоча і в різних співвідношеннях: АлАТ превалює в цитоплазмі, а АсАТ, навпаки, у мітохондріях [4, 5, 6]. Загальна ЛДГ представлена в клітинах печінки головним чином ізоформою — ЛДГ₅.

Метою нашої роботи було визначити зміни активності індикаторних ферментів печінки курей за умов одноразового перорального введення фурадану.

Матеріали та методи. Робота виконувалась у лабораторії токсикологічного моніторингу Центру токсикологічних досліджень Національного наукового центру «Інс-394

титут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини». Експериментальні дослідження проводили на курях — крос важка м'ясна Гібро ПГ, масою 3000-4000 г, яких утримували у віварії ННЦ «ІЕКВМ». Годування здійснювали за раціонами та нормами, рекомендованими для даного виду тварин. Доступ до води був необмеженим.

Фурадан у вигляді водного розчину вводили в зоб курям за допомогою спеціального зонду. Було сформовано контрольну та дві дослідні групи тварин: першій одноразово вводили дослідний пестицид у дозі 2,5 мг/кг маси тіла, другій — 5,0 мг/кг.

Упродовж проведення дослідів за птицею вели клінічні спостереження. Через 4 години, 1, 3 і 7 діб після введення фурадану проводили декапітацію курей після попереднього легкого хлороформного наркозу, по чотири птиці з групи. Потім відбирали проби крові для визначення змін активності індикаторних ферментів печінки.

За допомогою наборів "Філісіт-Діагностика" (Україна, Дніпропетровськ) визначали активність аспартатаміотрансферази (АсАТ, КФ 2.6.1.1) та аланінаміотрансферази (АлАТ, КФ 2.6.1.2) — методом Райтмана-Френкеля; також встановлювали активність лактатдегідрогенази (ЛДГ, КФ 1.1.1.27) за методом Севела-Товарек [7].

Результати досліджень. За результатами досліджень у тканині печінки активність АсАТ у 5,8 рази перевищувала вміст АлАТ, а активність сироваткової АсАТ у 4,2 рази перевищувала активність АлАТ у контрольній групі через чотири години дослідів. У першій дослідній групі в цей строк проведення експерименту спостерігали зниження рівня печінкової АсАТ на 17 % (табл.), що супроводжувалося збільшенням активності сироваткової АсАТ на 12 %. У другій дослідній групі підвищення становило 43 та 16 % відповідно.

Через одну добу активність печінкового ферменту також знижувалася на 27 % відносно контролю, що відповідало аналогічному підвищенню сироваткової АсАТ — на 27 %. У курей другої дослідної групи зниження активності ферменту в печінці було більше та становило 35 %, тоді як у сироватці крові активність АсАТ підвищувалася на 28 %.

На третю добу дослідів, ступінь збільшення цього показника порівняно з контролем у тканині печінки, почав зменшуватись і становив у першій групі 12,5 %, а в другій — 20 %. У сироватці крові активність АсАТ також залишалася збільшеною, але в меншому ступені, відповідно на 14 та 16 %.

Наприкінці дослідів — сьома доба — активність ферменту печінки першої групи не відрізнялася вірогідно від контрольної, а в другій групі спостерігалася лише тенденція до збільшення активності. У той же час активність АсАТ у сироватці крові залишилася незначно підвищеною як у першій, так і в другій дослідних групах, на 8 та 10 % відповідно.

Зважаючи на те, що в гепатоцитах переважає мітохондріальний ізофермент АсАТ, одержані дані свідчать про глибоке ушкодження печінкових клітин.

Активність АлАТ (табл.) у тканині печінки також знижувалася вже через чотири години після введення фурадану курям, у першій групі на 27 %, а в другій — на 40 %, що було більшим за пригнічення активності АсАТ у цей же термін. Це може бути пов'язано з переважанням частки АлАТ у цитоплазмі тканини печінки, оскільки цей фермент швидше проникає в загальний кровотік (судинне русло), ніж мітохондріальний фермент АсАТ [4, 5]. У сироватці крові в цей період дослідів активність АлАТ у першій групі перевищувала на 14 %, а в другій — на 22 % рівень цього ферменту в контролі.

Через одну добу активність АлАТ у печінці ще більше зменшувалась. У курей першої дослідної групи на 35 % і другої — на 47 %. Це супроводжувалося істотним зростанням її рівня в сироватці крові, на 65 та 68 % відповідно до дослідних груп, що вище за збільшення активності сироваткової АсАТ у цей період дослідів. Це також може бути пов'язано з процесами деструкції зовнішніх клітинних мембран.

На третю добу дослідів рівень активності АлАТ у печінці вже незначно відрізнявся від контролю. У цей період дослідів відзначали лише тенденцію зменшення активності АлАТ у курей першої дослідної групи на 8 %, а другої — на 12 %. У той же час активність сироваткової АлАТ залишалась істотно підвищеною — на 39 % у першій дослідній групі та на 55 % — у другій.

Таблиця — Активність індикаторних ферментів печінки курей за умов одноразового перорального введення фурадану ($M \pm m$, $n=4$)

| Дослідні групи | Строки дослідження після введення фурадану | | | |
|--------------------------------|--|--------------|--------------|--------------|
| | 4 години | добы | | |
| | | 1 | 3 | 7 |
| АсАТ, ммоль/год *кг (печінка) | | | | |
| Контроль | 347,0±3,9 | 350,0±5,5 | 364,0±5,4 | 353,3±6,5 |
| 2,5 мг/кг | 288,0±4,0*** | 255,5±8,2*** | 318,5±7,0** | 357,8±6,9 |
| 5,0 мг/кг | 197,8±4,3*** | 227,5±7,0*** | 291,8±7,7*** | 364,0±8,4 |
| АсАТ, ммоль/год *л (сироватка) | | | | |
| Контроль | 3,66±0,09 | 3,69±0,12 | 3,72±0,10 | 3,63±0,10 |
| 2,5 мг/кг | 4,09±0,14 | 4,69±0,11*** | 4,25±0,04** | 3,92±0,06 |
| 5,0 мг/кг | 4,24±0,08 | 4,74±0,09*** | 4,30±0,05** | 4,00±0,08 |
| АлАТ, ммоль/год *кг (печінка) | | | | |
| Контроль | 82,0±3,2 | 84,6±4,3 | 82,0±3,2 | 81,0±3,2 |
| 2,5 мг/кг | 60,1±3,7** | 57,2±5,0** | 75,4±4,6 | 82,9±3,8 |
| 5,0 мг/кг | 49,3±3,1*** | 45,5±2,0*** | 72,2±4,0 | 85,5±5,4 |
| АлАТ, ммоль/год *л (сироватка) | | | | |
| Контроль | 0,63±0,07 | 0,57±0,03 | 0,56±0,04 | 0,62±0,04 |
| 2,5 мг/кг | 0,72±0,09 | 0,94±0,07** | 0,78±0,03** | 0,94±0,04** |
| 5,0 мг/кг | 0,77±0,03 | 0,96±0,08** | 0,87±0,06** | 1,07±0,06*** |
| ЛДГ, ммоль/год *кг (печінка) | | | | |
| Контроль | 90,6±4,1 | 92,5±4,6 | 80,6±2,8 | 80,1±3,4 |
| 2,5 мг/кг | 90,0±6,6 | 67,5±3,2** | 65,0±2,7** | 86,9±6,2 |
| 5,0 мг/кг | 89,4±6,6 | 68,8±3,3** | 57,2±2,7*** | 86,3±4,8 |
| ЛДГ, ммоль/год *л (сироватка) | | | | |
| Контроль | 1,70±0,05 | 1,71±0,09 | 1,75±0,08 | 1,72±0,06 |
| 2,5 мг/кг | 2,31±0,04*** | 2,65±0,11*** | 3,01±0,13*** | 1,78±0,07 |
| 5,0 мг/кг | 2,61±0,09*** | 3,01±0,07*** | 3,24±0,12*** | 1,05±0,07 |

Примітки: 1. * — $P < 0,05$; 2. ** — $P < 0,01$; 3. *** — $P < 0,001$ (відносно контролю).

Через сім діб після введення курям досліджуваного пестициду в тканині печінки не було встановлено відмінностей активності АлАТ між контрольною та першою дослідною групами. У курей другої групи, що отримала більшу дозу фурадану, лише залишилася тенденція до підвищення активності ферменту. У сироватці крові курей обох дослідних груп у цей час, навпаки, активність АлАТ була значно підвищеною. У першій дослідній групі (доза 2,5 мг/кг) — на 52 %, а в другій (доза 5,0 мг/кг) — на 73 %.

Активність ЛДГ через чотири години від початку експерименту в обох дослідних групах вірогідно не відрізнялася від контролю (табл.). Відомо, що цей фермент з'являється в сироватці крові в разі ушкоджень печінки в підвищеній кількості пізніше, ніж АлАТ і АсАТ.

Але в сироватці крові вже в цей період дослідів (чотири години) активність ЛДГ у курей першої дослідної групи підвищувалася на 36 %, а другої — на 53 % порівняно з контрольною. Можливо, це відбувалося за рахунок інших ізоферментів, що містяться практично в усіх органах і тканинах організму, де має місце гліколіз.

Через одну добу активність печінкової ЛДГ почала знижуватись: у першій дослідній групі на 27 % та в другій — на 26 %. Активність сироваткової ЛДГ на цей час зростала ще в більшому ступені в обох дослідних групах — на 55 % та 76 % відповідно. Це відображає участь усього організму в реакції на введення пестициду.

На третю добу дослідів в печінці курей першої дослідної групи мав місце менший ступінь зниження показника, ніж у попередньому терміні дослідження — на 20 %. У другій групі, навпаки, ця різниця збільшувалась і становила 29 %. Та ж залежність зберігалась і в сироватці крові курей: у першій групі рівень ЛДГ збільшився на 72 %, у другій — на 76 %.

а в другій — на 85 %. Тобто реакція організму на введення фурадану мала дозозалежний характер.

Через сім діб різниця активності цього ферменту в тканині печінки між контрольною та дослідними групами була відсутня. Те ж саме спостерігалось і в сироватці крові.

Таким чином, зміни активності індикаторних для печінки ферментів, таких як: АсАТ, яка характеризує пошкодження передусім мітохондріального апарату клітин; АлАТ та ЛДГ, збільшення активності яких може свідчити про ушкодження зовнішніх клітинних мембран. Підвищення активності цих ферментів у сироватці крові, яке відбувалося на фоні їх зниження в тканині печінки, може вказувати на ознаки наявності синдрому цитолізу.

Висновок. Під впливом фурадану за умов одноразового перорального введення в дозах 2,5 та 5,0 мг/кг маси тіла в організмі курей відзначали підвищення активності індикаторних ферментів — АсАТ, АлАТ і ЛДГ у сироватці крові. У тканині печінки було встановлено пригнічення активності АсАТ, АлАТ і ЛДГ. Ці зміни були встановлені на ранніх строках інтоксикації (через чотири години, одну та три доби після введення пестициду). На сьому добу дослідів змін з боку вказаних показників майже не спостерігали.

Список літератури

1. Допустимі дози, концентрації, кількості та рівні вмісту пестицидів у сільськогосподарській сировині, харчових продуктах, повітрі робочої зони, атмосферному повітрі, воді водоймищ, ґрунті: Державні санітарні правила та норми, ДСанПіН 8.8.1.2.3.4.-000-2001. — К., 2001. — 244 с. 2. Шепельська, Н.Р., Петрашенко, Л.П., Сапожнікова, Л.Д. Вплив інсектициду карбофурану на функцію гонад та фертильність шурів Wistar // Современные проблемы токсикологии. — 2001. — № 3. — С. 40–45. 3. Загрязнение пестицидами территории Российской Федерации как потенциальная опасность для здоровья населения / В.И. Чибураев, Я.Г. Двоскин, И.В. Брагина и др. // Гигиена и санитария. — 2003. — № 3. — С. 68–72. 4. Kaneko, J.J., Harvey, J.W., Bruss, M.L. Clinical biochemistry of domestic animals. — Fifth edition. — Academic Press, 1997. — 932 p. 5. Ветеринарна клінічна біохімія / В.І. Левченко, В.В. Влізло, І.П. Кондрахін та ін.; За ред. В.І. Левченка і В.Л. Галяса. — Біла Церква, 2002. — 400 с. 6. Комаров, Ф.И., Коровкин, Б.Ф., Меньшиков, В.В. Биохимические исследования в клинике. — Л.: Медицина, 1981. — 408 с. 7. Sevela, M., Tovarek, J. Method of LDH determination // Čas. Lek. Česk. — 1959. — Vol. 98, № 27. — P. 844.

CHANGES OF ACTIVITY OF CHICKEN LIVER INDICATOR ENZYMES UNDER THE CONDITIONS OF ONE-TIME PER ORAL INTRODUCTION OF FURADAN

Paschuk Yu.G.

National Scientific Center “Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine”,
Kharkiv

The purpose of work was to determine changes of activity chicken liver indicator enzymes under the conditions of one-time per oral introduction of furadan. Under the influence of furadan at one time peroral introductions in the doses 2,5 and 5,0 mg/kg of body weight in the chicken organism there was marked increase of activity of indicator enzymes AST, ALT, LDH in blood serum. In the liver tissue oppression of activity of AST, ALT, LDH has been established. These changes have been established on early terms of intoxication (in four hours, in one and three days after introduction of pesticide). On the seventh days changes of specified indicators practically was not observed.