

УДК 619:615.9:577.1:543.272.82

КУЦАН О.Т., д-р вет. наук

ЛАПТЄВА К.А., аспірантка

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

e-mail: toxi-lab@vet.kharkov.ua

МЕЛЬНИК А.Ю., канд. вет. наук

Білоцерківський національний аграрний університет

ВМІСТ АЛЬБУМІНУ ТА ФРАКЦІЙНИЙ СКЛАД КАЛЬЦІЮ В СИРОВАТЦІ КРОВІ КУРЕЙ-НЕСУЧОК ЗА ХРОНІЧНОЇ ЕКСПОЗИЦІЇ ПЛЮМБУМУ АЦЕТАТУ

Отримані нові дані щодо динаміки альбуміну та фракційного складу кальцію у сироватці крові курей-несучок, які отримували плюмбуму ацетат у дозах 75, 150 та 300 мг/кг корму протягом 90 діб. Встановлено, що плюмбуму ацетат викликає вірогідне ($p < 0,001$) зниження альбуміну, загального, ультрафільтрувального та білокзв'язаного кальцію на усіх строках експерименту.

Ключові слова: плюмбуму ацетат, альбумін, кальцій, ультрафільтрувальний, білокзв'язаний.

Постановка проблеми. Сполуки важких металів, зокрема плюмбуму, належать до екологічних факторів ризику, що зумовлюють розвиток ендогенної інтоксикації за довготривалого надходження цього елемента в малих концентраціях з кормом та водою [1]. Відомо, що альбумін сироватки крові є важливою ланкою детоксикаційної системи, оскільки має здатність зв'язувати більшість ксенобіотиків, а саме іонів важких металів, які надходять до організму [2].

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Дані сучасної літератури свідчать про значну роль кальцію у процесі всмоктування плюмбуму. Так, основною ланкою взаємного впливу біометалу і плюмбуму є конкуренція за активні центри та порушення гомеостазу клітини за рахунок заміни кальцію на специфічних рецепторах [1–7]. Встановлено, що накопичення плюмбуму в кістках призводить до порушення процесу розчинення кальцій-апатитних комплексів, внаслідок чого кальцій не включається у процес мінерального обміну в достатній кількості, що призводить до гіпокальціємії (А.П. Авцын и соавт., 1991). Відомо, що альбумін сироватки крові є важливою ланкою детоксикаційної системи та має здатність зв'язувати більшість ксенобіотиків, а саме іонів важких металів, які надходять до організму. Зокрема, Кузьмічовою Л.В. та співавторами проведені дослідження функції альбуміну під впливом важких металів [8]. Водночас серед публікацій немає даних щодо негативного впливу ацетату плюмбуму на динаміку фракційного складу кальцію у сироватці крові курей-несучок високопродуктивних кросів. Отже, вивчення змін ультрафільтрувальної та білокзв'язаної фракцій кальцію у продуктивний період під впливом плюмбуму ацетату має практичне значення, оскільки дозволить виявити порушення метаболічних процесів на ранніх стадіях токсикозу та вчасно провести профілактичні заходи.

Мета дослідження – вивчити вплив хронічної експозиції плюмбуму ацетату на динаміку вмісту альбуміну та фракційного складу кальцію у сироватці крові курей-несучок.

Матеріали і методи досліджень. Вивчення токсичності плюмбуму ацетату були проведені на базі відділу токсикології, безпеки та якості сільськогосподарської продукції ННЦ «ІЕКВМ».

Об'єктом дослідження слугували кури-несучки кросу "Lohmann Brown" ($n=80$), віком 250 діб, масою тіла 1,6–2,0 кг, продуктивністю 98 %, які утримувалися в умовах віварію. До початку експерименту птицю протягом 14 діб для адаптації витримували в клітках на стандартному раціоні [9]. 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 щоденно вводили з комбікормом плюмбуму ацетат у дозах (у перерахунку на метал): I група – 75, II – 150, III – 300 мг/кг корму. Доступ до води не обмежували. Оцінку загального клінічного стану проводили щоденно один раз на добу. Загальний термін експерименту становив 90 діб. Під час проведення досліджень до-

тримувалися принципів біоетики відповідно до вимог Європейської конвенції із захисту експериментальних тварин (86/609 ЄС) [10].

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

У сироватці крові курей-несучок визначали наступні показники: рівень загального, ультрафільтрувального та зв'язаного з білками кальцію в реакції з гліоксаль-біс-2-гідроксіанілом у модифікації Л.І. Апуховської [11], альбуміну – турбодиметричним методом за виробничим набором “Філісіт-Діагностика” [12]. Результати біохімічних досліджень наведені у відповідності до Міжнародної системи одиниць, рекомендованої для використання у клінічній лабораторній практиці, та оброблені із застосуванням комп’ютерної програми STATISTICA 6.0 (StatSoft) для Windows [13,14]. Вірогідність розходжень між показниками оцінювали за критерієм Фішера.

Результати досліджень та їх обговорення. Клінічними дослідженнями було встановлено, що надходження плумбуму ацетату з кормом протягом дослідного періоду 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, гребінь та сережки еластичні, яскраво-червоного кольору, оперення гладеньке, щільно прилягало до поверхні тіла, продуктивність птиці дослідних груп не відрізнялася від контрольної і складала 98 %.

Оцінюючи характер змін біохімічних параметрів сироватки крові курей-несучок, встановлено вірогідне зменшення концентрації альбуміну на 30 добу у птиці I, II та III дослідних груп (доза 75, 150 та 300 мг/кг корму) на 14,32; 28,19 та 37,74 % відповідно (рис. 1).

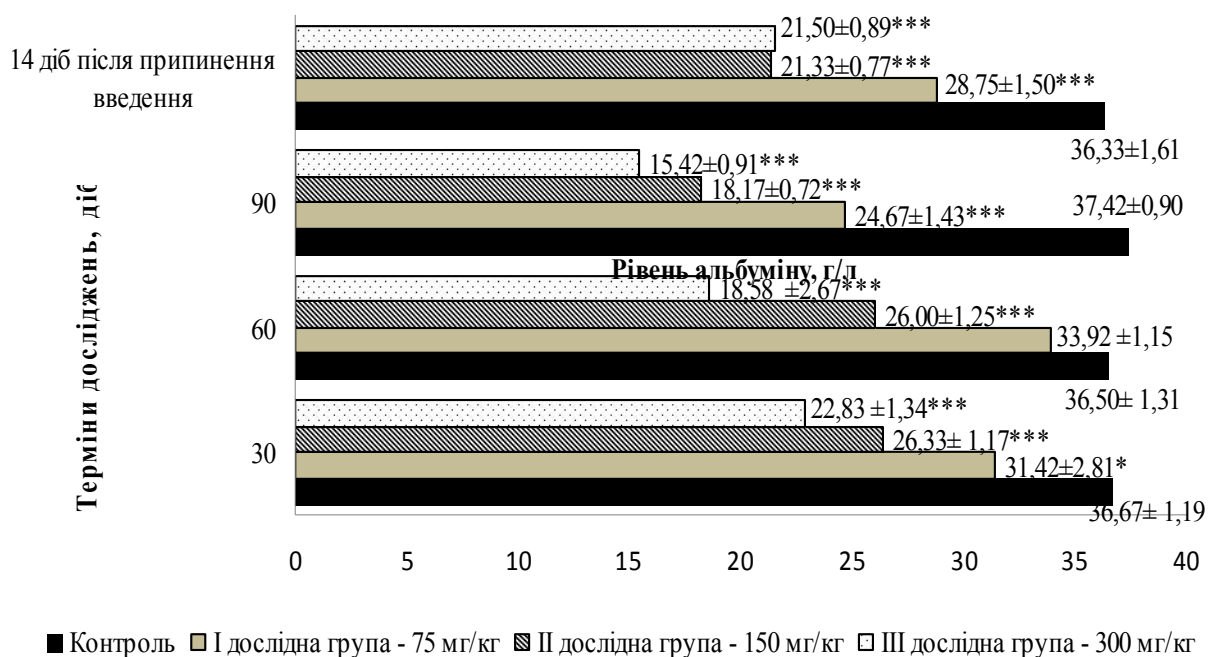


Рис. 1. Динаміка альбуміну у сироватці крові курей-несучок під впливом плумбуму ацетату в хронічному експерименті (M±m, n=20)

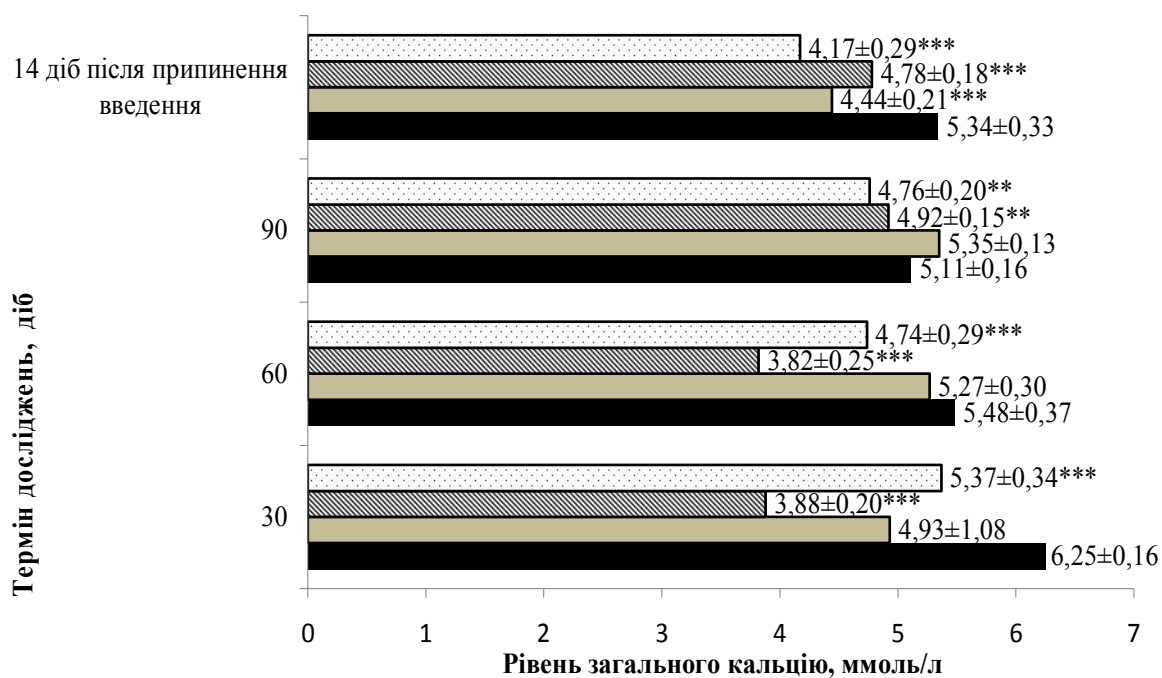
Примітки: * – p<0,05 – відповідно до показника у контролі;
*** – p<0,001 – відповідно до показника у контролі

На 60 добу експерименту рівень альбуміну у сироватці крові птиці II та III дослідних груп (доза 150 та 300 мг/кг корму) залишився вірогідно (p<0,001) нижчим за контрольні показники на 28,77 та 49,10 % відповідно. Встановлено, що надходження плумбуму ацетату у дозах 75, 150 та 300 мг/кг з кормом протягом 90 діб викликало вірогідне зниження концентрації альбуміну на

34,07; 51,44 та 58,79 % відносно контролю. Через 14 діб після припинення введення токсиканту до корму рівень альбуміну підвищився, порівняно з показниками попереднього терміну досліджень, однак залишився вірогідно ($p < 0,001$) нижчим за контроль у курей-несучок усіх дослідних груп (дози 75, 150 та 300 мг/кг корму) на 20,86; 41,29 та 40,82 % відповідно.

Вивчаючи динаміку фракційного складу кальцію, встановлено, що рівень загального кальцію на 30 добу вірогідно ($p < 0,001$) знизився у птиці з дослідних груп, яка отримувала плумбуму ацетат у дозах 150 та 300 мг/кг корму відповідно на 37,92 і 14,08%, порівняно з контрольним рівнем (рис. 2.), через 60 та 90 діб вірогідно зменшився на 30,29 і 13,50 % та 3,72 і 6,85 % відповідно. Через 14 діб після припинення введення плумбуму ацетату, вміст кальцію залишився зниженим в усіх дослідних групах на 16,85; 10,48 та 21,91 %, порівняно з контролем.

Концентрація ультрафільтрувального кальцію змінювалася протягом усього дослідного періоду. Так, у птиці II дослідної групи (150 мг/кг корму) рівень вірогідно ($p < 0,001$) знизився через 30 та 60 діб на 35,69 та 27,37 %.



■ Контроль ■ I дослідна група 75 мг/кг ▨ II дослідна група 150 мг/кг ▤ III дослідна група 300 мг/кг

Рис. 2. Динаміка загального кальцію у сироватці крові курей-несучок під впливом плумбуму ацетату в хронічному експерименті ($M \pm m$, $n=20$)

Примітки: ** – $p < 0,01$ – відповідно до показника у контролі;
*** – $p < 0,001$ – відповідно до показника у контролі

На 90 добу експерименту вміст ультрафільтрувального кальцію вірогідно підвищився в усіх дослідних групах, порівняно з контрольними показниками, на 33,89; 25,77 та 22,13 % відповідно, а через 14 діб після припинення введення токсиканту вірогідно ($p < 0,001$) знизився у птиці III дослідної групи на 20,49 % (рис. 3).

Слід відмітити зниження концентрації білокзв'язаної фракції кальцію на 30 та 60 добу експерименту у тварин II і III дослідних груп на 45,73 і 48,06 % та 44,79 і 48,96 % ($p < 0,001$). На 90 добу рівень значно знизився, порівняно з контрольними показниками, в усіх дослідних групах на 62,99; 72,72 та 74,03 % відповідно. Через 14 діб після припинення введення плумбуму ацетату вміст білокзв'язаного кальцію вірогідно зменшився на 29,41; 32,94 та 43,53 % відповідно (рис. 4).

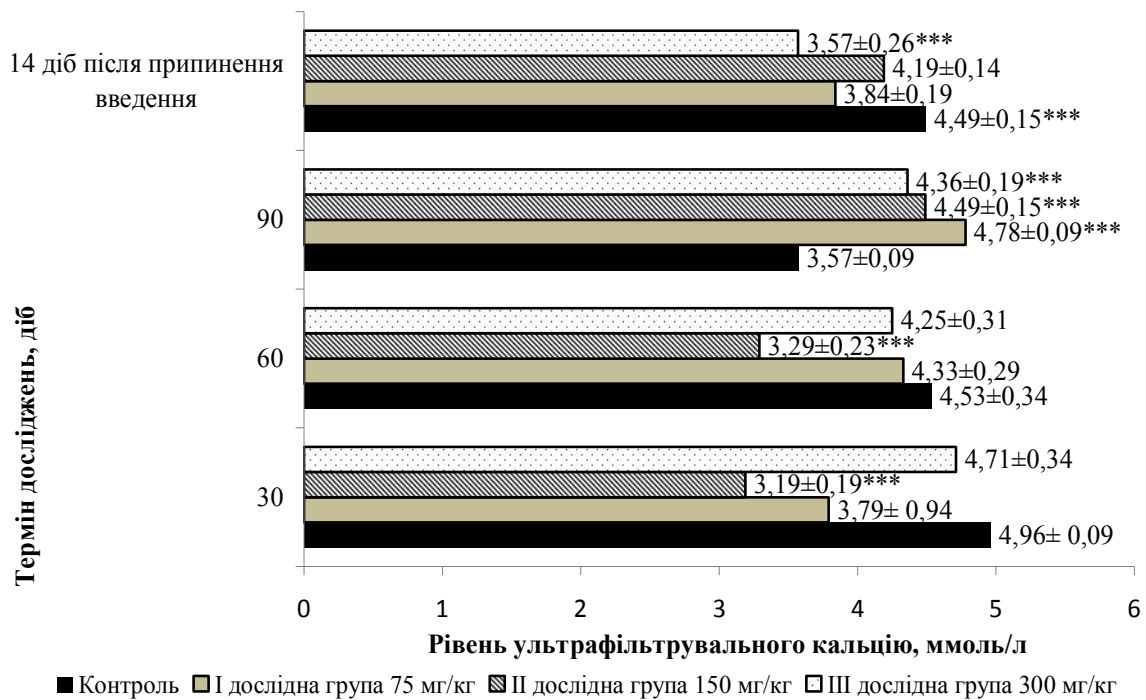


Рис. 3. Динаміка ультрафільтрувального кальцію у сироватці крові курей-несучок під впливом п्लомбуму ацетату в хронічному експерименті (M±m, n=20)

Примітки: ** – p<0,01 – відповідно до показника у контролі;
*** – p<0,001 – відповідно до показника у контролі

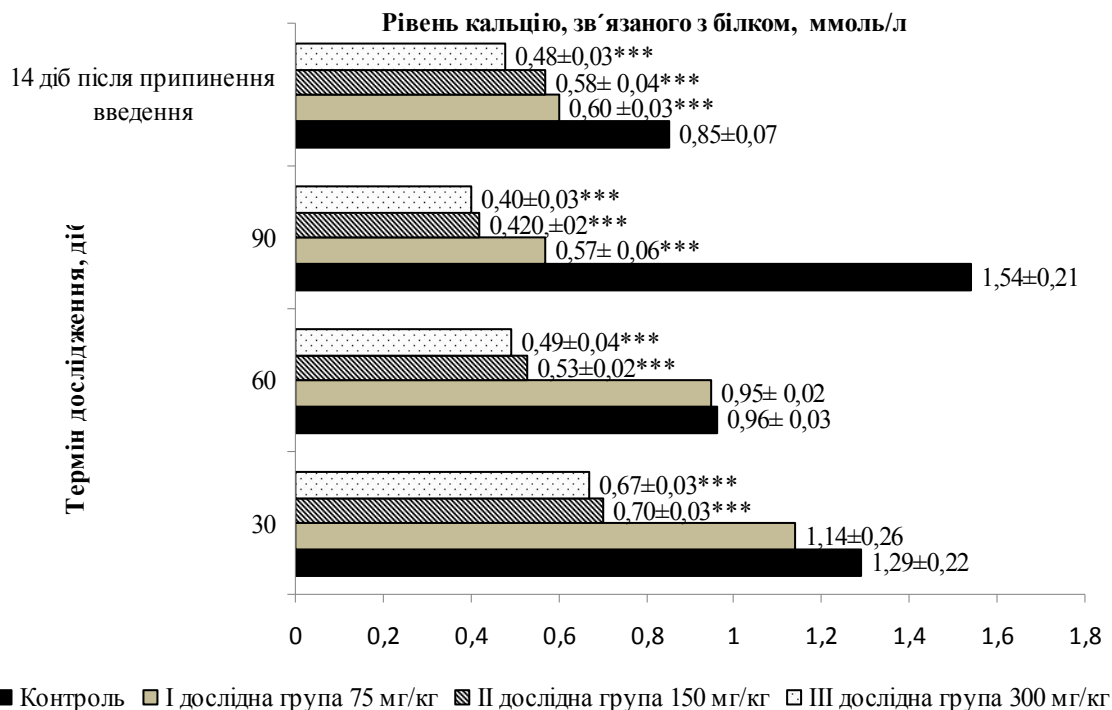


Рис. 4. Динаміка білокзв'язаного кальцію у сироватці крові курей-несучок під впливом п्लомбуму ацетату в хронічному експерименті (M±m, n=20)

Примітки: ** – p<0,01 – відповідно до показника у контролі;
*** – p<0,001 – відповідно до показника у контролі

Наявність гіпоальбумінемії є інформативно-діагностичною ознакою недостатності печінки, отже зменшення рівня альбуміну у курей-несучок протягом усього дослідного періоду свідчить про зниження інтенсивності його синтезу у печінці, що зумовлено розвитком дистрофічних процесів внаслідок гепатотоксичної дії п्लомбуму ацетату. За результатами досліджень встановлено, що зниження рівня альбуміну спричинює розвиток гіпокальціємічного стану в організмі курей-несучок. Враховуючи те, що мінеральний обмін у продуктивної птиці досить інтенсивний, ензимопатія та порушення кальцієвого гомеостазу може призвести до порушення функціонального стану клітин та зміни кальціє-фосфорної рівноваги.

Підсумовуючи результати досліджень, можна зробити висновок, що п्लомбуму ацетат за довготривалого надходження з кормом викликає зміни концентрації альбуміну та фракційного складу кальцію у сироватці крові курей-несучок. Тому визначення рівня альбуміну, загального, ультрафільтрувального та білокзв'язаного кальцію у сироватці крові можливо використовувати як маркер інтоксикації у разі отруєння курей-несучок сполуками п्लомбуму.

Висновки та перспективи подальших досліджень

1. Експозиція п्लомбуму ацетату у дозах 75, 150 та 300 мг/кг корму протягом 90 діб спричинює вірогідне зниження концентрації альбуміну у сироватці крові курей-несучок, що свідчить про порушення його синтезу у печінці та розвиток дистрофічних процесів у гепатоцитах.

2. Вірогідне зниження загального, ультрафільтрувального та білокзв'язаного кальцію у сироватці крові курей-несучок через 30, 60 та 90 діб введення п्लомбуму ацетату у дозах 75, 150 та 300 мг/кг корму зумовлене зниженням альбуміну, рівень якого є індикатором ендогенної інтоксикації.

3. Перспективою подальших досліджень є вивчення впливу різних доз п्लомбуму ацетату на функціональний стан печінки і нирок в курей-несучок упродовж продуктивного періоду.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Трахтенберг И.М. Тяжёлые металлы как химические загрязнители производственной и окружающей среды [Текст] / И.М. Трахтенберг // Довкілля та здоров'я. – 1997. – № 2. – С. 48–51.
2. Кузьмичева Л.В. Исследование функции альбумина при действии тяжёлыми металлами [Текст] / Л.В. Кузьмичева, Е.Г. Лопатникова, И.А. Пугачева // Успехи современного естествознания. – 2009. – №11. – С. 74.
3. Суханов Б.П. Экспериментальное изучение протекторной роли кальция при свинцовой интоксикации [Текст] / Б.П. Суханов [и др.] // Гигиена и санитария. – 1990. – № 12. – С. 47–49.
4. Godwin H.A. The biological chemistry of lead [Text] / H.A. Godwin // Current Opinion in Chemical Biology. – 2001. – Vol. 5. – P. 223–227.
5. Yamashita M.M. Where metal ions bind in proteins [Text] / M.M. Yamashita [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1990. – Vol. 87(15). – P. 5648–5652.
6. Goyer R.A. Toxic and essential metal interactions [Text] / R.A. Goyer // Annu. Rev. Nutr. – 1997. – Vol. 17. – P. 37–50.
7. Dowd T.L. The displacement of calcium from osteocalcin at submicromolar concentrations of free lead [Text] / T.L. Dowd [et al.] // Biochim. Biophys. Acta. – 1994. – Vol. 1226(2). – P. 131–137.
8. Fowler B.A. Roles of lead-binding proteins in mediating lead bioavailability [Text] / B.A. Fowler // Environ. Health Perspect. – 1998. – Vol. 106(6). – P. 1585–1587.
9. Бессарабова Р.Ф. Корма и кормление с.-х. птицы [Текст] / Р.Ф. Бессарабова, Л.В. Топорова, И.А. Егоров. – М.: Колос, 1992. – 270 с.
10. 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.
11. Методи лабораторної клінічної діагностики хвороб тварин / [текст] : навчальний посібник / Левченко В.І., Головаха В.І., Кондрахін І.П. [та ін.]; За ред. В.І. Левченка. – Київ: Аграрна освіта, 2010. – 437 с.
12. Інструкція до набору реактивів для визначення альбуміну в сироватці крові (кат № НР002.01) [Текст] – ТОВ НВП „Філісіт-Діагностика” – 2008. – 2 с.
13. Вараксин А.Н. Статистический анализ биологической и медицинской информации: проблемы и решения [Текст] / А.Н. Вараксин // Междунар. журн. мед. практик. – 2006. – № 2. – С. 35–38.
14. Боровиков В. Statistica: искусство анализа данных на компьютере для профессионалов [Текст] / В. Боровиков. – СПб.: Питер. – 2-е изд. – 2003. – 688 с.

Влияние хронической экспозиции п्लомбума ацетата на динамику содержания альбумина и фракционного состава кальция в сыворотке крови кур-несушек

А.Т. Куцан, Е.А. Лаптева, А.Ю. Мельник

Получены новые данные по динамике альбумина и фракционного состава кальция в сыворотке крови кур-несушек, которые получали п्लомбума ацетат в дозах 75,150 и 300 мг/кг корма в течение 90 суток. Установлено, что п्लомбума ацетат вызывает достоверное ($p<0,001$) снижение альбумина, общего, ультрафильтрованного и белоксвязанного кальция на всех сроках эксперимента.

Ключевые слова: п्लомбума ацетат, альбумин, кальций, ультрафильтрованный, белоксвязанный.