

УДК 619:577.1:616.992.28:636.5

ПОПОВА О.М., аспірантка

Науковий керівник – **БАЛИМ Ю.П.**, д-р вет. наук

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

lab.biochem.iekvm@mail.ru

ВПЛИВ ЗЕАРАЛЕНОНУ НА ПОКАЗНИКИ БІЛКОВОГО ОБМІНУ ЗА УМОВИ ТРИВАЛОГО ЙОГО НАДХОДЖЕННЯ ДО ОРГАНІЗМУ КУРЧАТ

У статті показано вплив зеараленону на показники білкового обміну сироватки крові за тривалого його надходження до організму курчат. Встановлено підвищення вмісту загального білка у сироватці крові курчат дослідних груп відносно цього показника у курчат контрольної групи. Дослідження показали, що підвищення рівня загального білка відбувається за рахунок глобулінової фракції, зокрема IgM. Підвищення активності АлАТ і АсАТ реєстрували протягом всього періоду дослідження зеараленону до організму зумовило зниження приросту маси тіла курчат.

Ключові слова: зеараленон, мікотоксикоз, курчата, сироватка крові, біохімічні показники.

Постановка проблеми. Контамінація мікотоксинами різних видів кормових та харчових продуктів на сьогодні є глобальною проблемою. Попередніми дослідженнями встановлено, що в Україні з 2005 до 2010 рр. зеараленоном було контаміновано близько 51 % досліджених кормів для птиці [1]. Група трихотеценових мікотоксинів включає зеараленон, який належить до метаболітів грибів роду *Fusarium* [2,3]. Зеараленон є лактоном резорцилової кислоти, просторова структура якого подібна до структури стероїдних гормонів, що надає йому естрогенної активності [4]. Цей токсин погіршує життєздатність курячих ембріонів, знижує виводимість яєць [5, 6].

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Вивченню токсичного впливу зеараленону на організм тварин присвячено багато досліджень науковців різних країн. Так, вченими Польщі досліджено гено- [7] та цитотоксичність зеараленону [8]. Ембріотоксична дія зеараленону розглянута науковцями РФ [8, 9]. Вплив зеараленону на продуктивність корів і органи відтворної та інших систем свиней досліджені вченими ФРН [10, 11]. Зміни органів статевих системи кобил під дією низьких доз зеараленону були темою досліджень угорських колег [12]. Вплив зеараленону на фізіологічні реакції сперматозоїдів кнурів вивчали науковці з Литви [13].

В Україні дію зеараленону на організм птиці досліджували співробітники Інституту птахівництва НААН України, зокрема вплив на збереженість та відтворні якості курей, стан антиоксидантного захисту та вплив мікотоксину на організм птиці в онтогенезі [14, 15]. На жаль, стан білкового обміну за токсикозу, спричиненого зеараленоном, залишився невивченим.

Мета досліджень – вивчити зміни біохімічних показників сироватки крові за умови тривалого надходження зеараленону до організму курчат, визначити критерії змін білкового обміну під впливом зеараленону.

Матеріали і методика досліджень. Дослід проводили у лабораторії клінічної біохімії та імунохімії ННЦ «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», експериментальні дослідження – на курчатах кросу КОББ-500 віком 14 діб, яких утримували у віварії ННЦ «ІЕКВМ». Перед дослідом курчат утримували 10 діб в адаптаційному періоді. Птиця мала вільний доступ до води та корму (основний раціон).

З метою проведення дослідів було сформовано чотири групи курчат: три дослідних та одна контрольна, по 15 у кожній. Курчата першої дослідної групи впродовж 30 діб отримували додатково до основного раціону зеараленон у дозі 0,5 мг/кг корму, другої та третьої – 1,0 та 2,0 мг/кг. Птиця четвертої групи була контрольною, отримувала основний раціон без додавання мікотоксину. Годували птицю вранці та ввечері по дві години, що забезпечувало повне поїдання корму. Доступ до води був вільним.

Упродовж проведення дослідів вели спостереження за клінічним станом птиці. На 7, 14 та 30-ту добу згодовування зеараленону птицю зважували, далі проводили декапітацію курчат після попереднього легкого хлороформного наркозу, по п'ять голів з кожної групи, відбирали проби крові для визначення біохімічних показників.

У сироватці крові визначали біуретовою реакцією вміст загального білка і альбуміну, білкових фракцій, активність аспартат- (АсАТ) та аланін- (АлАТ) амінотрансфераз з використанням комерційних наборів ПрАТ «Реагент», рівень імуноглобулінів – за Манчіні [16–18].

Результати досліджень та їх обговорення. Спостереження за клінічним станом птиці під час проведення дослідів не виявило будь-яких змін у їх поведінці. Птиця була активною, охоче приймала корм та воду.

Аналізуючи отримані результати біохімічних досліджень сироватки крові, з'ясували, що на сьому добу надходження зеараленону рівень загального білка у крові курчат першої та другої дослідних груп зростав на 12,6 і 35,3% відносно показника у контрольній групі. У крові курчат третьої дослідної групи рівень загального білка вірогідно перевищував контрольний показник на 42,2% ($p < 0,01$). Курчата другої і третьої дослідних груп на чотирнадцяту добу надходження зеараленону мали підвищення рівня загального білка на 17,1 та 21,4 % відповідно. Наприкінці дослідів зберігалася тенденція до зниження рівня загального білка у сироватці крові курчат дослідних груп, але статистично вірогідні зміни, порівняно з рівнем білка у сироватці крові курчат контрольної групи, виявлено лише у третій групі ($p < 0,01$) (табл. 1).

Таблиця 1 – Зміни загального білка (г/л) за умов тривалого надходження зеараленону до організму курчат ($M \pm m$, $n=5$)

Дослідні групи	Термін надходження зеараленону		
	7 діб	14 діб	30 діб
Контроль	36,4 $\pm$ 3,6	37,3 $\pm$ 3,0	39,4 $\pm$ 1,5
0,5 мг/кг	41,0 $\pm$ 3,5	39,1 $\pm$ 1,4	39,6 $\pm$ 0,7
1,0 мг/кг	49,3 $\pm$ 6,7	43,7 $\pm$ 2,9	41,2 $\pm$ 0,6
2,0 мг/кг	51,8 $\pm$ 2,45**	45,3 $\pm$ 0,5*	42,9 $\pm$ 0,4*

Примітка: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$ відносно контролю.

Упродовж дослідів змін рівня альбуміну в крові курчат дослідних груп не виявлено (табл.2), однак після аналізу глобулінових фракцій протеїнограми на сьому добу відзначено підвищення рівня α - і γ -глобулінів. Уміст β -глобулінів не мав вірогідних змін порівняно з контролем. На сьому добу дослідів в сироватці крові курчат другої групи, які отримували 1,0 мг/кг корму зеараленону, вміст α -глобулінів перевищував контрольний показник на 67,5%, а третьої (доза зеараленону 2,0 мг/кг) – 73,1 % ($p < 0,001$). У курчат, які отримували зеараленон у дозі 0,5 мг/кг корму, рівень γ -глобулінів зростав на 42,2 %, другої та третьої груп – 76,7 та 84,4 % ($p < 0,001$).

Через чотирнадцять діб згодовування зеараленону рівень α -глобулінів у курчат першої групи знизився до рівня цього показника у курчат контрольної групи, вміст β -глобулінів не мав вірогідних відмінностей від контрольного показника. Вміст γ -глобулінів у сироватці крові курчат дослідних груп був вищим за контрольний показник: у першій групі на 23,3 %, другій і третій – 38,9 та 44,4 % відповідно.

Таблиця 2 – Протеїнограма сироватки крові курчат за умов тривалого надходження зеараленону ($M \pm m$, $n=5$)

Дослідні групи	Білкові фракції, г/л			
	альбумін	глобуліни		
		α-	β-	γ-
Через 7 діб				
Контроль	16,1±1,0	5,7±0,3	5,6±0,3	9,0±0,5
0,5 мг/кг	16,6±0,9	5,9±0,5	5,7±0,5	12,8±0,9*
1,0 мг/кг	17,5±1,3	9,5±0,6***	6,3±0,4	15,9±0,8***
2,0 мг/кг	18,7±1,2	9,9±0,5***	6,6±0,6	16,6±0,6***
Через 14 діб				
Контроль	16,2±1,1	6,8±0,6	5,3±0,2	9,0±0,7
0,5 мг/кг	16,4±0,6	6,0±0,4	5,6±0,2	11,1±0,9
1,0 мг/кг	17,3±1,2	7,0±0,7	6,9±0,4	12,5±0,7
2,0 мг/кг	18,8±1,4	6,9±0,5	6,3±0,4	13,3±0,6*
Через 30 діб				
Контроль	16,7±1,1	6,8±0,4	6,6±0,5	9,3±0,6

0,5 мг/кг	16,5±1,0	6,0±0,3	5,1±0,2	12,0±0,9
1,0 мг/кг	16,6±0,9	6,1±0,5	6,5±0,4	12,6±1,0*
2,0 мг/кг	17,3±1,0	6,2±0,3	6,3±0,3	13,1±1,1*

Примітки: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$ відносно контролю.

На тридцяті добу досліду було встановлено підвищення рівня γ -глобулінів відносно контролю у крові курчат першої дослідної групи на 29,0%, другої і третьої – на 35,5 та 40,9 %.

Отже, упродовж досліду рівень γ -глобулінів у сироватці крові курчат дослідних груп, маючи тенденцію до зниження, був вищим за контрольний показник.

Аналіз отриманих результатів свідчить, що підвищення рівня глобулінів відбувалося за рахунок імуноглобулінів класу М (IgM). На сьому добу їх рівень у першій дослідній групі був вищим за контрольний показник на 63,1 %, у другій – 69,5, третій – 70,5%. На чотирнадцяті добу досліду перевищення рівня IgM у першій групі складало 73 % від контрольного показника, другій та третій – 78 та 81 %, через тридцять діб від початку досліду – на 55, 58,3 і 58,3 % відповідно (табл. 3).

Таблиця 3 – Зміни вмісту гамма-глобулінів (мг/мл) у сироватці крові курчат за тривалого надходження зearаленону ($M \pm m$, $n=5$)

Дослідні групи	Імуноглобуліни		
	IgG	IgM	IgA
Через 7 діб			
Контроль	5,38±0,3	0,95±0,05	0,75±0,01
0,5 мг/кг	6,34±0,4	1,55±0,07***	0,72±0,02
1,0 мг/кг	7,06±0,5*	1,61±0,06***	0,73±0,01
2,0 мг/кг	7,2±0,7*	1,65±0,07***	0,72±0,01*
Через 14 діб			
Контроль	6,11±0,8	1,0±0,07	0,74±0,03
0,5 мг/кг	6,46±0,6	1,73±0,09***	0,72±0,01
1,0 мг/кг	6,52±0,4	1,78±0,09***	0,70±0,01
2,0 мг/кг	6,6±0,5	1,81±0,09***	0,70±0,02
Через 30 діб			
Контроль	6,72±0,4	1,2±0,05	0,79±0,01
0,5 мг/кг	6,50±0,3	1,86±0,07***	0,70±0,01***
1,0 мг/кг	6,50±0,8	1,9±0,08***	0,70±0,03*
2,0 мг/кг	6,57±0,6	1,9±0,09***	0,65±0,01***

Примітка. * – $p < 0,05$, *** – $p < 0,001$ відносно контролю.

На фоні підвищення вмісту IgM спостерігалась динаміка до зниження IgA: через 7 діб лише у курчат третьої групи, через 30 – в усіх трьох дослідних групах ($p < 0,001$).

Результати дослідження активності аспартатамінотрансферази (АсАТ) свідчать, що на сьому добу досліду цей показник підвищується у курчат усіх дослідних груп відносно контролю. На чотирнадцяті добу згодовування зearаленону активність АсАТ мала тенденцію до підвищення лише у другій групі, а на 30-ту – в усіх групах. Так, наприкінці досліду активність АсАТ була вищою за контроль на 4,9 % у першій, 10,6 та 15,0 % відповідно у другій і третій групах (рис. 1).

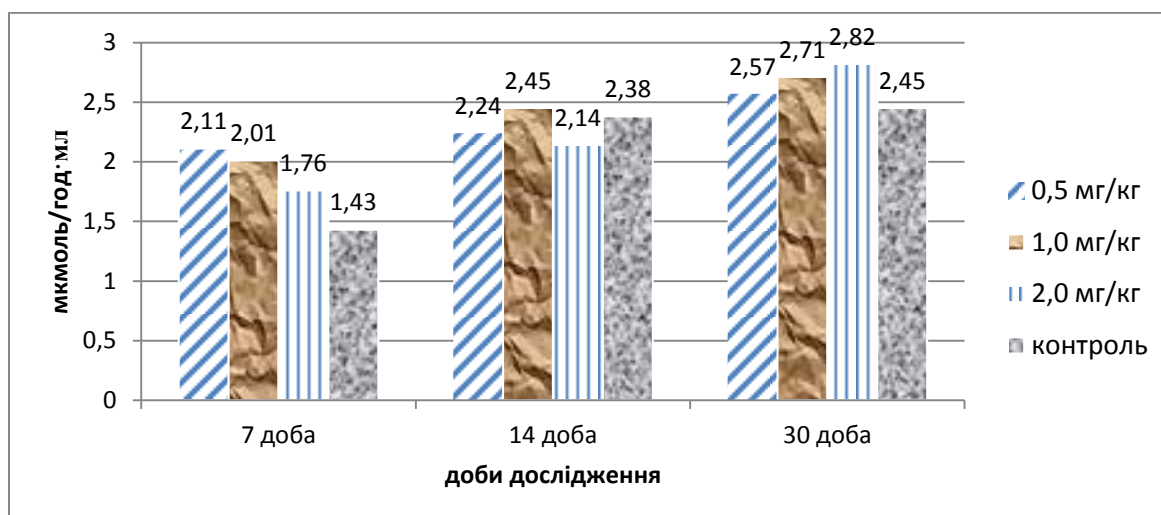


Рисунок 1. – Динаміка активності аспартатамінотрансферази у сироватці крові курчат за тривалого надходження зеараленону (n=5)

Активність аланінамінотрансферази (АлАТ) на сьому добу надходження зеараленону до організму курчат вірогідно не відрізнялась від контрольних показників. На чотирнадцяту добу дослідження активність АлАТ підвищилась у курчат другої та третьої груп на 46,1 та 30,1 % відповідно, залишаючись незначно підвищеною в першій групі (рис. 2).

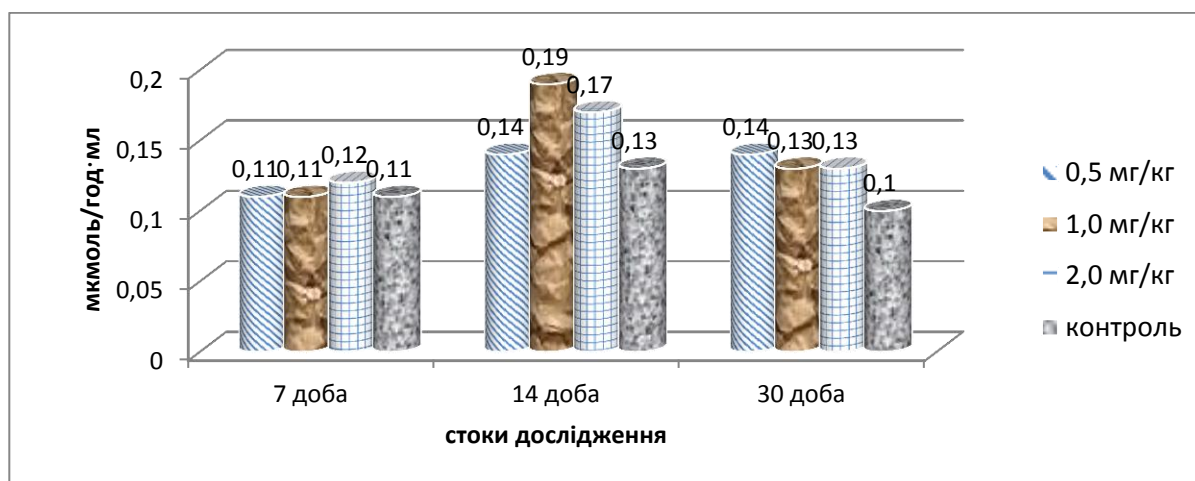


Рисунок 2. – Динаміка активності аланінамінотрансферази у сироватці крові курчат за тривалого надходження зеараленону (n=5)

Приріст маси тіла курчат першої дослідної групи наприкінці дослідження складав 117,9% від початкової, другої – 68,93; третьої – 45,46 %. Курчата контрольної групи підвищили свою початкову масу на 215,4%.

Висновки: 1. Надходження зеараленону протягом 30 діб до організму курчат у дозах 0,5; 1,0; 2,0 мг/кг корму не спричиняє клінічних проявів токсикозу.

2. Зеараленон за тривалого надходження призводить до підвищення рівня загального білка сироватки крові: максимальне (на 42,2%) – у курчат, що отримували зеараленон у дозі 2,0 мг/кг корму. Гіперпротеїнемія розвивається внаслідок зростання вмісту глобулінової фракції, зокрема IgM.

3. Підвищення активності АлАТ і АсАТ вказує на токсичну дію зеараленону на печінку, що проявляється порушенням проникності клітинних мембран гепатоцитів.

4. Надходження зеараленону до організму курчат призводить до зниження приросту маси тіла. Найменший приріст (на 45,5 % від маси тіла на початок дослідження) зареєстрований під час надходження зеараленону в дозі 2,0 мг/кг корму.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Труфанов О.В. Мониторинг загрязненности микотоксинами зерна и кормов в Украине в 2005-2010 гг. / О.В. Труфанов // Сучасні проблеми токсикології. – 2011. – №1–2. – С.35–39.
2. Fink-Gremmels J. Mycotoxins: their implications for human and animal health. // Vet Q. – 1999. – Vol. 21. – P.115–120.
3. Effects of zearalenone and product Toxy-Nil Plus Dryon physiological responses of boarsemen / [Kutra J., Siukscius A., Urbsys A. et al.] // Med.weter. – 2006. – Vol.62, № 1. – P. 43–46.
4. Riley R.T. Mechanistic interactions of mycotoxins: theoretical consideration. / In: Sinha K.K., Bhatanagar D. (Eds.) // Mycotoxins in Agriculture and Food Safety. Marcel Dekker, Inc, Basel, New York. – 1998. – P. 227–254.
5. Minervini F. Zearalenone and reproductive function in farm animals / F. Minervini, M.E. Dell'Aquila // Int. J. Mol. Sci. – 2008. – Vol.9. – P. 2570–2584.
6. Мікотоксикози птиці: етіологія, діагностика, профілактичні засоби і методи (результати 33-річних досліджень) / За ред. Котика А.М. і Труфанової В.О. – Харків, 2005. – 124с.
7. Packa D. Genotoxicity of fusarial mycotoxins / D. Packa // Postepy Nauk Rolniczych. – 2006. – Vol. 53. – № 6. – P. 53–76.
8. Stec J. Cytotoxicity of feed-borne mycotoxins to animal cell lines in vitro using the MTT assay/ J. Stec, M. Szczotka, J. Kuzmak // Bull. Veter. Inst. in Pulawy. – 2007. – Vol.51, № 4. – P. 679–684.
9. Валиуллин Л.Р. Эмбриотоксическое действие зearаленона и Т-2 токсина при их раздельном и сочетанном применении / Л.Р. Валиуллин, Э.Ю. Лодвигов // Ветеринарный врач. – 2008. – № 5. – С. 10–12.
10. Hochsteiner W. Einfluss von mykotoxinkontaminiertem Futter auf Leistungs parameter beim Milchrind / W. Hochsteiner, M. Schuh, K. Luger // Berl. u. munch. tierarztl. Wschr. – 2000. – Jg.113, № 1. – S. 14–21.
11. Tiemann U. In vivo and in vitro effect of zearalenone and deoxynivalenol on different non-reproductive and reproductive organs in female pigs: A review / U. Tiemann, S. Danicke // Food Additives & Contaminants. – 2007. – Vol.24. – № 3. – P. 306–314.
12. Effect of low-dose zearalenone exposure on luteal function, follicular activity and uterine oedema in cycling mares / [Juhasz J., Nagy P., Kulcsar et al.] // Acta veter. hung. – 2001. – Vol.49, № 2. – P. 211–222.
13. Малинин О.А. Ветеринарная токсикология [текст]: учеб. / О.А. Малинин, Г.А. Хмельницкий, А.Т. Куцан. – К., 2002. – 279 с.
14. Максимально допустимий рівень (МДР) зearаленону в кормах для курей (обґрунтування) / О.В. Труфанова, Н.І. Братишко, А.М. Котик, І.М. Сахачкий [Електронний ресурс]. – 2001. – Режим доступу: <http://www.avian.org.ua>
15. Шаповалов С.О. Особливості становлення антиоксидантного захисту та вплив мікотоксинів на організм птиці в онтогенезі: дис. на здобуття наук. ступеня канд. біол. наук: спец. 03.00.13 / С.О. Шаповалов; Ін-т птахівництва Української академії аграрних наук. – Д., 2003. – 156 с.
16. Кленина Н.В. Методические рекомендации по выделению иммуноглобулинов G, M и A классов, получению к ним моноспецифических антисывороток и определению их количества у крупного рогатого скота и птиц / Н.В. Кленина, В.С. Антонов, С.А. Михайлова // Метод. реком.: одобрены метод. комиссией Украинского ордена Трудового Красного Знамени науч.-исслед. ин-та эксп. вет. (Протокол № 11 от 5 мая 1983г.).
17. Методы ветеринарной клинической лабораторной диагностики: Справочник / [Кондрахин И.П., Архипов А.В., Левченко В.И. и др.]. – М.: КолосС, 2004. – 520 с.
18. Медведева М.А. Клиническая ветеринарная лабораторная диагностика / М.А. Медведева. – М.: Аквариум, 2009. – 416 с.

REFERENCES

1. Trufanov O.V. Monitoring zagryaznennosti mikotoksinami zerna i kormov v Ukraine v 2005-2010 gg. / O.V. Trufanov // Suchasni problemi toksikologii. – 2011. – №1–2. – S.35–39.
2. Fink-Gremmels J. Mycotoxins: their implications for human and animal health. // Vet Q. – 1999. – Vol. 21. – P.115–120.
3. Effects of zearalenone and product Toxy-Nil Plus Dryon physiological responses of boarsemen / [Kutra J., Siukscius A., Urbsys A. et al.] // Med.weter. – 2006. – Vol.62, № 1. – P. 43–46.
4. Riley R.T. Mechanistic interactions of mycotoxins: theoretical consideration. / In: Sinha K.K., Bhatanagar D. (Eds.) // Mycotoxins in Agriculture and Food Safety. Marcel Dekker, Inc, Basel, New York. – 1998. – P. 227–254.
5. Minervini F. Zearalenone and reproductive function in farm animals / F. Minervini, M.E. Dell'Aquila // Int. J. Mol. Sci. – 2008. – Vol.9. – P. 2570–2584.
6. Mikotoksikozi ptici: etiologija, diagnostika, profilaktichni zasobi i metodi (rezul'tati 33-richnih doslidzhen') / Za red. Kotika A.M. i Trufanovoї V.O. – Harkiv, 2005. – 124s.
7. Packa D. Genotoxicity of fusarial mycotoxins / D. Packa // Postepy Nauk Rolniczych. – 2006. – Vol. 53. – № 6. – P. 53–76.
8. Stec J. Cytotoxicity of feed-borne mycotoxins to animal cell lines in vitro using the MTT assay/ J. Stec, M. Szczotka, J. Kuzmak // Bull. Veter. Inst. in Pulawy. – 2007. – Vol.51, № 4. – P. 679–684.
9. Valiullin L.R. Jembriotoksicheskoe dejstvie zearalenona i T-2 toksina pri ih razdel'nom i sochetannom primenenii / L.R. Valiullin, Je.Ju. Lodvigov // Veterinarnyj vrach. – 2008. – № 5. – S. 10–12.
10. Hochsteiner W. Einfluss von mykotoxin kontaminiertem Futter auf Leistungs parameter beim Milchrind / W. Hochsteiner, M. Schuh, K. Luger // Berl. u. munch. tierarztl. Wschr. – 2000. – Jg.113, № 1. – S. 14–21.
11. Tiemann U. In vivo and in vitro effects of the mycotoxin zearalenone and deoxynivalenol on different non-reproductive and reproductive organs in female pigs: A review / U. Tiemann, S. Danicke // Food Additives & Contaminants. – 2007. – Vol.24. – № 3. – P. 306–314.
12. Effect of low-dose zearalenone exposure on luteal function, follicular activity and uterine oedema in cycling mares / [Juhasz J., Nagy P., Kulcsar et al.] // Acta veter. hung. – 2001. – Vol.49, № 2. – P. 211–222.
13. Malinin O.A. Veterinar najatoksikologija [tekst]: ucheb. / O.A. Malinin, G.A. Hmel'nickij, A.T. Kucan. – K., 2002. – 279 s.

14. Maksimal'no dopustimij riven' (MDR) zearalenonu v kormah dlja kurej (obgruntuvannja) / O.V. Trufanova, N.I. Bratishko, A.M. Kotik, I.M. Sahac'kij [Elektronnij resurs]. – 2001. – Rezhim dostupu: <http://www.avian.org.ua>
15. Shapovalov S.O. Osoblivosti stanovlennja antioksidantnogo zahistu ta vpliv mikotoksiniv na organizm ptici v ontogenezi: dis. na zdobuttja nauk. stupenja kand. biol. nauk: spec. 03.00.13 / S.O. Shapovalov; In-t ptahivnictva Ukraïns'koï akademii agrarnih nauk. – D., 2003. – 156 s.
16. Klenina N.V. Metodicheskie rekomendacii po vydeleniju immunoglobulinov G, M i A klassov, polucheniju k nim monospecificheskikh antisvyvorotok i opredeleniju ih kolichestva u krupnogo rogatogo skota i ptic / N.V. Klenina, V.S. Antonov, S.A. Mihajlova // Metod. rekom.: odobreny metod. komissiej Ukrainskogo ordena Trudovogo Krasnogo Znameni nauch.-issled. in-ta jeksper. vet.(Protokol № 11 ot 5 maja 1983g.).
17. Metody veterinarnoj klinicheskoy laboratornoj diagnostiki: Spravochnik / [Kondrahin I.P., Arhipov A.V., Levchenko V.I. i dr.]. – M.: KolosS, 2004. – 520 s.
18. Medvedeva M.A. Klinicheskaja veterinarnaja laboratornaja diagnostika / M.A. Medvedeva. – M.: Akvarium, 2009. – 416 s.

Влияние зearаленона на показатели белкового обмена при условии продолжительного его поступления в организм цыплят

Е.Н. Попова

В статье экспериментальным путем показано влияние зearаленона на показатели белкового обмена сыворотки крови при длительном поступлении его в организм цыплят. Выявлено повышение уровня общего белка в сыворотке крови цыплят опытных групп относительно этого показателя сыворотки крови цыплят контрольной группы. Установлено, что повышение уровня общего белка происходит за счет глобулиновой фракции белков, в частности Ig-M. Также отмечается повышение активности аспартатаминотрансферазы и аланинаминотрансферазы. Изучение прироста живого веса показало снижение этого показателя у цыплят опытных групп.

Ключевые слова: зearаленон, микотоксикоз, цыплята, сыворотка крови, биохимические показатели.