

УДК 619:615.9:577.1:543.272.82

**КУЦАН О.Т.**, д-р вет. наук, проф., чл.-кор. НААН  
Національний науковий центр «Інститут експериментальної  
та клінічної ветеринарної медицини», м. Харків

**ЛАПТЄВА К.А.**, молодший науковий співробітник  
[iekvm\\_lapteva@ukr.net](mailto:iekvm_lapteva@ukr.net)

**МЕЛЬНИК А.Ю.**, канд. вет. наук  
Білоцерківський національний аграрний університет

## **ІНТЕНСИВНІСТЬ ПРОЦЕСІВ ПЕРОКСИДНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ У КУРЕЙ-НЕСУЧОК ЗА ХРОНІЧНОГО ВПЛИВУ ПЛЮМБУМУ АЦЕТАТУ**

У статті відзначено вивчення інтенсивності процесів пероксидного окиснення ліпідів у курей-несучок за хронічного впливу плюмбуму ацетату. Встановлено, що надходження токсиканту в дозах 75, 150 і 300 мг/кг корму, за умови хронічного експерименту, призводить до вірогідного зниження стійкості еритроцитів до гемолізу, підвищення рівня дієнових кон'югатів і маленового діальдегіду та зниження загальної антиокиснювальної активності сироватки крові курей-несучок усіх дослідних груп на 30, 60, 90 добу, а також через 14 діб після припинення введення плюмбуму ацетату з кормом.

**Ключові слова:** пероксидне окиснення, ліпіди, кури-несучки, хронічний, плюмбум.

**Постановка проблеми.** Однією із перших неспецифічних реакцій у розвитку загального адаптаційного синдрому до дії іонів Плюмбуму є активація процесів вільнорадикального окиснення ліпідів у мембранах клітин [1]. Встановлено, що клітини крові одними із перших зазнають негативного впливу Плюмбуму. При цьому, понад 95 % металу знаходиться в зв'язаному стані з еритроцитарними мембранами [2].

**Аналіз останніх досліджень і публікацій.** Дослідження останніх років [3] показують, що Плюмбум здатен утворювати комплекси із металопротеїнами, які надають еритроцитам антигенних властивостей. У роботі Апахтіної О.Л. та співавт. [4] показано виражену гематотоксичну дію плюмбуму ацетату в дозі 1,53 мг/кг, за внутрішньочеревного введення протягом 28 діб, що характеризувалася морфологічними змінами формених елементів крові та активацією процесів вільнорадикального окиснення і оксидативного стресу, який зумовлював реалізацію мембранотоксичної дії металу.

Проведена оцінка мембранотоксичної дії важких металів на моделі еритроцитів крові щурів *in vitro* за показниками стійкості до кислотного гемолізу [5]. Виявлено зниження гемолітичної стійкості еритроцитів за дії іонів Плюмбуму. Встановлено, що найбільш імовірним механізмом гемолітичної дії важких металів є деформація ліпопротеїнового каркасу еритроцитарної мембрани, яка обумовлена дією вільних радикалів і порушенням конформації апопротеїнового компонента білково-ліпідних комплексів.

**Мета і завдання дослідження** – вивчити інтенсивність процесів пероксидного окиснення ліпідів у курей-несучок за хронічного впливу плюмбуму ацетату.

**Матеріал і методика досліджень.** Дослід з визначення токсичного впливу плюмбуму ацетату був проведений на курях-несучках кросу "Lohmann Brown" (n=80), віком 250 діб, продуктивністю 98 %, яких утримували в умовах віварію відділу токсикології, безпеки та якості с.-г. продукції ННЦ «ІЕКВМ». До початку експерименту птицю протягом 14 діб для адаптації витримували в клітках. Для проведення досліджень було сформовано одну контрольну і три дослідні групи, по 20 курей у кожній (n=20). До початку досліду тварин зважували, маркували. Птиці контрольної групи згодовували повнораціонний комбікорм. Птиці дослідних груп щоденно з комбікормом вводили плюмбуму ацетат у дозах (у перерахунку на метал): I група – 75, II – 150, III – 300 мг/кг корму. Доступ до води не обмежували. Загальний термін експерименту становив 90 діб. Під час проведення досліджень дотримувалися принципів біоетики відповідно до вимог Європейської конвенції із захисту експериментальних тварин (86/609 ЄС).

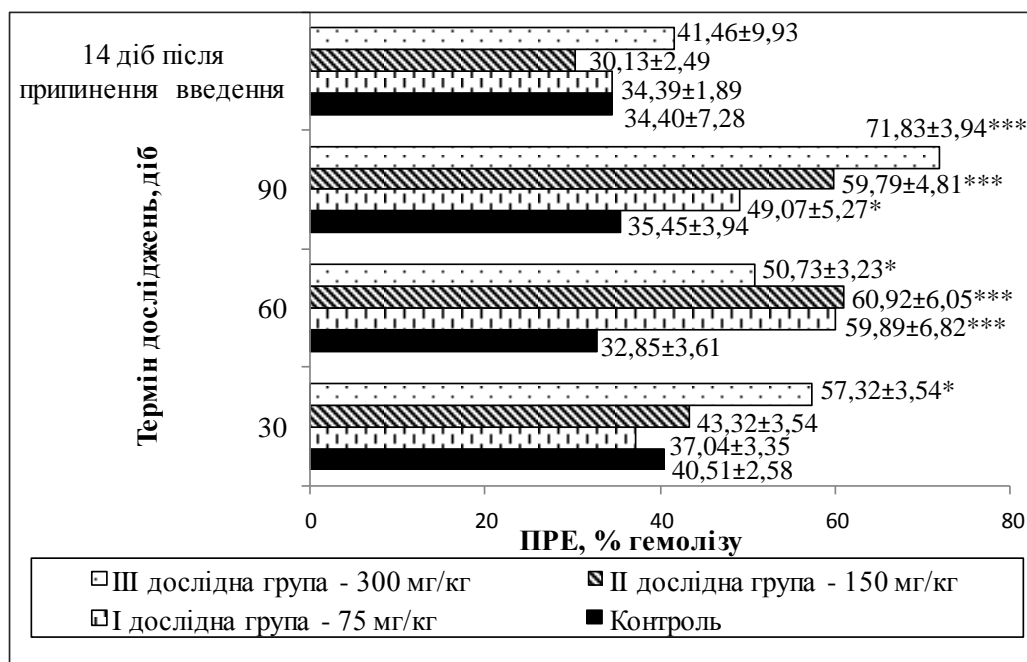
На 30, 60, 90 добу, а також через 14 діб після припинення введення токсиканту проводили декапітацію курей-несучок (n=5) з кожної групи (під легким ефірним наркозом) та відбір проб крові для біохімічних досліджень.

Для оцінки інтенсивності процесів пероксидного окиснення ліпідів у сироватці крові визначали стійкість мембран еритроцитів до перекисного гемолізу за методом Ягера [6], вміст дієно-

вих кон'югатів (ДК) спектрофотометричним методом за довжини хвилі 233 нм [7], малонового діальдегіду (МДА) – за реакцією з тіобарбітуровою кислотою [8] та загальну антиокиснювальну активність (АОА) з використанням жовткових ліпопротеїнів [9].

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 10.0 (StatSoft) для Windows. Вірогідність розходжень між показниками оцінювали за критерієм Фішера.

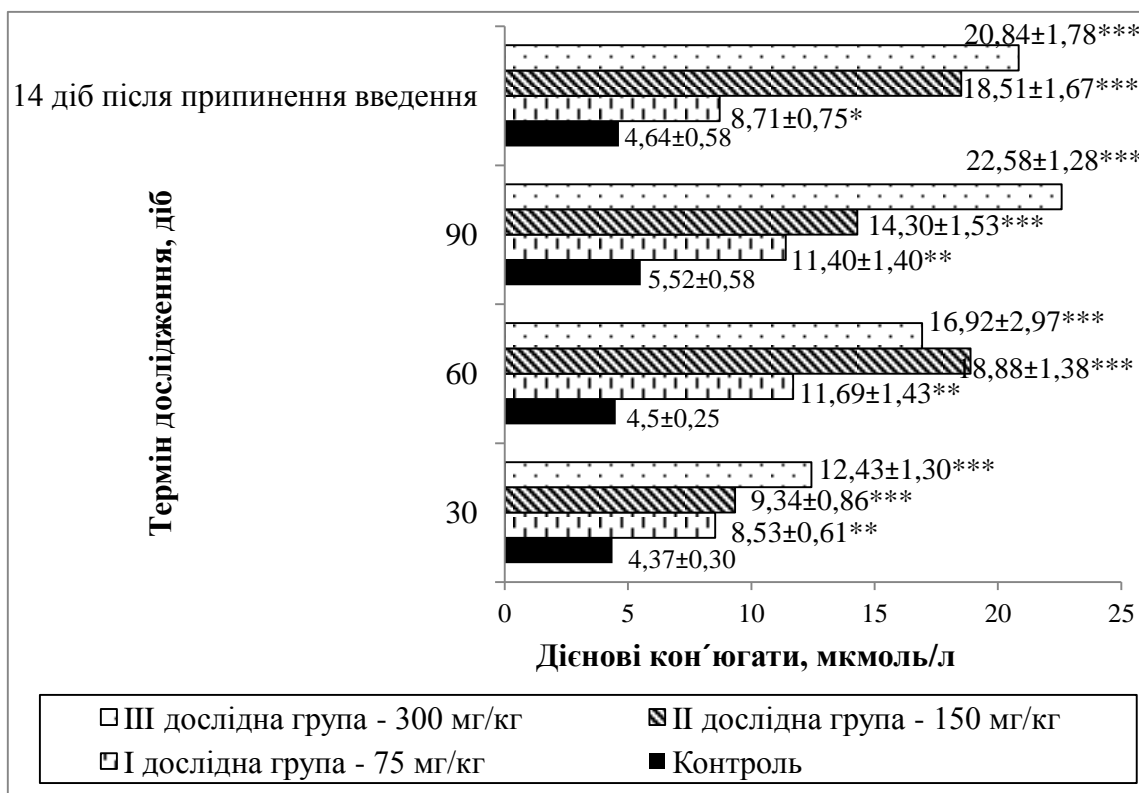
**Результати досліджень та їх обговорення.** Встановлено, що плюмбуму ацетат у дозах 75, 150 та 300 мг/кг корму виявляє мембранотоксичну дію та знижує стійкість еритроцитів до гемолізу. Принцип методу визначення перекисної резистентності еритроцитів (ПРЕ) за гемолізом полягав у визначенні частки лізованих еритроцитів під час моделювання впливу ендogenous перекису водню на мембрани клітин за допомогою гіпотонічного розчину хлориду натрію відповідної іонної сили. Характерно, що підвищена чутливість еритроцитів до гемолізу утримувалася протягом усього дослідного періоду. Так, на 30 добу процент перекисного гемолізу вірогідно ( $p < 0,05$ ) збільшився у птиці III дослідної групи і склав 57,3 %, порівняно з контрольним показником 40,5 % (рис. 1). Суттєве відхилення показників перекисного гемолізу еритроцитів відмічено на 60 добу експерименту. У птиці I та II дослідних груп відсоток гемолізу вірогідно ( $p < 0,001$ ) збільшився у 1,8 і 1,9 рази відповідно, а у III дослідній групі вірогідно ( $p < 0,05$ ) збільшився у 1,5 раза. На 90 добу відсоток гемолізу вірогідно збільшився в усіх дослідних групах у 1,4, 1,7 і 2 рази відповідно, порівняно з показниками у контролі. Через 14 діб після припинення введення токсиканту відсоток гемолізу суттєво не відрізнявся від контролю. Зазначені зміни свідчать про критичне зниження стійкості мембран еритроцитів до дії гемолітика.



Примітка: \* –  $p < 0,05$ ; \*\*\* –  $p < 0,001$  – відповідно до показника у контролі

Рисунок 1. Перекисна резистентність еритроцитів (ПРЕ) курей-несучок за довготривалого введення плюмбуму ацетату ( $M \pm m$ ,  $n=5$ )

Оцінюючи стан пероксидного окиснення ліпідів, встановлено вірогідне збільшення концентрації дієнових кон'югатів (ДК), первинних продуктів ПОЛ, у сироватці крові курей-несучок усіх дослідних груп на 30 добу в 2, 2,1 та 2,8 рази відповідно (рис. 2). Через 60 діб рівень ДК залишився підвищеним у птиці I, II та III дослідних груп у 2,6; 4,2 та 3,8 рази відповідно, порівняно з показниками у контрольній групі. На 90 добу експерименту концентрація ДК була вірогідно вищою за контроль на 2,1, 2,6 та 4,1 рази відповідно. Слід зазначити, що через 14 діб після припинення введення плюмбуму ацетату до корму, вміст первинного продукту ПОЛ залишився вірогідно вищим в усіх дослідних групах у 1,9; 4 та 4,5 рази відповідно.



Примітка: \* –  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,01$ ; \*\*\* –  $p < 0,001$  – відповідно до показника у контролі

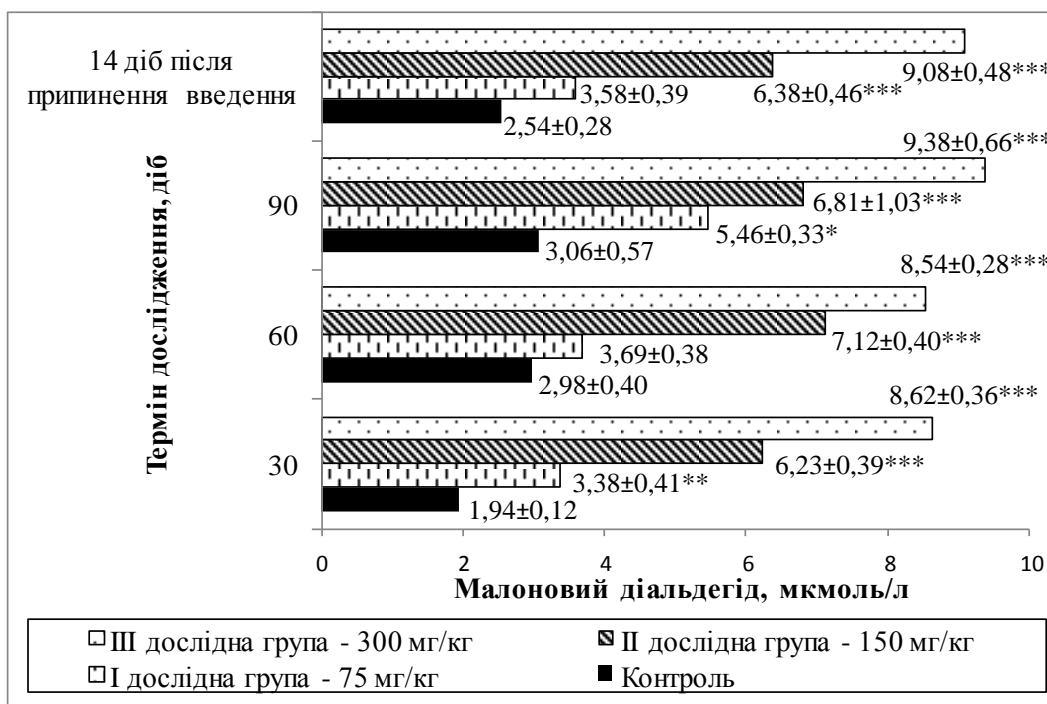
Рисунок 2. Динаміка вмісту дієвних кон'югатів у сироватці крові курей-несучок за довготривалого введення плумбуму ацетату ( $M \pm m$ ,  $n=5$ )

Подібний характер змін відмічено у вмісті вторинного продукту ПОЛ, малонового діальдегіду (МДА), у сироватці крові курей-несучок: на 30 добу досліду рівень МДА у I, II та III дослідних групах становив  $3,38 \pm 0,41$ ;  $6,23 \pm 0,39$  та  $8,62 \pm 0,36$  мкмоль/л відповідно, проти контролю  $1,94 \pm 0,12$  мкмоль/л (рис. 3).

На 60 добу введення плумбуму ацетату з кормом вміст МДА вірогідно ( $p < 0,001$ ) підвищився у птиці II і III дослідних груп у 2,4 і 2,9 рази відповідно.

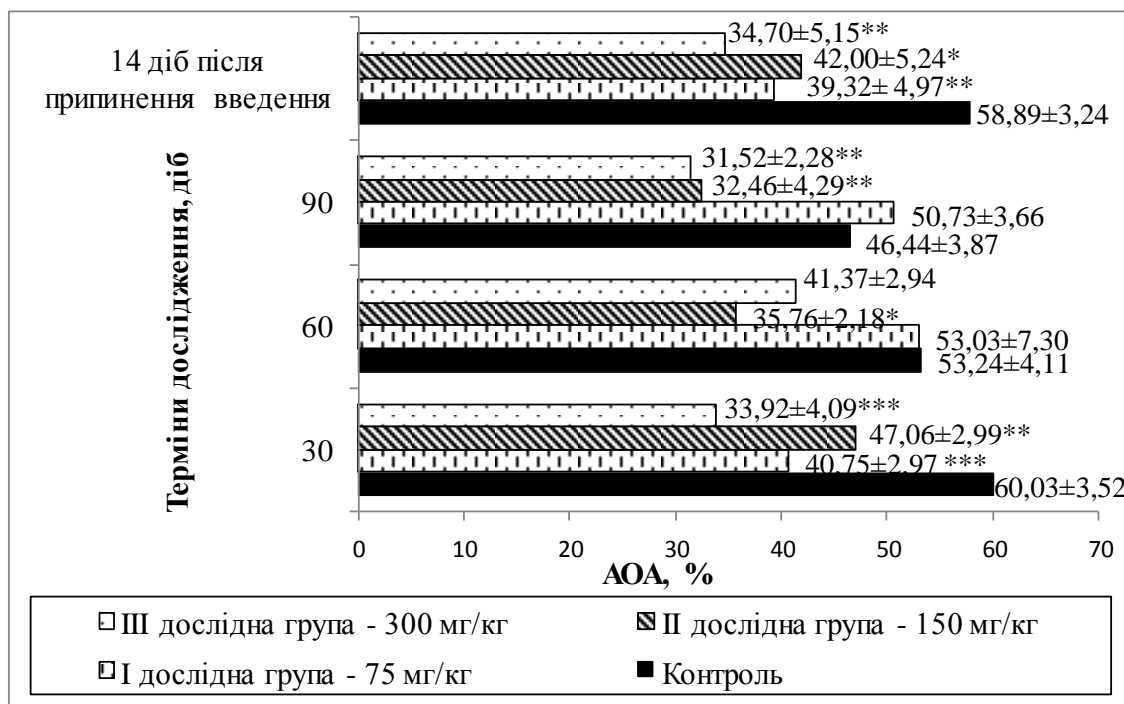
Через 90 днів рівень МДА вірогідно підвищився в усіх дослідних групах у 1,8; 2,2 і 3,1 рази відповідно, порівняно з показником у контролі. Встановлено, що через 14 днів після припинення введення плумбуму ацетату з кормом вміст МДА залишився вірогідно ( $p < 0,001$ ) вищим за контроль у птиці II і III дослідних груп у 2,5 і 3,6 рази відповідно.

Для оцінки резервів антиоксидантної системи в цілому використовували модельну систему, якою є суспензія ліпопротеїнів жовтка курячих яєць. Встановили, що надходження плумбуму ацетату з кормом протягом 30 днів спричинювали вірогідне ( $p < 0,001$ ) зниження загальної антиокиснювальної активності (АОА) сироватки курей усіх дослідних груп на 32,1; 21,6 і 43,5 % відповідно (рис. 4). На 60 добу досліду АОА сироватки у курей II дослідної групи була вірогідно ( $p < 0,05$ ) нижчою за контроль на 32,8 %. Через 90 днів встановлено зниження АОА у курей II та III дослідних груп на 30,1 і 32,1 % відповідно. У постекспозиційний період відмічено зниження АОА у курей I, II і III дослідних груп на 33,2; 28,7 і 41,1 % відповідно, порівняно з контрольним рівнем.



Примітка: \* – p<0,05; \*\* – p<0,01, \*\*\* – p<0,001 – відповідно до показника у контролі

Рисунок 3. Динаміка вмісту малонового діальдегіду в сироватці крові курей-несучок за довготривалого введення плумбуму ацетату (M±m, n=5)



Примітка: \* – p<0,05; \*\* – p<0,01, \*\*\* – p<0,001 – відповідно до показника у контролі

Рисунок 4. Динаміка антиоксидантної активності сироватки крові курей-несучок за довготривалого введення плумбуму ацетату (M±m, n=5)

Отримані дані узгоджуються з результатами експериментів інших авторів, які спостерігали інтенсифікацію вільнорадикальних процесів у клітинах тканин під впливом плумбуму ацетату [10].

Відомо, що активація процесів ПОЛ створює ризик оксидативного пошкодження плазматичних мембран і внутрішніх компонентів еритроцитів і негативно впливає на здатність клітин транспортувати молекули Оксигену. Продукти ПОЛ викликають деформацію мембранного ліпопротеїнового комплексу, підвищення проникності мембран, цитоліз і загибель клітин. Інтенсивність процесів ПОЛ регулюється антиоксидантною системою, яка захищає клітини від токсичної дії вільних радикалів і пероксидів ліпідів, а також знешкоджує токсичні продукти, що викликають мембранодеструктивний ефект. Як наслідок, виникають патологічні процеси та порушення функціонування органів, які підтримують сталість внутрішнього середовища організму.

Таким чином, отримані результати свідчать про виражений ПОЛ-стимулюючий ефект плюмбуму ацетату в дозах 75, 150 і 300 мг/кг корму, що проявляється зниженням стійкості еритроцитів до гемолізу, підвищенням вмісту первинних і вторинних продуктів ПОЛ та пригніченням антиокиснювальної активності сироватки крові курей-несучок.

**Висновки.** 1. Плюмбуму ацетат у дозах 75, 150 і 300 мг/кг, за довготривалого надходження з кормом, викликає у курей-несучок вірогідне зниження стійкості еритроцитів до гемолізу на 30, 60 та 90 добу експерименту.

2. Експозиція плюмбуму ацетату протягом 90 діб у дозах 75, 150 і 300 мг/кг корму призводить до підвищення вмісту продуктів ПОЛ та зниження загальної антиокиснювальної активності сироватки крові курей-несучок.

**Перспективи подальших досліджень.** Планується провести дослідження інтенсивності окиснювальних процесів у клітинах печінки.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Гончарук, Є.Г. Вільнорадикальне окиснення як універсальний неспецифічний механізм пошкоджуючої дії шкідливих чинників довкілля (огляд літератури та власних досліджень) [Текст] / Є.Г. Гончарук, М.М. Коршун // Журнал АМН України. – 2004. – Т. 10. – № 1. – С. 131–150.
2. Трахтенберг, И.М. Свинец и окислительный стресс [Текст] / И.М. Трахтенберг, Т.К. Короленко, Н.А. Утко // Современные проблемы токсикологии. – 2001. – № 4. – С. 50–54.
3. Петринич, В.В. Вплив свинцю ацетату на стан пероксидного окиснення ліпідів та окисної модифікації білків у крові та печінці в статевозрілих щурів із різним типом ацетилювання [Текст] / В.В. Петринич // Клінічна та експериментальна патологія. – 2012. – Т. XI, № 4 (42). – С. 115–119.
4. Апихтіна, О.Л. Механізми гематотоксичної дії сполук свинцю [Текст] / О.Л. Апихтіна, Н.М. Дмитруха, А.В. Кощурба, Ю.П. Коркач, І.П. Лубянова // Журнал НАМН України. – Т. 18. – №1. – 2012. – С. 100–109.
5. Karmarkar, N. Effect of lead acetate on erythrocyte morphology in rats [Text] / N. Karmarkar, R. Saxena, S. Anand // Indian Journal of Experimental Biology. – 1990. – Vol. 28, № 11. – P. 1084–1085.
6. Yager, F.Y. Determination of vitamin E requirement in rats by means of spontaneous haemolysis in vitro [Text] / F.Y. Yager // Nutr. Dieta. – 1968. – Vol. 10. – P. 215–223.
7. Гаврилов, В.Б. Измерение диеновых конъюгатов в плазме крови по УФ-поглощению гептановых и изопропанольных экстрактов [Текст] / В.Б. Гаврилов, А.Р. Гаврилова, Н.Ф. Хмара // Лабораторное дело. – 1988. – № 2. – С. 60–63.
8. Колесова, О.Е. Перекисное окисление липидов и методы определения продуктов липопероксидации в биологических средах [Текст] / О.Е. Колесова, А.А. Маркин, Т.Н. Федорова // Лабораторное дело. – 1984. – № 9. – С. 540–546.
9. Келебанов, Г.И. Оценка антиоксидантной активности плазмы крови с применением желточных липопротеидов [Текст] / Г.И. Келебанов [и др.] // Лабораторное дело. – 1988. – № 5. – С. 59–62.
10. Леоненко, О.Б. Вплив ацетату свинцю на процеси вільнорадикального перекисного окиснення ліпідів [Текст] / О.Б. Леоненко, В.А. Стежка // Гигиена труда. – 2002. – Вып. 33. – С. 152–162.

#### **Інтенсивність процесів пероксидного окислення ліпідів у кур-несушок при хронічному впливі плюмбума ацетата**

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

В статті показано вивчення інтенсивності процесів пероксидного окислення ліпідів у кур-несушок при хронічному впливі плюмбума ацетата. Установлено, що поступлення токсиканта в дозах 75, 150 і 300 мг/кг корма, в умовах хронічного експерименту, призводить до ймовірного зниження стійкості еритроцитів до гемолізу, підвищенню рівня диенових кон'югатів і малонового діальдегіда, зниженню загальної антиокислювальної активності сироватки крові кур-несушок всіх опытных груп на 30, 60 і 90 днів, а також через 14 днів після припинення введення плюмбума ацетата з кормом.

**Ключевые слова:** пероксидное окисление, липиды, куры-несушки, хронический, плюмбум

#### **Intensity of lipid peroxidation processes in laying hens under chronic exposure of lead acetate**

**A. Kutsan, K. Lapteva, A. Melnik**

It has been studied the intensity of lipid peroxidation processes in laying hens under chronic exposure of lead acetate. It has been determined, that receipt of toxin in the doses at 75, 150 and 300 ppm per kg of feed under the chronic experiment conditions results in a credible decline of stability of erythrocytes to hemolysis, increase the level of dien conjugates and malone dialdehyde, decrease of total antioxidant activity of blood serum of laying hens at all treatment groups on the 30th, 60th, 90th day and 14th days after treatment of lead acetate by feed.

**Key words:** lipid peroxidation, laying hens, chronic, lead.