



УДК 577.115:579:591.1

## ВПЛИВ Т-2 ТОКСИНУ НА АКТИВНІСТЬ ФЕРМЕНТІВ АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ ТА ПРОЦЕСИ ПЕРОКСИДНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ У ЕРИТРОЦИТАХ ЩУРІВ

**О. І. Федякова, І. Я. Коцюмбас**

*Державний науково-дослідний контрольний інститут  
ветеринарних препаратів та кормових добавок,  
вул. Донецька, 11, Львів 79019, Україна  
e-mail: olesja\_ver@mail.ru*

Досліджено вплив Т-2 токсину на процеси пероксидного окиснення ліпідів і активність ферментів антиоксидантної системи в еритроцитах щурів, а також вивчено нейтралізуючий ефект аеросилу щодо Т-2 токсину. Встановлено зростання концентрації як початкових продуктів ПОЛ – дієнових кон'югатів (на 1-3 добу), так і кінцевих – ТБК-активних продуктів (на 2–4 добу) з моменту введення Т-2 токсину. На фоні Т-2 токсикозу показано достовірне зниження супероксиддисмутазної активності на 1–3 доби, а також підвищення каталазної активності на 1–4 доби експериментального періоду. Через 5 діб після введення Т-2 токсину досліджувані показники наближалися до контрольних значень. Отримані результати досліджень свідчать про активацію процесів пероксидного окиснення ліпідів і порушення у функціонуванні окремих ферментів антиоксидантної системи, що вказує на негативний вплив Т-2 токсину на еритроцити. Введення аеросилу разом із токсикантом нормалізувало досліджувані показники і наближало їх до значень, притаманних контрольній групі тварин, що свідчить про високу сорбційну здатність аеросилу щодо Т-2 токсину.

**Ключові слова:** Т-2 токсин, трихотеценові мікотоксини, антиоксидантна система, ПОЛ, еритроцити.

### ВСТУП

Дослідження останніх років показали [10, 13, 15], що баланс між анти- і прооксидантами в організмі загалом і в кожній клітині зокрема відповідає за регуляцію багатьох метаболічних процесів, які забезпечують імункомпетентність, ріст, розвиток і захист тварин від стресів, пов'язаних із промисловими умовами утримування та виробництва. У цьому аспекті мікотоксини розглядаються як найбільш важливі стресові фактори кормового походження, які порушують гомеостаз.

Мікотоксини є продуктами життєдіяльності мікроскопічних грибів. Контамінація спостерігається на всіх етапах вирощування, переробки, транспортування та

зберігання сільськогосподарської продукції [9], тому запобігти забрудненню мікроцитатами і продуктами їхнього метаболізму практично неможливо. У разі надходження в організм тварин мікотоксини викликають канцерогенні, тератогенні, мутагенні, нефротоксичні, ембріотоксичні та інші ефекти [1].

Серед мікотоксинів численну групу (понад 150 представників) становлять трихотецени [1], які продукуються грибами *Fusarium sporotrichiella*, *F. solani*, *F. graminearum*. Використання кормів, які містять трихотеценові мікотоксини (ТТМТ) навіть у незначних кількостях (до 3 мг/кг корму), викликає порушення функціонування окремих ланок травної, імунної [17], репродуктивної, видільної та дихальної систем [10, 12]. Потрапляння трихотеценів в організм у високих дозах (10 мг/кг) може спричинити загибель тварин [5]. До найтоксичніших сполук групи ТТМТ належить Т-2 токсин, основним продуцентом якого є мікроскопічні гриби *F. sporotrichioides* [18]. За класифікацією ВООЗ, він є першого класу токсичності (ЛД<sub>50</sub> для більшості видів ссавців становить 3–7 мг/кг маси тіла) [19]. Вплив цього токсину на організм традиційно пов'язують із дерматонекротичними, гепатотоксичними, нефротоксичними [15] і канцерогенними ефектами, також у літературі є дані про деструктивні зміни у тканинах кісткового мозку та порушення процесів кровотворення [19].

Потребують подальших досліджень і біохімічні механізми дії Т-2 токсину на антиоксидантний потенціал клітин еритроїдного ряду. Відомо, що функціональний стан еритроцитів, зокрема стабільність їхніх плазматичних мембран значною мірою залежить від рівноваги прооксидантно-антиоксидантного балансу в клітинах. Порушення редокс-балансу є ключовим механізмом пошкодження ліпідів у складі клітинних структур [13].

Для запобігання негативним наслідкам згодовування контамінованих мікотоксинами кормів використовують широкий спектр кормових добавок, зокрема ентеросорбентів. Вони є ефективним засобом лікування і профілактики токсикозів різноманітної етіології. Ентеросорбенти вводяться у корми упродовж значної частини періоду вирощування тварин, тому вони мають відповідати таким вимогам: бути ефективними у разі внесення лише кількох кг/т; зв'язувати токсини у низьких концентраціях; бути безпечними і зберігати показники приросту тварин [11].

Метою нашої роботи було проаналізувати вплив Т-2 токсину на динаміку процесів пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) і активності окремих ферментів антиоксидантної системи в еритроцитах периферичної крові щурів на фоні введення аеросилу.

## МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Дослідження проводили на білих безпородних щурах масою 180–200 г, яких утримували на стандартному раціоні в умовах віварію *ad libitum*. З метою вивчення ефектів впливу Т-2 токсину тваринам груп Д1–Д6 одноразово внутрішньошлунково вводили цей токсин за допомогою зонда ((1/10 ЛД<sub>50</sub>) з розрахунку 0,67 мг/кг маси тіла). Для вивчення можливостей корекції експериментального Т-2 токсикозу тваринам груп Д7–Д12 вводили Т-2 токсин разом із аеросилом (з розрахунку 200 мг/кг маси тіла). Т-2 токсин розчиняли в 1% етанолі.

Контролем (К1–К6) слугували тварини, яким вводили 1% етанол у відповідному об'ємі.

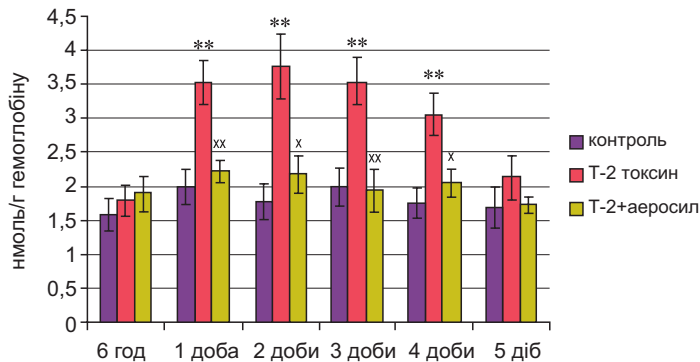
Тварин дослідних і контрольних груп (n=5) через 6 год (К1, Д1, Д7); на 1-шу добу (К2, Д2, Д8); 2-гу добу (К3, Д3, Д9); 3-тю добу (К4, Д4, Д10); 4-ту добу (К5, Д5, Д11)

і 5-ту добу (К6, Д6, Д12) декапітували під легким ефірним наркозом, користуючись загальноприйнятими в Україні рекомендаціями щодо поводження з лабораторними тваринами, а також вимогами, описаними у Європейській конвенції щодо захисту хребетних лабораторних тварин, які використовуються в експерименті [3], з дозволу комісії з питань біоетики (протокол № 41 від 22 липня 2013 року).

У гемолізатах еритроцитів, отриманих загальноприйнятими методами, визначали вміст продуктів, які взаємодіють з тіобарбітуровою кислотою (ТБК-активні продукти) [13], дієнових кон'югатів (ДК) [7], а також активність супероксиддисмутази (СОД) [2] і каталази [8]. Для статистичної обробки отриманих результатів використовували пакет програмного забезпечення Microsoft Office Excel 2010.

## РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ І ЇХНЄ ОБГОВОРЕННЯ

Результати вказують на достовірне ( $p < 0,01$ ) зростання концентрації початкових продуктів ПОЛ – дієнових кон'югатів (рис. 1) вже через 1 добу після введення Т-2 токсину на 77% порівняно з контролем, що залишалася високою (74–112%) аж до 4 доби дослідного періоду. Наприкінці експерименту вміст дієнових кон'югатів у еритроцитах наближався до значень, характерних для контрольної групи тварин. Найвища концентрація дієнових кон'югатів спостерігалася на 2 добу після введення токсину і становила 3,77 нмоль/г гемоглобіну. У групах Д7–Д12 відбувалося зниження їхньої концентрації до контрольних значень (рис. 1).



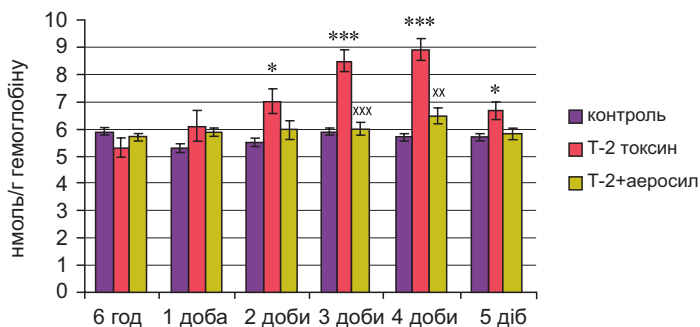
**Рис.1.** Концентрація дієнових кон'югатів у еритроцитах щурів при експериментальному Т-2 токсикозі та за умов введення аеросилу.

Тут і далі різниця вірогідна порівняно з контролем \* –  $p < 0,1$ ; \*\* –  $p < 0,01$ ; \*\*\* –  $p < 0,001$ . Різниця вірогідна порівняно з групою, якій вводили Т-2 токсин \* –  $p < 0,1$ ; \*\* –  $p < 0,01$ ; \*\*\* –  $p < 0,001$

**Fig. 1.** The concentration of diene conjugates in erythrocytes of rats with experimental T-2 toxin action and under aerosol administration.

Here and furthermore, the credible difference in comparison with the control is: \* –  $p < 0,1$ ; \*\* –  $p < 0,01$ ; \*\*\* –  $p < 0,001$ . Credible difference in comparison with the T-2 group is: \* –  $p < 0,1$ ; \*\* –  $p < 0,01$ ; \*\*\* –  $p < 0,001$

Концентрація ТБК-активних продуктів зростала на 2-гу добу експерименту ( $p < 0,1$ ) і досягала максимальних значень на 3 і 4 доби ( $p < 0,001$ ) та становила 8,48 і 8,91 нмоль/г гемоглобіну відповідно. На 5-ту добу експерименту концентрація кінцевих продуктів ПОЛ відрізнялася від контрольних значень на 16% (рис. 2).



**Рис. 2.** Концентрація ТБК-активних продуктів в еритроцитах щурів при експериментальному Т-2 токсикозі та за умов введення аеросилу

**Fig. 2.** Concentration of TBA-active products in erythrocytes of rats with experimental T-2 toxin action and under aerosil administration (for statistics notes see Fig. 1)

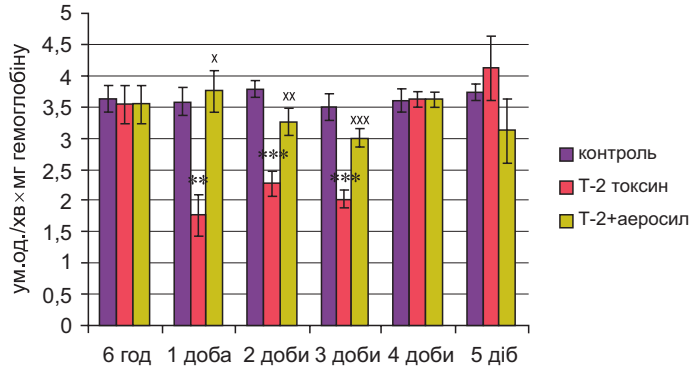
Таким чином, одноразове внутрішньошлункове введення Т-2 токсину в дозі 0,67 мг/кг маси тіла спричинило зростання вмісту продуктів ПОЛ (дієнові кон'югати, ТБК-активні продукти) в еритроцитах щурів порівняно з контролем ( $p < 0,1$ – $p < 0,001$ ). На 5-ту добу експерименту спостерігається наближення значень показників до контрольних, що характеризує зменшення впливу токсиканта на організм унаслідок метаболізму і виведення його з організму.

На 1–3 і 5-ту доби досліджу в групі тварин, яким вводили Т-2 токсин разом із аеросилом, не спостерігали достовірних змін у концентрації продуктів ПОЛ порівняно з контролем (рис. 1 і 2). Отримані результати свідчать про ефективну сорбційну активність аеросилу щодо Т-2 токсину.

Однією з причин активації процесів ПОЛ у еритроцитах, можливо, є утворення активних форм Оксигену (АФО) в реакціях метаболізму Т-2 токсину [12]. Іншим механізмом може бути його пригнічувальний вплив на ферменти антиоксидантної системи [6, 17]. За дії Т-2 токсину адаптивні можливості організму вичерпуються і починається необоротний процес апоптозу багатьох клітин. Спочатку знижується активність ферментів, які беруть участь у детоксикації Т-2 токсину, потім відбувається пошкодження мембран-мітохондрій (втрата потенціалу, що веде до порушення електронно-транспортного ланцюга, суттєво зростає втрата електронів), утворюються вільні радикали, редокс-потенціал клітин втрачається, що призводить до апоптозу. Беручи до уваги також пошкодження рецепторів імунних клітин вільними радикалами, можна пояснити імуносупресивну дію Т-2 токсину. Також ці процеси (апоптоз і некроз) приводять до характерних змін шкірних і слизових покривів, до пошкодження мікрроворсинок тонкого кишечника і, як наслідок, до зниження апетиту, зменшення приросту в масі та зниження репродуктивної функції.

Як відомо, зміна редокс-балансу створює небезпеку пошкодження мембран і внутрішніх компонентів клітини. За таких умов важливе значення має функціонування антиоксидантних ферментів, які зменшують масштаби внутрішньоклітинних порушень, знешкоджуючи АФО, зокрема, супероксиддисмутаза (КФ 1.15.1.1), яка разом із каталазою (КФ 1.11.1.6) та іншими антиоксидантними ферментами захищає еритроцити від впливу вільних радикалів [4]. Тому одночасно було досліджено динаміку активності цих ферментів в еритроцитах щурів за умов одноразового введення Т-2 токсину.

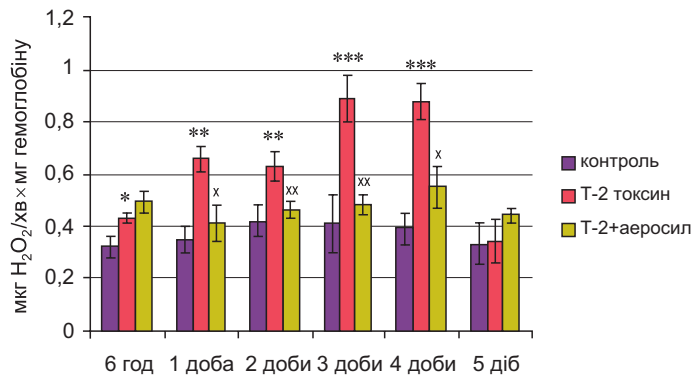
Результати експериментів свідчать про зниження активності супероксиддисмутази (рис. 3) з 1-ї до 3-ї доби дослідного періоду приблизно удвічі ( $p < 0,01$ – $p < 0,001$ ). Це, очевидно, відбувається внаслідок активної участі ферменту в реакціях дисмутації супероксид-аніон-радикалу, який утворюється у процесі метаболізму Т-2 токсину, а також у зв'язку з інгібуванням токсином біосинтезу білків [14, 17].



**Рис. 3.** Динаміка активності супероксиддисмутази в еритроцитах щурів при експериментальному Т-2 токсикозі та за умов введення аеросилу

**Fig. 3.** Dynamics of superoxide dismutase activity in erythrocytes of rats with experimental T-2 toxin action and under aerosil administration (for statistics notes see Fig. 1)

Динаміка активності каталази – ферменту, який бере участь у перетворенні гідроген пероксиду на воду і кисень, була такою (рис. 4). З 1-ї по 4-ту добу експерименту цей показник зростає на 50–126% порівняно з контролем ( $p < 0,01$ – $p < 0,001$ ), тоді як на 5-ту добу дослідного періоду значних змін не спостерігали. Це вказує на зміну редокс-балансу й активацію процесів пероксидного окиснення в еритроцитах. В еритроцитах крові тварин при експериментальному Т-2 токсикозі на фоні введення аеросилу активність супероксиддисмутази і каталази становила 3,01–3,76 ум. од./хв 1 мг гемоглобіну і 0,41–0,55 мкг  $H_2O_2$ /хв 1 мг гемоглобіну відповідно і незначно відрізнялася від контролю, що вказує на високу сорбційну здатність аеросилу щодо Т-2 токсину.



**Рис. 4.** Динаміка активності каталази в еритроцитах щурів при експериментальному Т-2 токсикозі та за умов введення аеросилу

**Fig. 4.** Dynamics of catalase activity in erythrocytes of rats with experimental T-2 toxin action and under aerosil administration (for statistics notes see Fig. 1)

## ВИСНОВКИ

У разі одноразового введення Т-2 токсину у дозі 0,67 мг/кг маси тіла спостерігається активація процесів пероксидного окиснення ліпідів. Про це свідчить як достовірне зростання концентрації початкових продуктів ПОЛ – дієнових кон'югатів, так і кінцевих – ТБК-активних продуктів.

Порушення функціонування антиоксидантної системи і розбалансування ензиматичних активностей в еритроцитах є одним із векторів негативного впливу Т-2 токсину на організм тварин.

У гемолізатах еритроцитів щурів за умов внутрішньошлункового введення Т-2 токсину знижується супероксиддисмутазна активність на 1–3 доби після введення токсину та зростає активність каталази впродовж усього дослідного періоду.

Аеросил проявляє високу сорбційну здатність щодо Т-2 токсину і при введенні в організм у дозі 200 мг/кг маси тіла нівелює негативний вплив токсину на організм, нормалізує всі досліджувані показники і наближає їх до значень, притаманних контрольній групі тварин.

1. *Артюх В.П., Гойстер О.С., Хмельницький Г.А.* та ін. Трихотеценовые микотоксины: определение в объектах окружающей среды. **Биополимеры и клетка**, 2003; 19(3): 11–18;
2. *Дубинина Е.Е., Сальникова Л.Я., Ефимова Л.Ф.* Активность и изоферментный спектр СОД эритроцитов. **Лаб. дело**, 1983; 10: 30–33.
3. Захист тварин від жорстокого поводження: Закон України. **Відомості Верховної Ради України**, 2006; 27: 230.
4. *Зенков Н.К.* **Окислительный стресс. Биохимический и патофизиологический аспекты.** М.: МАИК. Наука, 2001; 343 с.
5. *Иванов А.В., Тремасов М.Я., Папуниди К.Х., Чулков А.К.* **Микотоксикозы животных (этиология, диагностика, лечение, профилактика).** Москва: Колос, 2008. 140 с.
6. *Ионов И.А., Шаповалов С.О., Котик А.Н.* и др. Влияние микроэлементной композиции на антиоксидантный статус организма кур, пораженных НТ-2 токсином. **Совр. проблемы токсикологии.** 2001; 3: 13–21.
7. *Колесова О.Е., Маркин А.А., Федорова Т.Н.* Перекисное окисление липидов и методы определения продуктов липопероксидации в биологических средах. **Лаб. дело**, 1984; 9: 540–546.
8. *Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г., Токарев В.Е.* Метод определения активности каталазы. **Лаб. дело**, 1983; 10: 16–18.
9. *Погребняк Л.І., Корзуненко О.Ф., Ображей А.Ф., Грачов С.О.* Тваринництво, ветеринарна медицина. **Вісник аграрної науки**, 2000; 10: 25–27.
10. *Фисинин В.И., Сурай П.Ф.* Микотоксины и антиоксиданты: непримиримая борьба (Т-2 токсин – механизмы токсичности и защита). **Ветеринарная медицина**, 2012; 3: 36–39.
11. *Хмельницький Г.О., Новицький К.М.* **Застосування ентеросорбентів при мікотоксикозах тварин:** тези доповідей наук. конф. проф.-викл. складу, наук. співробітників та аспірантів, присвяченої 80-річчю факультету ветеринарної медицини. Київ: НАУ КМ Україна, 2000: С. 23.
12. *Konigs M., Mulac D., Schwerdt G.* et al. Metabolism and cytotoxic effects of T-2 toxin and its metabolites on human cell in primary culture. **Toxicology**, 2009; 258: 106–115.
13. *Ohkawa H., Ohishi N., Yagi K.* Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. **Anal. Biochem**, 1979; 95: 351–358.
14. *Pace J.G., Watts M.R., Canterbury W.J.* T-2 and HT-2 mycotoxin inhibits mitochondrial protein synthesis. **Toxicology**, 1988; 26(1): 77–85.

15. Shaikh Z.A., Vu T.T., Zaman K. Oxidative stress as a mechanism of chronic cadmium-induced hepatotoxicity and renal toxicity and protection by antioxidants. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1999; 154(1): 130–137.
16. Sivilotti M.L. Oxidant stress and haemolysis of the human erythrocyte. *Toxicol. Rev.* 2004; 23: 169–188.
17. Sklan D., Klipper E., Friedman A. The effect of chronic feeding of diacetoxyscirpenol, T-2 toxin, and aflatoxin on performance, health, and antibody production in chicks. *Poultry Science Association*, 2001; 10: 79–85.
18. Ueno Y. The toxicology of mycotoxins. *CRC Critical revy in Toxicology*, 1985; 14(2): 99–132.
19. Yansen L., Zhanhui W., Ross C. et al. T-2 toxin, a Trichotecene Mycotoxin: Review of Toxicity, Metabolism, and Analytical Methods. *Agric. Food Chem.* 2011; 59: 3441–3453.

---

## EFFECT OF T-2 TOXIN ON THE ACTIVITY OF ANTIOXIDANT ENZYMES AND PROCESSES OF LIPID PEROXIDATION IN RED BLOOD CELLS OF RATS

**O. Fedyakova, I. Kotsyumbas**

*State Scientific-Research Control Institute of Veterinary Medicine Product and Feed Additives  
11, Donetska St., Lviv 79019, Ukraine  
e-mail: olesja\_ver@mail.ru*

The effect of T-2 toxin on the processes of lipid peroxidation and the activity of antioxidant enzymes in erythrocytes of rats and the neutralizing effect of silica on T-2 toxin action were studied. An increase in concentration of diene conjugates (1–3 days) and TBA-active products (2–4 day experimental period) was established. Besides superoxide dismutase activity decreased in 1–3 days, and activity of catalase increased in 1–4 days of experimental period. Parameters approached the control values on the 5<sup>th</sup> day after administration of T-2 toxin. The obtained results indicate activation of lipid peroxidation and disturbance in functioning of certain enzymes of antioxidant system, suggesting a negative effect of T-2 toxin on the morpho-functional state of erythrocytes. Using aerosil together with toxicants normalized the above noted indicators and approached them to values similar to those observed in control group of animals, suggesting the high sorption capacity of aerosil, towards T-2 toxin.

**Keywords:** T-2 toxin, tryhotethecenes mycotoxins, antioxidant system, lipid peroxidation, erythrocyte.

## ВЛИЯНИЕ Т-2 ТОКСИНА НА АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ И ПРОЦЕССЫ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ В ЭРИТРОЦИТАХ КРЫС

**О. И. Федякова, И. Я. Коцюмбас**

*Государственный научно-исследовательский контрольный институт  
ветеринарных препаратов и кормовых добавок  
ул. Донецкая, 11, Львов 79019, Украина  
e-mail: olesja\_ver@mail.ru*

Исследовано влияние Т-2 токсина на процессы перекисного окисления липидов и активность ферментов антиоксидантной системы в эритроцитах крыс, а также



изучен нейтралізуючий ефект аеросила відносно Т-2 токсина. Установлено підвищення концентрації як вихідних продуктів ПОЛ – дієнових кон'югатів (на 1–3 сутки), так і кінцевих – ТБК-активних продуктів (на 2–4 сутки дослідницького періоду). Показано достовірне зниження активності супероксиддисмутазы на 1–3 сутки, а також підвищення активності каталазы на 1–4 сутки експериментального періоду. На 5-е сутки після введення Т-2 токсина досліджувані показателі наближались до контрольних значень. Отримані результати досліджень свідчать про активацію процесів перекисного окислення ліпідів і порушення в функціонуванні окремих ферментів антиоксидантної системи, що вказує на негативний вплив Т-2 токсина на стан еритроцитів. Введення аеросила разом з токсикантом нормалізувало досліджувані показателі і наближало їх до значень, характерних для контрольної групи тварин, що свідчить про високі сорбційні здатності аеросила відносно Т-2 токсина.

**Ключевые слова:** Т-2 токсин, трихотеценові микотоксини, антиоксидантна система, ПОЛ, еритроцити.

Одержано: 29.07.2013