

УДК 577.3 + 615.9

Федяков Р. О., м.н.с., ¹©**Антоняк Г. Л.**, д.б.н, проф. ^{1,2}¹Інститут біології тварин НААН, м. Львів²Львівський національний університет імені Івана Франка

ВПЛИВ АФЛАТОКСИНУ В1 НА СТІЙКІСТЬ ЕРИТРОЦИТІВ БЛИХ ЩУРІВ ДО ГЕМОЛІЗУ

У статті представлено результати досліджень впливу афлатоксину В1 за умов одноразової внутрішньочеревної ін'єкції в дозі 0,25 мг/кг та внутрішньошлункового введення в дозі 0,025 мг/кг впродовж семи діб на стійкість еритроцитів до гемолізу. Встановлено, що афлатоксин В1 за досліджуваних доз та способів введення в організм щурів спричиняє зміщення максимуму еритрограми вліво та зменшення часу гемолізу за наявності 0,004 н НСІ у середовищі. Це свідчить про порушення функціональних властивостей плазматичних мембран еритроцитів під впливом афлатоксину В1.

Ключові слова: еритроцити, гемоліз, афлатоксин В1

Вступ. Афлатоксин В1 (AFB1) – це вторинний метаболіт деяких видів грибів-мікроміцетів роду *Aspergillus*. Як і інші афлатоксини, AFB1 часто забруднює корми сільськогосподарських тварин і здатний спричиняти інтенсивні ураження організму впродовж короткого періоду часу. Відомо, що AFB1 знижує продуктивність, інтенсивність росту, погіршує стан здоров'я тварин [1]. За високих рівнів надходження в організм цей токсин зумовлює отруєння – афлатоксикоз. Зазвичай негативні наслідки впливу афлатоксину В1 пов'язують з його гепатотоксичністю, однак цей токсин шкідливо впливає й на інші органи та системи [2, 6]. Результати низки досліджень свідчать, що AFB1 спричиняє пригнічення окремих ланок системи кровотворення, зокрема, порушення функцій клітин кісткового мозку і селезінки, пригнічення процесів еритропоезу у ссавців [1, 7]. Однак вплив AFB1 на метаболізм та функціональну активність еритроцитів з'ясований недостатньо.

Як відомо, кисень-транспортна функція еритроцитів істотно залежить від стабільності плазматичних мембран цих клітин. Важливим показником, який характеризує стан мембран еритроцитів, є кислотна резистентність, тобто стійкість цих клітин до гемолізу. Зміни кислотної резистентності еритроцитів до гемолітика можуть віддзеркалювати вплив різноманітних чинників, у тому числі токсикантів, які надходять в організм [3, 4, 5].

Тому з метою аналізу впливу афлатоксину В1 на стабільність плазматичних мембран еритроцитів щурів досліджували кінетику гемолізу цих клітин у кислому середовищі.

Матеріали і методи. Дослідження проводили на білих безпородних щурах, яких утримували в умовах віварію на стандартному раціоні *ad libitum* з необмеженим доступом до питної води. Тварин поділили на 4 групи: дві контрольні (K_1 і K_2) і дві дослідні (D_1 і D_2), по 5 особин в кожній. Щурам групи D_1 вводили афлатоксин В1, розчинений в кип'яченій оливковій олії одноразово, внутрішньочеревною ін'єкцією в дозі 0,25 мг/кг. Цих тварин використовували в експерименті через 7 діб після введення токсину. Щурам групи D_2 вводили AFB1 внутрішньошлунково в дозі 0,025 мг/кг щодоби впродовж семи діб. В експерименті їх використовували через 24 години після останнього введення AFB1. Тваринам груп K_1 і K_2 вводили кип'ячену оливкову олію в такому самому об'ємі, відповідно, внутрішньочеревною ін'єкцією та внутрішньошлунково щодоби впродовж семи діб. Результати, отримані в групах K_1 і K_2 , об'єднували, приймаючи отримане значення показника за контроль (К). Евтаназію щурів здійснювали декапітацією під легким ефірним наркозом, дотримуючись правил поводження з експериментальними тваринами.

Матеріалом досліджень була гепаринізована кров щурів контрольних і дослідних груп. Визначення кислотної резистентності еритроцитів проводили у термостатованій кюветі за температури 24°C [3, 4, 5]. Кров змішували з фізіологічним розчином до отримання екстинкції 0,700 при довжині хвилі 630 нм. У кювету вносили 1,5 мл суспензії еритроцитів і додавали однаковий об'єм 0,004 н розчину HCl у фізіологічному розчині. Екстинкцію вимірювали через кожні 30 секунд упродовж 7 хвилин. Опрацювання результатів здійснювали за методикою [3]. Дані опрацьовували статистично методами варіаційної статистики.

Результати досліджень та їх обговорення.

Результати аналізу еритрограм щурів контрольної та дослідних груп свідчать про істотні зміни функціональних характеристик мембран еритроцитів тварин, яким вводили афлатоксин В1. У процесі досліджень встановлено, що максимум еритрограми (максимальна частка гемолізованих еритроцитів) у тварин дослідних груп зміщується вліво порівняно з контролем, причому такий ефект проявляється і у щурів, яким вводили AFB1 одноразовою ін'єкцією в дозі 0,25 мг/кг, і у тварин, яким афлатоксин вводили щодоби в дозі 0,025 мг/кг (рисунок).

Що стосується часової динаміки гемолізу еритроцитів за наявності 0,004 н HCl в середовищі, то на 7-му добу після введення AFB1 час гемолізу 50% еритроцитів зменшується на 43% (з $3,5 \pm 0,3$ хв. до $2,0 \pm 0,2$ хв.) ($p < 0,01$), а на 7-му добу щодобового введення AFB1 в дозі 0,025 мг/кг – на 29% (табл. 3.4) ($p < 0,05$).

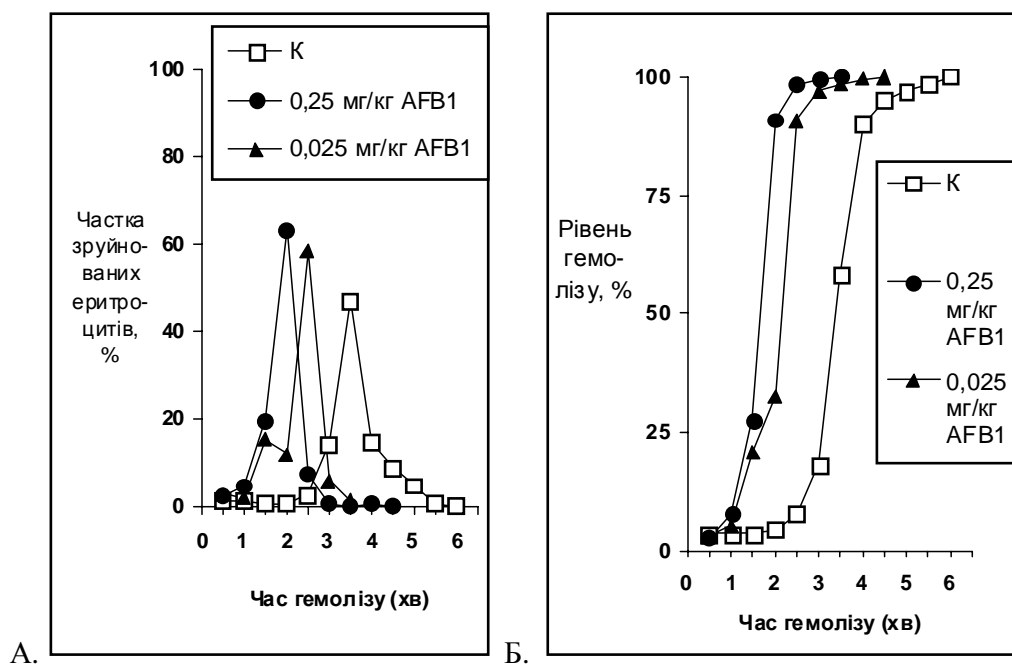


Рис. Типові еритрограми (А) та криві гемолізу (Б) еритроцитів щурів контрольної групи і тварин, яким вводили АFB1

Результати досліджень свідчать, що введення щурам афлатоксину В1 спричиняє зменшення стійкості еритроцитів до гемолізу. Такий ефект проявляється у зміщенні максимуму еритрограми вліво та у зменшенні часової динаміки гемолізу за наявності 0,004 н НС1 у середовищі і може свідчити про порушення функціональних характеристик мембран еритроцитів тварин під впливом АFB1. Отримані дані узгоджуються з результатами досліджень інших авторів, які вивчали безпосередній вплив АFB1 на плазматичні мембрани еритроцитів *in vitro* [8].

Таблиця

Час гемолізу еритроцитів щурів контрольної і дослідних груп за наявності 0,004 н НС1 в середовищі (M±m, n=5)

Умови досліджень	Час гемолізу 50% еритроцитів, хв.
Контроль	3,5±0,3
Одноразове введення АFB1 в дозі 0,25 мг/кг (7-ма доба після ін'єкції)	2,0±0,2**
Щодобове введення АFB1 в дозі 0,025 мг/кг (7 діб експерименту)	2,5±0,2*

Примітка: *, ** - вірогідність різниць між контрольною і дослідними групами тварин (* - p<0,05, ** - p<0,01).

Висновки. В процесі досліджень установлено, що за різних способів введення афлатоксину В1 (одноразове введення внутрішньочеревною ін'єкцією в дозі 0,25 мг/кг; щодобове введення в шлунок в дозі 0,025 мг/кг впродовж 7 діб) у щурів відбувається зменшення стійкості еритроцитів до кислотного гемолізу. Це свідчить про порушення функціональних властивостей плазматичних мембран клітин під впливом афлатоксину В1.

Література

1. Антоняк Г. Афлатоксини: біологічні ефекти та механізми впливу на організм тварин і людини / Г. Л. Антоняк, Н. О. Бабич, О. М. Стефанишин [та ін.] // Біологія тварин. – 2009. – Т. 11. № 1-2. – С. 17-27.
2. Антоняк Г. Вплив мікотоксинів на здоров'я тварин / Г. Л. Антоняк, Р. О. Федяков, Н. К. Коваль., О. М. Стефанишин // Науковий вісник ветеринарної медицини. – 2010. – Вип. 5. - №78. – С. 10 – 13.
3. Гительзон И. Эритрограммы как метод клинического исследования крови / И. И. Гительзон., И. А. Терсков. Красноярск, 1969. – 247 с.
4. Сибірна Н. О., Великий М. М. Цитологічні та фізико-хімічні методи дослідження крові: Методичний посібник. Львів. Ред.-вид. відділ. Львів. ун-ту, 1997. – 69 с.
5. Чернецкий Г. А. Способы определения резистентности эритроцитов / Г. А. Чернецкий. – Минск: Наука-Белорус, 2002. – 101 с.
6. CAST. Mycotoxins: Risk in plant, animal, and human systems. Task Force Report No. 139. Ames, IA 2003.
7. Kumar A. Ellagic acid peracetate is superior to ellagic acid in the prevention of genotoxicity due to aflatoxin B1 in bone marrow and lung cells. A. Kumar, Y. Tyagi, K. Seema, P. Ponnai [et al] // J. Pharm. Pharmacol. – 2007. – Vol. 59.- N1. – P. 81-86.
8. Mathuria N, Aflatoxin induced hemolysis and its amelioration by turmeric extracts and curcumin in vitro / N. Mathuria, R. Verma // Acta Pol. Pharm. – 2007. – Vol. 64.- N2. – P. 165-168.

Summary

R. A. Fedyakov¹, H. L. Antonyak^{1,2}

¹*Institute of Animal Biology NAAS*

²*Ivan Franko Lviv National University*

EFFECTS OF AFLATOXIN B1 ON ERYTHROCYTE HEMOLYSIS RESISTANCE OF WHITE RATS

Results of investigation of aflatoxin B1 in a single intraperitoneal injection (0,25 mg / kg bw) and a daily (7 days) intraperitoneal injection in a dose of 0,025 mg / kg bw on resistance of rat erythrocytes to hemolysis are presented in this article. It was found that aflatoxin B1 caused a shift to the left of the maximum of erythrogram and reduces the time of hemolysis in the presence of 0,004 N HCl in the medium.

Рецензент – д.вет.н., професор Головач П.І.