

## ПЕРОКСИДНЕ ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ ТА АКТИВНІСТЬ АНТИОКСИДАНТНИХ ЕНЗИМІВ У КЛІТИНАХ ЛЕГЕНЬ ЩУРІВ ЗА ЩОДОБОВОГО ВВЕДЕННЯ АФЛАТОКСИНУ В1

М. Р. Досвідчинська<sup>1, 2</sup>, Г. Л. Антоняк<sup>1, 3</sup>

<sup>1</sup>Інститут біології тварин НААН

<sup>2</sup>Дрогобицький державний педагогічний університет імені Івана Франка

<sup>3</sup>Львівський національний університет імені Івана Франка

*Досліджували динаміку вмісту ТБК-активних продуктів і супероксиддисмутази та глутатіонпероксидази в гомогенатах клітин легень білих щурів, яким упродовж 14 діб щодоби вводили афлатоксин В1 в дозі 0,025 мг/кг маси. Встановлено, що на 7- і 14-ту доби експерименту концентрація ТБК-активних продуктів зростає, що свідчить про активацію процесів пероксидного окиснення ліпідів у клітинах легень. Такий ефект супроводжується зниженням активності ферментів антиоксидантної системи в клітинах щурів дослідних груп. Результати досліджень свідчать про розвиток оксидативного стресу в легенях тварин під впливом афлатоксину В1.*

**Ключові слова:** АФЛАТОКСИН В1, ПЕРОКСИДНЕ ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ, АНТИОКСИДАНТНА СИСТЕМА, ЛЕГЕНІ

Афлатоксин В1 (AFB1) — продукт вторинного метаболізму грибів роду *Aspergillus* (головним чином, *A. flavus*). Це один з найнебезпечніших токсинів природного походження [1–4]. Як і інші афлатоксини, AFB1 може забруднювати корми тварин і продукти харчування людини в разі розповсюдження грибів-мікроміцетів на природних субстратах. Афлатоксин В1 проявляє мутагенні, канцерогенні, тератогенні та імуносупресивні властивості [1, 4, 5]. На сьогодні найбільш досліджений вплив афлатоксину В1 на клітини печінки. Що стосується ураження клітин інших органів, зокрема легень, під впливом AFB1, то ця проблема з'ясована значно менше. Разом із тим, відомо, що афлатоксини можуть вражати органи дихальної системи людини. Це трапляється внаслідок вдихання спор, фрагментів міцелію грибів-мікроміцетів із зерновим пилом, повітрям у вологих та підігрітих водою приміщеннях [3, 4, 6]. Тому вивчення впливу афлатоксину В1 на метаболічні процеси в клітинах легень за умов моделювання експериментального афлатоксикозу в лабораторних тварин є актуальною проблемою.

У механізмах дії багатьох мікотоксинів суттєву роль відіграє активація процесів пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) [7]. За таких умов важливе значення має функціональна активність антиоксидантної системи клітин. Отже, метою нашого дослідження було дослідити вплив афлатоксину В1 на процеси ПОЛ та активність ферментів антиоксидантної системи (супероксиддисмутаза, глутатіонпероксидаза) в клітинах легень щурів, які зазнавали щодобового впливу афлатоксину В1.

### Матеріали і методи

Досліди проводили на дорослих білих безпородних щурах-самцях з масою тіла 180–200 г. Під час експерименту тварини утримувались за стандартних умов віварію з підтриманням харчового і питного режимів на рівні, рекомендованому нормами утримання лабораторних тварин. Щурів поділяли на три групи: контрольну (К) і дві дослідні (Д1, Д2), по 5 особин у кожній. Тваринам дослідних груп щодоби внутрішньошлунково вводили

AFB1 в дозі 0,025 мг/кг маси, тваринам контрольної групи — фізіологічний розчин у відповідному об'ємі. Дослідження проводили на 7- і 14-ту доби після початку введення токсину. Евтаназію тварин здійснювали під легким ефірним наркозом, дотримуючись правил поводження з експериментальними тваринами.

Зразки легень, відібрані зразу ж після евтаназії, охолоджували до температури 1–3 °С в фізіологічному розчині, підсушували фільтрувальним папером, а потім подрібнювали ножицями та гомогенізували у 0,05 М тріс-НСІ буфері (рН 7,4). Співвідношення маси тканини до об'єму буферу становило 1:9. Одержані гомогенати центрифугували при 10 000 g впродовж 30 хв, використовуючи для досліджень надосадову рідину.

У гомогенатах легень визначали концентрацію продуктів, які взаємодіють з тіобарбітуровою кислотою (ТБК-активні продукти), і активність ферментів антиоксидантної системи (супероксиддисмутаза, глутатіонпероксидаза). Супероксиддисмутазну активність визначали за рівнем гальмування ферментом процесу відновлення нітросинього тетразолію за наявності NADP і феназинметасульфату. Активність глутатіонпероксидази визначали за допомогою стандартних методик [8]. Результати досліджень опрацьовували статистично [9].

### Результати й обговорення

Як видно з представлених результатів, через 7 і 14 діб після початку введення афлатоксину В1 концентрація ТБК-активних продуктів зростає в гомогенатах легень щурів дослідних груп, відповідно, на 49 і 90 % ( $p < 0,05$ – $0,01$ ) (рис. 1). Це свідчить про збільшення інтенсивності процесів пероксидного окиснення ліпідів у клітинах тварин під впливом афлатоксину В1.

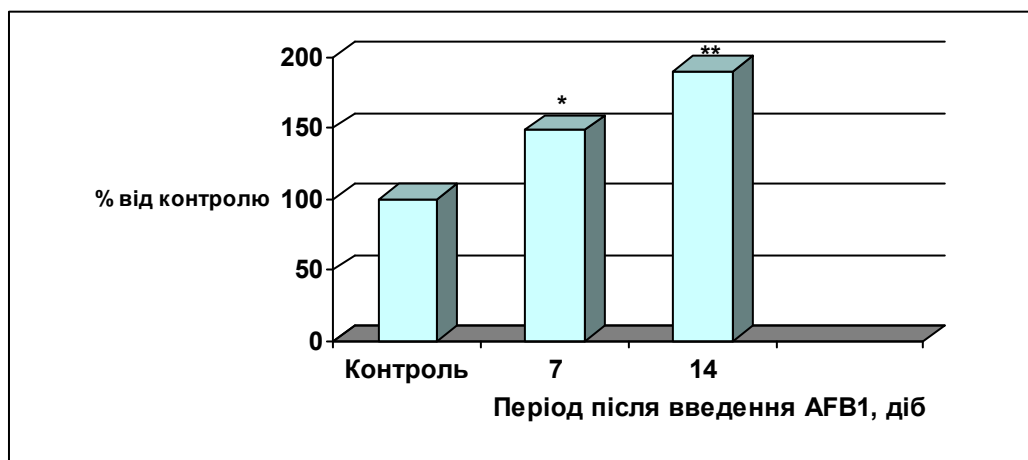


Рис. 1. Вплив афлатоксину В1 на вміст ТБК-активних продуктів у клітинах легень щурів  
Примітка: на цьому та наступних рисунках \*, \*\* — вірогідність різниць у показниках між контрольною і дослідними групами тварин (\* —  $p < 0,05$ ; \*\* —  $p < 0,01$ )

Відомо, що активація пероксидного окиснення ліпідів може призвести до оксидативного пошкодження мембран, пригнічення каталітичної активності ферментів та інших шкідливих ефектів, які порушують життєві функції клітин [10, 11]. За умов посиленого перебігу процесів ПОЛ значну роль відіграє антиоксидантна система, ферментні компоненти якої беруть участь у регуляції інтенсивності утворення вільних радикалів і знешкодженні продуктів ПОЛ [11].

До важливих показників антиоксидантного статусу клітин належить активність таких ферментів, як супероксиддисмутаза (СОД) і глутатіонпероксидаза [7, 11,]. У процесі досліджень встановлено, що за умов інтоксикації афлатоксином В1 в клітинах легень

піддослідних тварин відбувається зниження активності зазначених ферментів-антиоксидантів. Зокрема, результати досліджень супероксиддисмутази свідчать, що в досліджуваних клітинах цей показник знижується на 7- і 14-ту доби експерименту, відповідно, на 18,7 і 28,4 % ( $p < 0,05-0,01$ , рис. 2). Пригнічення супероксиддисмутази призводить до нагромадження супероксид-аніон-радикалу, який започатковує ланцюг вільнорадикальних реакцій у клітині. Тому встановлена динаміка активності СОД та концентрації кінцевих продуктів ПОЛ свідчать про активацію вільнорадикального окиснювального процесу [10–14].

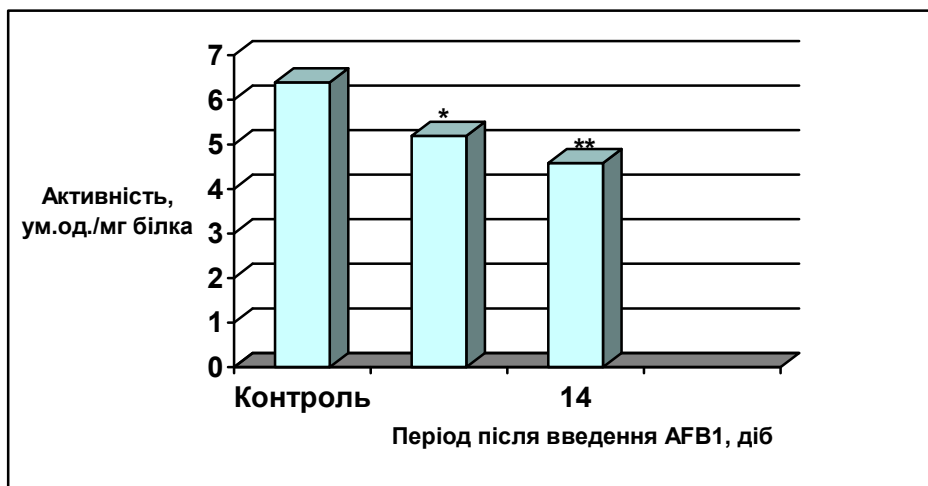


Рис. 2. Вплив афлатоксину В1 на супероксиддисмутази активність в клітинах щурів

Для характеристики співвідношень між прооксидантними та антиоксидантними процесами в клітинах тварин за умов розвитку експериментального афлатоксикозу важливе значення має активність іншого ензиму антиоксидантої системи — глутатіонпероксидази. Відомо, що глутатіонпероксидаза каталізує реакції перетворення гідроген пероксиду та гідропероксидів ліпідів до відповідних окисполук, здійснюючи детоксикаційну функцію в клітинах. Таким чином, цей ензим гальмує процеси вільнорадикального окиснення та захищає плазматичні мембрани, внутрішньоклітинні структурні компоненти та біомолекули від пошкоджень під впливом екзогенних токсикантів [10–13].

Однак глутатіонпероксидазна активність пригнічується в клітинах легень щурів дослідних груп, відповідно, на 20,5 і 29,3 % на 7- та 14-ту доби експерименту ( $p < 0,05$ , рис. 3). Такий ефект сприяє збільшенню наслідків окисдативного стресу в клітинах органів дихальної системи тварин у процесі розвитку афлатоксикозу.

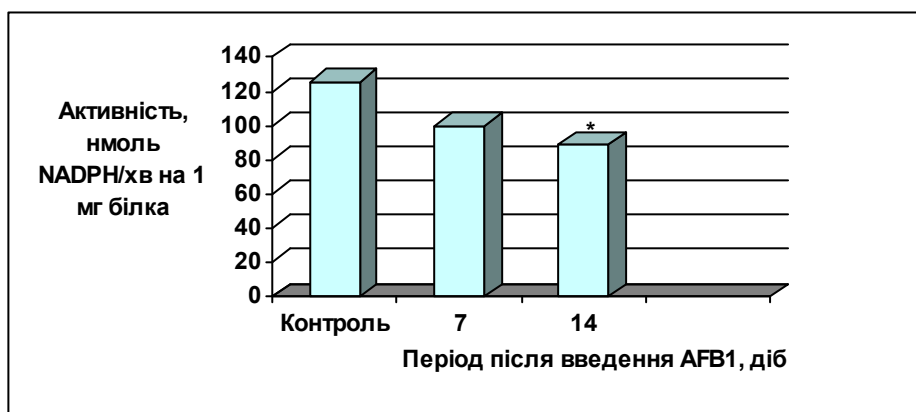


Рис. 3. Вплив афлатоксину В1 на глутатіонпероксидази активність в клітинах щурів

Результати експерименту свідчать, що AFB1 істотно впливає на процеси метаболізму в клітинах легень, стимулюючи процеси ПОЛ та пригнічуючи активність ферментів антиоксидантної системи. Як відомо, AFB1 сприяє збільшенню вмісту активних форм Оксигену (АФО) в клітинах прямим і опосередкованим шляхом [7, 11, 12]. Реакційно активні АФО індукують пероксидне окиснення ліпідів та інші процеси, що призводять до деструктивних змін у клітинах легень, як і інших органів і тканин. За таких умов зменшення рівня антиоксидантного захисту клітин легень у тварин, інтоксикованих афлатоксином В1, може посилювати шкідливий вплив AFB1 на функціональну активність дихальної системи.

### **Висновки**

1. На 7- і 14-ту доби розвитку експериментального афлатоксикозу, зумовленого щодобовим введенням щурам афлатоксину В1, у клітинах легень зростає рівень кінцевих продуктів ПОЛ (ТБК-активні продукти).

2. За умов щодобового введення щурам афлатоксину В1 впродовж 7- і 14-добового періоду в клітинах легень відбувається пригнічення активності ферментів антиоксидантної системи, а саме: супероксиддисмутази та глутатіонпероксидази.

3. Збільшення інтенсивності процесів пероксидного окиснення ліпідів на тлі пригнічення ензимів антиоксидантної системи свідчить про розвиток оксидативного стресу в клітинах легень під впливом афлатоксину В1.

**Перспективи подальших досліджень.** Дослідження механізмів токсичного впливу афлатоксинів у клітинах органів і тканин, а також можливості корекції порушень метаболізму в організмі тварин за умов отруєння афлатоксинами.

*М. Р. Досвядчинська, Н. Л. Антоняк*

### **LIPID PEROXIDATION AND ANTIOXIDANT SYSTEM ENZYME ACTIVITY IN RAT LUNG UNDER LONG TERM ADMINISTRATION OF AFLATOXIN B1**

#### **S u m m a r y**

The dynamics of lipid peroxidation (LPO) processes and superoxide dismutase, glutathione peroxidase activities in the lungs of white rats during 7 and 14 days of intraperitoneal administration of aflatoxin B1 in a dose 0,025 mg/kg were studied. Activation of LPO and decreased activities of antioxidant system was shown in cell homogenates from the rats lungs of studied groups. The results suggest the development of oxidative stress in the lungs of animals under an influence of aflatoxin B1.

*М. Р. Досвядчинська, Г. Л. Антоняк*

### **ПЕРОКСИДНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ И АКТИВНОСТЬ ЭНЗИМОВ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ В ЛЕГКИХ КРЫС В УСЛОВИЯХ ЕЖЕСУТОЧНОГО ВВЕДЕНИЯ АФЛАТОКСИНА В1**

#### **А н н о т а ц и я**

Проводили исследования динамики ТБК-активных продуктов и супероксиддисмутазной и глутатионпероксидазной активности в гомогенатах легких белых крыс, которым в течение 14-ти суток ежедневно вводили афлатоксин В1 в дозе 0,025 мг/кг. В процессе исследований установлено, что на 7- и 14-е сутки эксперимента концентрация ТБК-активных продуктов увеличивается, что свидетельствует об активации процессов

пероксидного окислення ліпидов в клітках легких. Такий ефект супроводжується зниженням активності ферментов антиоксидантної системи в клітках крыс досліджуваних груп. Результати свідчать про розвиток окисдавного стресса в легких животиных под впливом афлатоксина В1.

1. *Антоняк Г. Л.* 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. 16–26.

2. *Коляденко В. Г.* Мікотоксини плісневих грибів: гепатотоксична, нефротоксична, канцерогенна, мутагенна та ембріотоксична дія / В. Г. Коляденко, В. І. Степаненко, В. А. Кравченко // Мікологія. — 2002. — № 1. — С. 47–50.

3. *Pitt J. I.* Mycotoxins in Australia: biocontrol of aflatoxin in peanuts / J. I. Pitt, A. D. Hocking // Mycopathologia. — 2006. — Vol. 162, N 3. — P. 233–243.

4. *Bryden W. L.* Mycotoxins in the food chain: human health implications / W. L. Bryden // Asia Pac. J. Clin. Nutr. — 2007. — Vol. 16 (Suppl. 1). — P. 95–101

5. *Reddy S. V.* Properties of Aflatoxin and It Producing Fungi. / S. V. Reddy, F. Waliyar // International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics. — 2009.

6. *Smith, Tara* (June 2005). A Focus on Aflatoxin Contamination. United States National Agricultural Library, Food Safety Research Information Office. Retrieved December 17, 2008.

7. *Koval N.* Process of lipid peroxidation and activity of antioxidant system in the cells of white rats under aflatoxin B1 injection : materialy VII Międzynarodowej konferencji naukowych młodych pracowników nauki i studentów «Nowe tendencje rozwoju rolnictwa i obszarów wiejskich» / N. Koval, H. Antonyak — Rzeszow, 2011. — С. 96–99

8. *Прохорова М. И.* Методы биохимических исследований/ М. И. Прохорова. — Л. : Изд-во Ленинградского ун-та, 1982. — 272 с.

9. *Лапач С. Н.* Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С. Н. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич. — М. : Морион, 2001. — 408 с.

10. *Abdel-Wahhab M. A.* Melatonin counteracts oxidative stress in rats fed with an ochratoxin A contaminated diet / M. A. Abdel-Wahhab, V. V. Abdel-Galil, M. El-Lithey // Pineal Res. — 2005. — Vol. 38. — P. 130–135.

11. *Антоняк Г. Л.* Вплив афлатоксину В1 на процеси пероксидного окислення ліпідів та антиоксидантну систему еритроцитів і гепатоцитів щурів / Г. Л. Антоняк, Р. О. Федяков, Н. К. Коваль // Вісник Одеського національного університету. — 2011. — Т. 16, Вип. 6. — С. 5–11. — (Серія «Біологія»).

12. *Дубинина Е. Е.* Роль активных форм кислорода в качестве сигнальных молекул в метаболизме тканей при состоянии окислительного стресса / Е. Е. Дубинина. // Вопросы мед. хим. — 2001. — 76, № 6. — С. 136–141.

13. *Williams J. H.* Human aflatoxicosis in developing countries: a review of toxicology, exposure, potential health consequences, and interventions / J. H. Williams, T. D. Phillips, P. E. Jolly et al. // Am. J. Clin. Nutr. — 2004. — Vol. 80. — P. 1106–1122.

14. *Yu J.* Aspergillus flavus genomics: gateway to human and animal health, food safety, and crop resistance to diseases / J. Yu, T. E. Cleveland, W. C. Nierman, J. W. Bennett // Rev. Iberoam. Micol. — 2005. — Vol. 22. — P. 194–202.

**Рецензент:** науковий співробітник лабораторії фізіології, біохімії та живлення птиці, кандидат сільськогосподарських наук Кисців В. О.