

УДК 57:577.121:591.1

## ВИЗНАЧЕННЯ ЗАЛИШКОВИХ КІЛЬКОСТЕЙ Т-2 ТА НТ-2 ТОКСИНІВ У КРОВІ ТА ОРГАНАХ КУРЕЙ

М. В. Вовк, О. І. Федякова, О. М. Паздерська  
olesja\_v@ukr.net

Державний науково-дослідний контрольний інститут ветеринарних препаратів  
та кормових добавок, вул. Донецька, 11, м. Львів, 79019, Україна

*В останні роки проблема мікотоксикозів є досить актуальною через поширення і вплив мікотоксинів на фізіологічний стан і продуктивність тварин та птиці, а також опосередковано на здоров'я людини. Метаболізм, як спосіб зниження токсичності, не завжди має позитивні наслідки, оскільки часто продукти перетворення є більш токсичні від своїх попередників. Тому метою нашої роботи було визначення концентрації Т-2 токсину та основного його метаболіту — НТ-2 токсину в крові, печінці, легенях і нирках курей.*

*У статті описані особливості метаболізму Т-2 токсину в різних видах живих організмів; приведені шляхи і способи перетворення окремих метаболітів Т-2 токсину в курей. Дослідження проводили за умов одноразового перорального введення в дозі 0,56 мг/кг маси тіла. Концентрацію Т-2 та НТ-2 токсинів у крові та органах курей визначали методом високоефективної рідинної хроматографії зі застосуванням імуноафінних колонок.*

*Результати досліджень свідчать, що через годину після початку експерименту, найбільша концентрація Т-2 токсину виявлялась у крові (266,2 мкг/кг). У печінці Т-2 токсин головно перетворюється до НТ-2, тому концентрація останнього на 6 год після введення досягає 173,4 мкг/кг, в той час як у крові, легенях та нирках не перевищує 37,3 мкг/кг. Через 24 год вміст Т-2 та НТ-2 токсинів різко знижується, але в нирках концентрація цих сполук залишається відносно високою (24,21 та 86,87 мкг/кг відповідно). Через 48 год в досліджуваних зразках залишились лише незначна кількість токсинів, проте в нирках концентрація НТ-2 токсину становила 27,1 мкг/кг.*

**Ключові слова:** Т-2 ТОКСИН, НТ-2 ТОКСИН, КУРИ, ВИСОКОЕФЕКТИВНА РІДИННА ХРОМАТОГРАФІЯ, ІМУНОАФІННІ КОЛОНКИ, МЕТАБОЛІЗМ, ТРИХОТЕЦЕНОВІ МІКОТОКСИНИ

## DETERMINATION OF RESIDUAL QUANTITI OF T-2 AND HT-2 TOXINS IN THE BLOOD AND ORGANS OF CHICKENS

М. В. Vovk, О. І. Fedyakova, О. М. Pazderska  
olesja\_v@ukr.net

State Scientific Research Control Institute of Veterinary Drugs and Food Additives,  
Donetska str., 11., Lviv, 79019, Ukraine

*The problem of mycotoxicosis occupied an important place in recent years because mycotoxins relevance impact on the physiological condition and efficiency of animals and birds, and also indirectly on human health. Metabolism is not always has positive effects, as a way to decrease toxicity, since, often the products are more toxic than predecessors. The goal of our study was to determinate of concentration T-2 and HT-2 toxins in blood, liver, lung and kidneys in the body of chickens.*

*This article describes the features of the metabolism of T-2 toxin in different species of living organisms, given the ways and means of converting individual metabolites of T-2 toxin in chickens. The researches conducted under the conditions of single oral administration at a dose of 0.56 mg/kg of body*

weight. The concentration of T-2 and HT-2 toxins in blood and organs of chickens was determined by high performance liquid chromatography using immunoaffinity columns.

The results showed that an hour after the start of the experiment, the highest concentration of toxin was detected in the blood (266.2 mg/kg). In the liver T-2 toxin is converted to HT-2, therefore the concentration of the last 6 hours after administration reaches up to 173.4 mg/kg, while in the blood, lungs and kidneys does not exceed 37.3 mg/kg. After 24 hours the content of T-2 and HT-2 toxins drastically reduces, but the kidney concentration of these compounds remains relatively high (24.21 and 86.87 mg/kg, respectively). After 48 hours in the studied samples there was only a small quantity of toxins, but the concentration of HT-2 toxin in kidneys was 27.1 mg/kg.

**Keywords:** T-2 TOXIN, HT-2 TOXIN, CHICKENS, HPLC, IMMUNOAFFINITY COLUMNS, METABOLISM, TRICHOTHECENE MICOTOXINS

## ОПРЕДЕЛЕНИЯ ОСТАТОЧНЫХ КОЛИЧЕСТВ Т-2 И НТ-2 ТОКСИНОВ В КРОВИ И ОРГАНАХ КУР

М. В. Вовк, А. И. Федякова, О. Н. Паздерска  
olesja\_v@ukr.net

Государственный научно-исследовательский контрольный институт ветеринарных препаратов и кормовых добавок, ул. Донецкая, 11, г. Львов, 79019, Украина

В последние годы проблема микотоксикозов очень актуальна вследствие распространения и влияния микотоксинов на физиологическое состояние и продуктивность животных и птицы, а также, косвенно на здоровье человека. Метаболизм, как способ снижения токсичности, не всегда имеет положительные последствия, поскольку часто продукты более токсичны своих предшественников. Поэтому целью нашей работы было изучение основных путей преобразования Т-2 токсина в организме кур в условиях однократного приема внутрь в дозе 0,56 мг/кг массы тела.

В статье описаны особенности метаболизма Т-2 токсина в различных видах живых организмов, приведены пути и способы преобразования отдельных метаболитов Т-2 токсина в организме кур. Определение Т-2 токсина в крови и органах проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с применением иммуноаффинных колонок.

Результаты исследований показали, что через час после начала эксперимента, наибольшая концентрация токсина оказывалась в крови (266,2 мкг/кг). В печени Т-2 токсин превращается в НТ-2, поэтому концентрация последнего через 6 часов после введения достигает 173,4 мкг/кг, в то время как в крови, легких и почках не превышает 37,3 мкг/кг. Через 24 ч содержание Т-2 и НТ-2 токсинов резко снижается, но в почках концентрация этих соединений остается относительно высокой (24,21 и 86,87 мкг/кг соответственно). Через 48 ч в исследуемых образцах остались лишь незначительное количество токсинов, однако в почках концентрация НТ-2 токсина составляла 27,1 мкг/кг.

**Ключевые слова:** Т-2 ТОКСИН, НТ-2 ТОКСИН, КУРЫ, ВЫСОКОЭФФЕКТИВНАЯ ЖИДКОСТНАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ, ИММУНОАФФИННЫЕ КОЛОНКИ, МЕТАБОЛИЗМ, ТРИХОТЕЦЕНОВЫЕ МИКОТОКСИНЫ

В останні роки проблема мікотоксинів є надзвичайно актуальною у зв'язку з поширенням і впливом на фізіологічний стан і продуктивність тварин та птиці, а також опосередковано на здоров'я людини. Одними з найрозповсюдженіших серед них є трихотеценові токсини, зокрема Т-2 та НТ-2

токсини, продуковані грибами роду фузаріум. Вони є природними контамінантами сільськогосподарських культур, таких як: кукурудза, ячмінь, овес, пшениця, сорго, тритикале і арахіс.

Основними споживачами зерна і зернопродуктів (часто контамінованих

мікотоксинами) є птиця, особливо високопродуктивні породи. У сучасному птахівництві гострі спалахи мікотоксикозів — явище рідкісне, проте слід пам'ятати, що навіть найнижчі рівні мікотоксинів у кормах викликають зниження продуктивності птиці та підвищують її сприйнятливість до інфекційних хворіб.

Метаболізм як механізм нейтралізації впливу та виведення токсинів в різних організмах має свою специфіку.

На відміну від багатьох мікотоксинів, трихотечени для прояву своєї токсичності не потребують попередньої метаболічної активації [1].

Трихотеченові мікотоксини є токсичні для багатьох рослин, проте існують і стійкі види, окремі рослини здатні метаболізувати Т-2 токсин до менш токсичних сполук. Важливу роль в метаболізмі трихотеченів відіграють ґрунтові бактерії, які розкладають Т-2 токсин до НТ-2 токсину, Т-2 тріолу, Т-2 тетраолу.

Гриби перетворюють Т-2 токсин за допомогою реакцій ацетилювання і гідролізу. Дуже мало відомостей про метаболізм Т-2 токсину дріжджами, процес його нейтралізації головно відбувається шляхом сорбції токсину клітинними стінками *Saccharomyces cerevisiae*.

В організмі тварин трихотечени всмоктуються в шлунково-кишковому тракті і через кров розподіляються між тканинами та органами.

Трихотечени добре розчинні у воді, тому слабо акумулюються в тканинах і органах тварин.

Печінка — основний орган, в якому метаболізуються трихотечени [2]. В інших тканинах, наприклад, кишечнику мікотоксини здатні зазнавати біотрансформації. Більша частина радіоактивно міченого тритієм Т-2 токсину

зосереджується в жовчі і травному тракті незалежно від способу введення в організм.

Наявні в літературі дані (Yoshizawa et al, 1980) демонструють наявність Т-2 токсину в молоці і яйцях. Т-2 токсин викликає порушення мембранного транспорту, імунної відповіді, зміни морфофункціонального стану клітин крові.

Також незалежно від шляху введення Т-2 токсин з'являється в плазмі крові тварин.

Залишкові кількості були виявлені в лімфоїдних тканинах. Відомі дані, що через 72 год в організмі залишаються незміненими лише 5 % Т-2 токсину, ймовірно, це відбувається внаслідок ланки ферментативних реакцій.

Перетворення відбувається шляхом ацетилювання, деацетилювання (через неспецифічну карбоксиестеразу), гідроксильовання (через участь цитохром Р450 залежних ензимів), деєпоксидзації (у гризунів, свиней і великої рогатої худоби), і глюкуронових кон'югатів (рис. 1). Типові метаболіти Т-2 токсину: НТ-2 токсин, (гідроліз), Т-2-тріол (гідроліз), Т-2-тетраол (гідроліз), 3'-гідрокси-Т-2 (окиснення), 3'-гідрокси-НТ-2 токсин (окиснення), деєпокси-3'-гідрокси-Т-2-тріол, деєпокси-3'-гідрокси-НТ (гідроліз), 3'-гідрокси-Т-2-тріол і дигідрокси-НТ-2 (гідроліз), неосоланіол (гідроліз), 3',7-дигідрокси-Т-2 (окиснення) і 3',7-дигідрокси-НТ-2 токсин (окиснення) представлені на рисунку 1. Неосоланіол і НТ-2 токсин виводяться з організму як глюкуронові кон'югати. Період піврозпаду Т-2 токсину в плазмі крові становить менше 20 хв. Деацетилювання Т-2 токсину (в положенні С4) до НТ-2 токсину неспецифічними карбоксиестеразами — основна ланка метаболізму Т-2 токсину досліджена *in vitro* на клітинах шкіри і фібробластах людини [3].

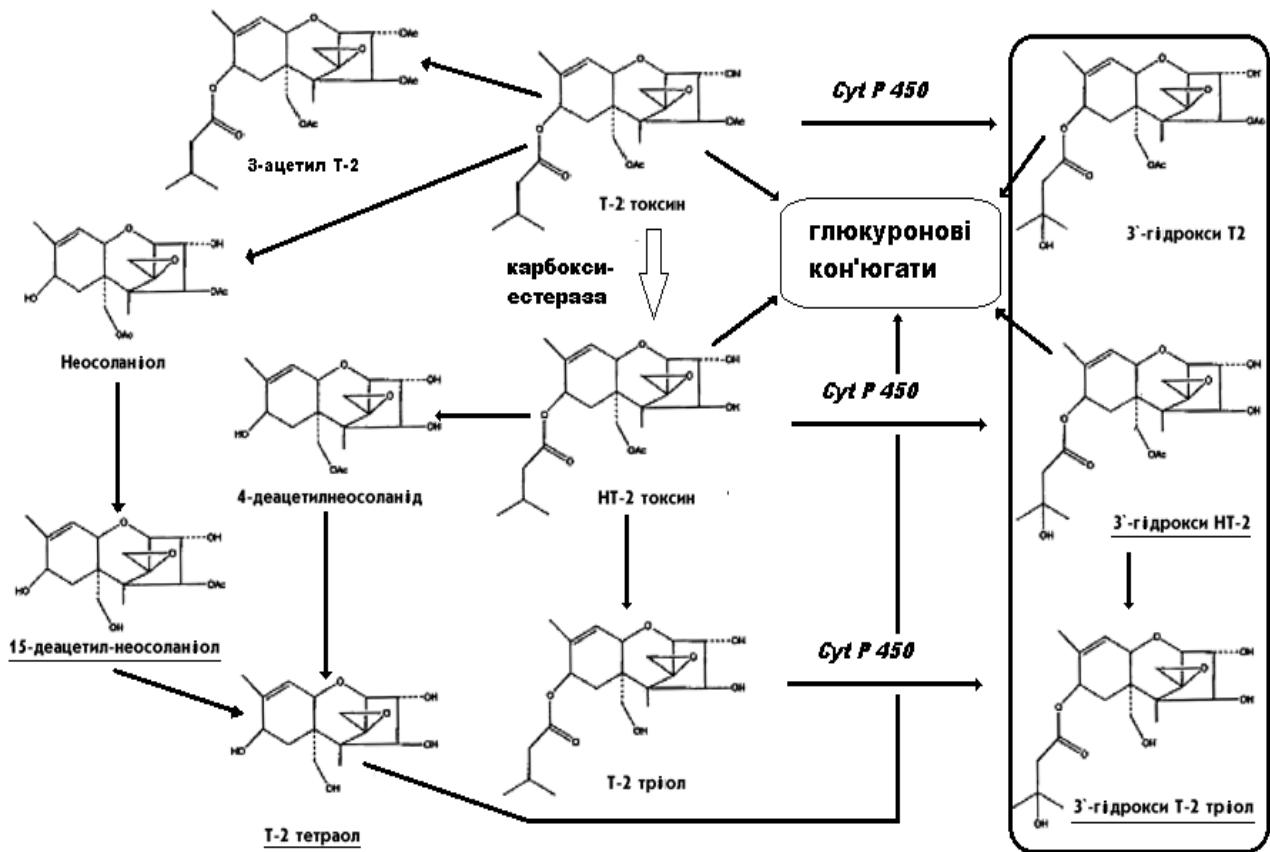


Рис. 1. Шляхи метаболізму Т-2 токсину в організмі тварин і людини [4]

Дослідження, які проводили з Т-2 токсином, міченим тритієм, показали, що через 48 год 71 % мітки припадало на НТ-2 токсин, 15 % — Т-2 токсин [5]. Невідомі метаболіти були ідентифіковані як 3'-гідрокси-Т-2, 3'-гідрокси НТ-2, 3'-гідрокси Т-2 тріол і 3-ацетил Т-2 токсин. Шлях, що веде від 3'-гідрокси Т-2 токсину до 3'-гідрокси Т-2 тріолу, включає в себе ряд токсичніших за Т-2 метаболітів [6].

Трансформація Т-2 токсину до НТ-2 була вивчені на епітеліальних клітинах проксимальних ниркових каналців і фібробластах легень людини [7]. Дослідження мітросомальних препаратів печінки, нирок, селезінки, різних видів тварин (в. т. ч. щурів, овець та ін.) показало, що НТ-2 токсин є метаболітом лише Т-2 токсину [8]. Він метаболізується до 3'-гідрокси-НТ-2, Т-2-тріолу, 3'-гідрокси-Т-2-тріолу, 4-деацетил-неосоланіолу, Т-2 тетраолу [9].

Біотрансформація до НТ-2 токсину здебільшого відбувається в печінці, але

також метаболізм Т-2 токсину проходить в кишечнику та інших органах і плазмі крові щурів, свиней, мишей, курей і корів [10]. У жуйних тварин частково відбувається в рубці [10]. 3'-гідрокси Т-2 токсин був знайдений у всіх вищевказаних видів, крім того, декотрі депоксидні метаболіти (підкреслені на рис. 1.) були знайдені в гризунів, свиней і великої рогатої худоби (15-деацетилнеосоланіол тільки у гризунів, Т-2 тетраол — у свиней) [6]. Наступна фаза метаболізму Т-2 токсину характеризується утворенням глюкуронових кон'югатів, які виводяться за участі видільної системи. В організмі котів глюкуронові кон'югати не утворюються, що робить цих тварин надзвичайно чутливими до Т-2 токсину.

В організмі щурів перетворення токсину залежить від способу введення, часу експозиції, дози [8]. Наприклад, у щурів при введенні тритій-міченого токсину в дозах 0,15 і 0,60 мг/кг маси тіла нижчі дози метаболіта 3'-ОН-НТ-2 знайдені

після внутрішньовенного введення, порівняно з пероральним [9].

У мавп за 5 хв після одноразового внутрішньовенного введення Т-2 токсину 22 % було знайдено у формі метаболітів. А за 24 години у плазмі залишилось лише 8 % незміненого Т-2 токсину.

До 95 % міченого за тритієм токсину, введеного внутрішньовенно, виводиться з організму з фекаліями і сечею у співвідношенні 3:1 у мишей, 5:1 у щурів, 1:4 у мурчаків.

У мишей максимальна кількість міченого тритієм Т-2 токсину (27 %) виявлялась вже через 30 хв у печінці, нирках і жовчі. Ті ж досліді показали, що через 72 год з організму виводилось біля 70 % токсину (51 % з калом і 17 % з сечею) [12]. У дослідях на 47 год вміст радіоактивної мітки в шлунково-кишковому тракті падав до 2,7 %, а в екскрементах зростав до 81,6 % [13].

Фармакокінетичними дослідженнями показано, що незалежно від шляху надходження Т-2 токсину в організм, він з'являється у плазмі крові тварин [14]. Концентрація вихідних трихотеценових мікотоксинів у плазмі зменшується внаслідок деацелювання та гідроксилування метаболітів і утворення глюкуронових кон'югатів, які швидко виключаються з циркуляції. На підставі цих спостережень зроблено висновок, що фармакокінетика трихотеценів є функція швидкості поглинання мікотоксинів у центральній циркуляції, їх біотрансформації, міжтканинного розподілу і екскреції глюкуронових кон'югатів. Мікросомальні неспецифічні карбоксилестерази (К.Ф. 3.1.1.1) печінки вибірково гідролізують 3-4 ацетильну групи Т-2 токсину, перетворюючи його в НТ-2 токсин. Подібна активність, крім печінки, виявляється у мозку, нирках, селезінці, тканинах кишечника, лейкоцитах і еритроцитах. Цитохром Р-450 печінки бере участь у каталітичному гідроксилуванні ізовалеріанових ланцюгів Т-2 і НТ-2 токсинів у положення С-3' та С-4' [15]. Через 4 год після введення свиням

міченого тритієм Т-2 токсину 63 % мітки виявляється в сечі і 77 % мітки перебуває у складі глюкуронових кон'югатів жовчі. Утворення глюкуронових кон'югатів є основним шляхом детоксикації цих ксенобіотиків; лише невелика частина трихотеценових токсинів виділяється з організму в незміненому вигляді [13].

Негативний вплив Т-2 токсину на організм людини і тварин вивчений достатньою мірою. Відомо також, що Т-2 токсин здатний потрапляти в еукаріотичні організми з кормами та продуктами харчування [12]. Проте питання залишкових кількостей Т-2 токсину та його метаболітів у продуктах тваринного походження залишається актуальним питанням. Тому наступним етапом нашої роботи було визначення залишкових кількостей Т-2 токсину та основного його метаболіта — НТ-2 токсину у крові та інших органах.

### Матеріали і методи

Дослідження проводили на курах кросу Іза-браун масою 1,0–1,5 кг, яких перед початком дослідів утримували на карантині впродовж 7 днів, в умовах віварію на стандартному раціоні, дотримуючись закону «Про захист тварин від жорстокого поводження», а також згідно з Європейською конвенцією про захист хребетних тварин [15]. Тварини були поділені на 4 групи по 4 голови у кожній. Тваринам перорально вводили Т-2 токсин в 1 % розчині етанолу, з розрахунку 0,56 мг/кг маси тіла. Кров і органи відбирали через 1, 6, 24, 48 год після введення токсину, після декапітації під легким ефірним наркозом.

Вміст залишкових кількостей Т-2 і НТ-2 токсинів визначали методом високоефективної рідинної хроматографії. Для цього відібрані зразки тканин гомогенізували, зважували, проводили екстракцію ацетонітрилом (HPLC, Lab-scan), перемішували впродовж 20 хв, знежирювали гексаном (GG, Lab-scan).

Знежирений зразок висушували і перерозчиняли в метанолі з метою очищення і концентрування пропускали через імуноафінні колонки (R-biopharm). Вони дають змогу провести екстракцію та концентрування відповідного мікотоксину. Принцип методу полягає у введенні екстракту зразка у колонку, яка містить імуноафінну матрицю (специфічні до Т-2 токсину антитіла ковалентно зв'язані з поверхнею гранул агарози або целюлози, якими заповнена колонка). Молекула токсину, яка міститься у зразку, приєднується до відповідного іммобілізованого антитіла. Наступні кроки включають поступове видалення незв'язаних матричних компонентів та екстрагента, елюцію токсину, змінюючи елююючий склад і, власне виявлення токсину. Елюція токсину із ІАК дозволяє провести кількісне його визначення з використанням класичних аналітичних методів, зокрема ВЕРХ.

Пропускали через колонку 25 мл підготовленого розчину досліджуваного зразка зі швидкістю 15 крапель за хвилину. Промивали колонку 20 мл води зі швидкістю 1 крапля в секунду. Видаляли з колонки залишки рідини створенням вакууму і висушували колонку, продуваючи її повітрям протягом 2 хвилин. Зв'язані на колонці токсини обережно (зі швидкістю 15 крапель у хвилину) елюювали 1,5 мл метанолу (100 %) в хроматографічну віалу.

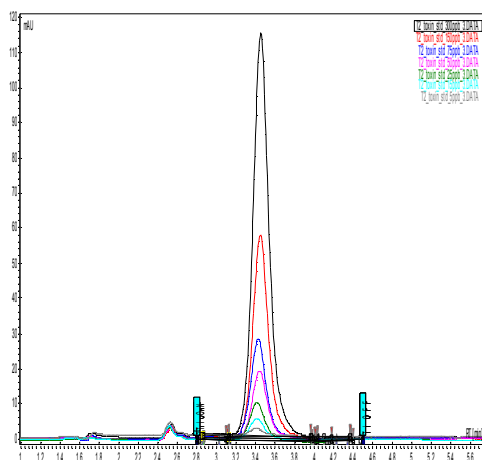


Рис. 2. Хроматограми зразків навантажених Т-2 токсином, концентрацією 2,5–300 нг/г

З свіжоприготованого зразка отримували послідовно не менше трьох хроматограм. Результати вираховували за співвідношенням площі піків з площами піків калібрувальної кривої і статистично обраховували.

Параметри хроматографічної системи. Система для високоефективної рідинної хроматографії виробництва Varian (США). Колонка Microsorb 100 C18 (5мкм\*250мм\*4,6мм), Varian (США). Бінарна градієнтна система елюентів складалася із рухомої фази А: води та рухомої фази В: ацетонітрилу. Елюенти були фільтровані і дегазовані. Швидкість потоку елюенту становила 1 мл/хв. Об'єм проби для введення складає 0,03 мл. Температура колонки становить 30 °С. Довжина хвилі 208 нм. Тривалість аналізу — 15 хв, включаючи час необхідний для стабілізації колонки — 10 хв.

Обчислення результатів проводилось автоматично програмою Galaxy, відповідно до площі піків Т-2 та НТ-2 токсину калібрувальної кривої. Статистичне опрацювання результатів проводять за допомогою програмного забезпечення Statistica 6.0.

### Результати й обговорення

Для обчислення концентрації токсинів проведено аналіз зразків, навантажених Т-2 (рис. 2) та НТ-2 (рис. 4) токсинами у відомих концентраціях, з яких побудували калібрувальні криві (рис. 3, 5).

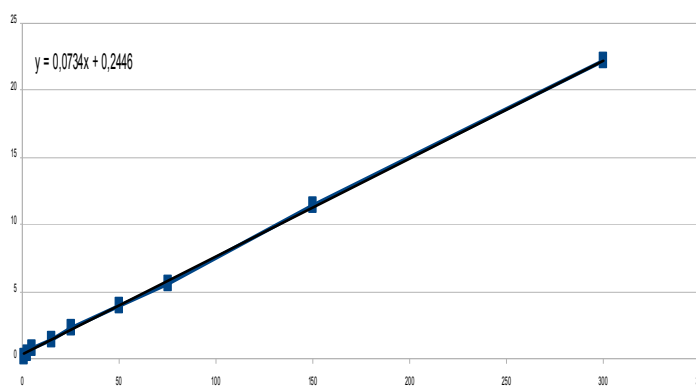


Рис. 3. Калібрувальна крива методу визначення Т-2 токсину в діапазоні концентрацій 2,5–300 нг/г

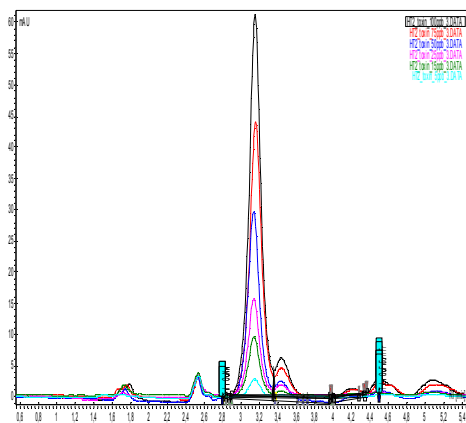


Рис. 4. Хроматограми зразків навантажених НТ-2 токсином, концентрацією 1–100 нг/г

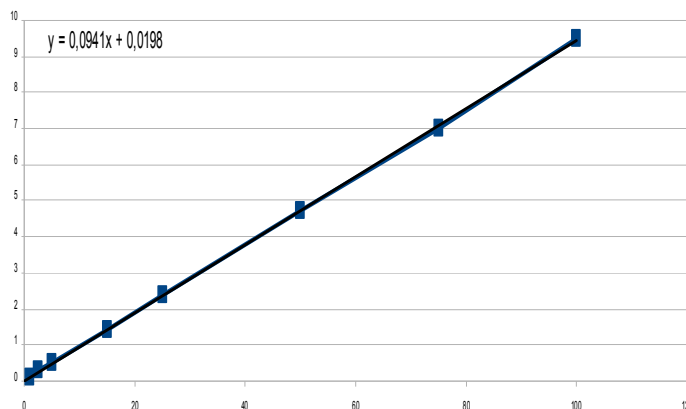


Рис. 5. Калібрувальна крива методу визначення НТ-2 токсину в діапазоні концентрацій 1–100 нг/г

З отриманих даних (табл. 1) видно, що максимальна кількість Т-2 токсину в крові спостерігається вже через годину після введення і становить 47,5 % від доданого. Через 6 год, концентрація в крові зменшилась і становила 4,14 % від доданого токсину. За 24 години від початку експерименту в крові його залишилось менше 1 мкг/л. Таку динаміку можна пояснити пришвидшеним всмоктуванням

Т-2 токсину в кров у результаті того, що токсин вводили у формі розчину в 1 % етанолі. Враховуючи всі решта дані, можна припустити, що токсин з кров'ю вже за 6 год всмоктується в тканини і органи.

Концентрація НТ-2 токсину у крові курей впродовж експериментального періоду змінюється інакше. Його рівень стабільніший впродовж всього дослідного періоду і знижується від 6,3 до 1 %.

Таблиця 1

**Залишкові кількості Т-2 та НТ-2 токсину в крові курей при одноразовому пероральному введенні у дозі 0,56 мг/кг маси тіла**

Токсин	1 год	6 год	24 год	48 год
Т-2 токсин, мкг/л	266,2±15,8	23,17±1,18	0,98±0,06	0,51±0,06
НТ-2 токсин, мкг/л	35,26±1,51	21,8±2,22	6,69±0,51	5,85±0,44

Що стосується залишкового вмісту трихотеценових мікотоксинів у тканинах легень (табл. 2), то їх концентрації значно нижчі ніж в крові. Максимальна концентрація Т-2 токсину через 1 годину після введення становила 32,64 мкг/кг (що відповідає 5,83 %). Через 6 годин дослідного періоду концентрація знизилась

майже вдвічі. Через 1 і 2 доби після введення токсину концентрація Т-2 токсину в тканині легень залишилось менше 0,1 %. Такі зміни вказують на те, що в тканинах легень не відбувається всмоктування токсинів, а зниження концентрації токсинів значною мірою залежить від їхнього вмісту в крові.

Таблиця 2

**Вміст Т-2 та НТ-2 токсинів в легенях курей при одноразовому пероральному введенні у дозі 0,56 мг/кг маси тіла**

Токсин	1 год	6 год	24 год	48 год
Т-2 токсин, мкг/кг	32,64±2,44	15,47±0,85	0,54±0,06	0,41±0,04
НТ-2 токсин, мкг/кг	10,65±1,25	31,15±1,43	2,84±0,21	1,18±0,18

Вміст НТ-2 токсину мав іншу динаміку. Так, через годину від початку експерименту НТ-2 токсин містився у концентрації 10,65 мкг/кг, що становить 1,9 % від доданого Т-2 токсину. Через 6 год, його концентрація зростала більше як у три рази, що вказує на інтенсивне перетворення Т-2 в НТ-2 токсин. На 24 і 48 годину досліду, концентрація НТ-2 все ще залишалась вищою від концентрації Т-2 токсину, що вказує на метаболізм останнього в досліджуваних тканинах.

Залишкові кількості Т-2 і НТ-2 токсинів у печінці (табл. 3.) впродовж дослідного періоду розподілилися по-іншому ніж в крові і легенях. Таким чином максимум концентрації Т-2 токсину становив 57,28 мкг/кг через годину після введення токсиканта і цей показник поступово знижувався а за 48 годин у печінці виявляли тільки сліди незміненого Т-2 токсину.

Таблиця 3

**Вміст Т-2 та НТ-2 токсинів в печінці курей при одноразовому пероральному введенні у дозі 0,56 мг/кг маси тіла**

Токсин	1 год	6 год	24 год	48 год
Т-2 токсин, мкг/кг	57,28±2,0	21,97±2,29	5,56±0,45	0,17±0,04
НТ-2 токсин, мкг/кг	17,11±1,67	173,4±13,4	26,52±1,71	6,62±0,57

У той же час, концентрація НТ-2 токсину досягала максимального значення через 6 годин після початку експерименту і становила 30 % від доданого токсину. З одержаних результатів можна зробити висновок, що печінка — основний орган метаболізму трихотеценових токсинів. Через 24 год концентрація НТ-2 токсину знизилась в 6 разів, а за 48 год становила лише 6,62 мкг/кг клітин печінки. Таким чином, Т-2 токсин у печінці, починаючи з

6 год, метаболізується в НТ-2, про що свідчить концентрація останнього.

Зміна концентрації Т-2 токсину в нирках курей (табл. 4) показала, що Т-2 токсин у нирках через 1 год після введення є в достатньо малих кількостях (до 5 % від доданого), що вказує на швидкий метаболізм Т-2 токсину в організмі курей. Максимальна концентрація токсину 21,88 і 24,21 мкг/кг спостерігалась на 6 і 24 год після введення.

Таблиця 4

**Залишкові кількості Т-2 та НТ-2 токсинів у клітинах нирок курей після одноразового введення Т-2 токсину у дозі 0,56 мг/кг маси тіла**

Токсин	1 год	6 год	24 год	48 год
Т-2 токсин, мкг/кг	2,88±0,22	21,88±1,63	24,21±1,6	3,59±0,54
НТ-2 токсин, мкг/кг	5,04±0,69	37,33±2,89	86,89±6,74	27,02±4,19

Водночас НТ-2 токсин у нирках виявлявся в концентраціях, що перевищували вміст Т-2 токсину в 2–4 рази. Максимум НТ-2 припадало на 24 год, що вказує на швидке виведення токсину з організму курей. Зважаючи на концентрацію токсину через 48 год (27,07 мкг/кг), можна припустити, що через 3 доби Т-2 та НТ-2 токсин повністю виводиться з організму.

## Висновки

Отже, визначення Т-2 та НТ-2 токсинів у крові та органах курей проводили методом вискоєфективної рідинної хроматографії зі застосуванням імуноафінних колонок. Результати досліджень вказують на швидкий метаболізм Т-2 токсину в організмі курей. Проведені експерименти показали, що через годину після введення токсину,



найбільша концентрація Т-2 токсину виявлялась у крові. У печінці Т-2 токсин перетворюється до НТ-2, тому концентрація останнього на 6 годину після введення досягає максимальних значень, в той час як у крові, легенях та нирках не перевищувала 7 % від доданого Т-2 токсину. Через 24 год вміст Т-2 та НТ-2 токсинів різко знижується, проте в нирках концентрація цих сполук залишається відносно високою. Через 48 год у досліджуваних зразках залишилися лише незначна кількість токсинів. У цей період максимальну концентрацію НТ-2 токсину спостерігали в нирках до 5 % від доданого Т-2 токсину.

З отриманих даних видно, що за 48 год Т-2 токсин і його основний метаболіт — НТ-2 токсин на 95 % виводиться з організму.

**Перспективи подальших досліджень.** Отримані дані розширюють уявлення про метаболізм Т-2 токсину в організмі курей. Вони є початковим кроком досліджень механізмів природного виведення і знешкодження трихотеценових мікотоксинів. Наступним етапом роботи було б доцільно визначити залишкові кількості Т-2 токсину та його метаболітів в органах імунної системи (тимус, кістковий мозок, селезінка).

1. Artuh V. P., Hoyster O. S., Hmelnitskiy G. A., Starodub N. F. Triothecenes mycotoxins: nature, biotransformation, biological effects. *Modern problems of toxicology*. 2002, № 4, P. 19–26 (in Ukrainian).

2. Leeson S., Diaz G., Summers J. D. Poultry Metabolic Disorders and Mycotoxins. University Books, Guelph, Canada. 1995, P. 190–326.

3. Dohnal V., Jezkova A., Jun D., Kuca K. Metabolic pathways of T-2 toxin. *Curr. Drug Metab.* 2008, Vol. 9, № 1, P. 77–82.

4. Doi K., Ishigami N., Sehata S. T-2 toxin-induced toxicity in pregnant mice and rats. *J. Mol. Sci.*, 2008, Vol. 9, № 11, P. 2146–2158.

5. Wu Q., Dohnal V., Kuca K., Yuan Z. Metabolic pathways of trichothecenes. *Drug. Metab.*, 2010, Vol. 42, № 2, P. 250–267.

6. Konigs M., Mulac D., Schwerdt G., Gekle M., Humpf H. U. Metabolism and cytotoxic effects of T-2 toxin and its metabolites on human cell in primary culture. *Toxicology*, 2009, № 258, P. 106–115.

7. Pace J. G., Watts M. R., Canterbury W. J. T-2 and HT-2 mycotoxin inhibits mitochondrial protein synthesis. *Toxicology*, 1988, Vol. 26, № 1, P. 77–85.

8. Wu Q., Huang L., Liu Z., Yao M., Wang Y., Dai M. Yuan Z. A comparison of hepatic *in vitro* metabolism of T-2 toxin in rats, pigs, chickens and carp. *Xenobiotica*, 2011, Vol. 41, № 10, P. 863–873.

9. Cybulsky D. V. Studied transepithelial electric resistance of cell culture of pig's intestines with presence of triothecenes mycotoxins. *Aviculture: between departmental science collection*. Kharkiv. 2009, Vol. 63, P. 37–42 (in Ukrainian).

10. Wu Q., Engemann A., Cramer B., Welsch T., Yuan Z., Humpf H. Intestinal metabolism of T-2 toxin in the pig cecum model. *Mycotoxin Res.*, 2012, Vol. 28, № 3, P. 191–198.

11. Luchese C., Chaudhari M., Jayaraj R., Santhosh S. R., Rao P. V. Oxidative damage and gene expression profile of antioxidant enzymes after T-2 toxin exposure in mice. *J. Biochem. Mol. Toxicol.*, 2009, Vol. 23, № 3, P. 212–221.

12. Osselaere A., Li S., De Bock L. Toxic effects of dietary exposure to T-2 toxin on intestinal and hepatic biotransformation enzymes and drug transporter systems in broiler chickens. *Food and chemical toxicology*, 2013, № 55, pp. 150–155.

13. Hussein S. H., Brasel J. M. Toxicity, metabolism, and impact of mycotoxins on humans and animals. *Toxicology*, 2001, Vol. 167, P. 101–134.

14. Meissonnier G. M., Laffitte J., Raymond I., Benoit E., Cossalter A. M., Pinton P., Bertin G., Oswald I. P., Galtier P. Subclinical doses of T-2 toxin impair acquired immune response and liver cytochrome P450 in pigs. *Toxicology*, 2008, Vol. 247, № 1, P. 46–54.

15. Protecting animals from cruelty. Law of Ukraine. Supreme Council of Ukraine, 2006, 27, P. 230 (in Ukrainian).