

ПРОЦЕСИ ПЕРОКСИДНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ ТА АКТИВНІСТЬ ФЕРМЕНТІВ-АНТИОКСИДАНТІВ В ЕРИТРОЦИТАХ ЩУРІВ ЗА УМОВ ВВЕДЕННЯ АФЛАТОКСИНУ В1

Р. О. Федяков¹, Н. К. Коваль¹, О. М. Стефанишин¹, Г. Л. Антоняк^{1, 2}

¹Інститут біології тварин НААН України

²Львівський національний університет імені Івана Франка

У статті представлено результати досліджень впливу афлатоксину В1 (за умов одноразового введення) на показники пероксидного окиснення ліпідів та активність ферментів антиоксидантної системи в еритроцитах білих щурів. Установлено, що за дії афлатоксину В1 зростає вміст ТБК-активних продуктів та неоднозначно змінюється активність ферментів антиоксидантного захисту в досліджуваних клітинах.

Ключові слова: АФЛАТОКСИН В1, ЕРИТРОЦИТИ, ПЕРОКСИДНЕ ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ, АНТИОКСИДАНТНА СИСТЕМА

Вплив багатьох зовнішніх чинників, у тому числі токсинів на метаболізм клітин опосередковується стимуляцією утворення активних форм Оксигену (АФО) (супероксид-аніон радикал, ОН-радикал, Н₂О₂ та ін.) [1]. Активні форми Оксигену дуже агресивні: вони пошкоджують структуру білків та молекул ДНК, активують процес пероксидного окиснення ліпідів, що призводить до порушення мембранних структур і життєвих функцій клітин [2].

За нормального фізіологічного стану клітин АФО, які утворюються під час метаболізму, знешкоджуються за участю антиоксидантної системи, однак за деяких умов (дія іонізуючого випромінювання, токсичних сполук, канцерогенних агентів тощо) зростає інтенсивність їхнього утворення, і в організмі виникає оксидативний стрес [3].

Тому дослідження рівня утворення АФО та зміни стану антиоксидантної системи клітин під впливом різноманітних шкідливих сполук є важливою проблемою. Особливо це стосується еритроцитів, які беруть участь у транспорті кисню до тканин, забезпечуючи процеси життєдіяльності організму. Надлишкове утворення АФО в еритроцитах може зумовлювати пошкодження структури білків і ліпідів мембран, порушення іонного транспорту та погіршення здатності гемоглобіну переносити кисень.

До надзвичайно токсичних сполук належать афлатоксини — продукти життєдіяльності деяких видів грибів роду *Aspergillus* [4]. Вплив афлатоксинів на утворення АФО та процеси пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) в еритроцитах не вивчений. Проте такі дослідження є актуальними, оскільки в багатьох випадках спостерігається забруднення кормів і харчових продуктів мікотоксинами.

Матеріали і методи

Експерименти проводили на 20 дорослих щурах масою 170–200 г, яких утримували на стандартному раціоні в умовах віварію. Тварин поділили на 4 групи: контрольну (К) і три дослідні (Д1, Д2, Д3). Тваринам дослідних груп одноразово вводили афлатоксин В1 у дозі 0,5 мг/кг маси. Забій здійснювали під легким ефірним наркозом. Щурів груп Д1, Д2, Д3 використовували в експериментах, відповідно, через 7, 14, 21 діб після введення токсину. Кров збирали у пробірки з гепарином, відділяли плазму, а еритроцити тричі промивали 0,9 % NaCl, кожний раз центрифугуючи суспензію клітин при 3000 г впродовж 10 хв. У гемолізатах, отриманих трикратним заморожуванням-відтаюванням водних суспензій еритроцитів, визначали концентрацію ТБК-активних продуктів [5] і активність ферментів антиоксидантної системи (каталаза, глутатіонредуктаза). Активність глутатіонредуктази визначали, враховуючи швидкість окиснення молекул NADPH [6]. Каталазну активність досліджували за швидкістю розпаду гідроген пероксиду [7]. Вміст білка в гемолізатах

визначали за методом Лоурі і співавторів (1951). Отримані результати опрацьовували статистично з використанням методів варіаційної статистики.

Результати й обговорення

Як видно з представлених даних (рис. 1), на 7, 14 і 21 доби експерименту рівень ТБК-активних продуктів зростає, відповідно, на 19, 27 і 53 % ($p < 0,05-0,01$). Це свідчить про розвиток оксидативного стресу — загрозливого стану, який проявляється в клітинах тварин після введення афлатоксину В1. Як відомо, оксидативний стрес відбувається у випадках, коли рівень утворення АФО перевищує здатність клітин до детоксикації цих реакційно активних радикалів та сполук [8]. Тому збільшення показника інтенсивності пероксидного окиснення ліпідів, встановлене в наших дослідженнях, можна пояснити зниженням антиоксидантного потенціалу клітин.



Рис. 1. Активність ТБК-активних продуктів в еритроцитах білих щурів за дії афлатоксину В1

Афлатоксин В1 здатний продукувати АФО прямим і опосередкованим шляхом [9]. Крім того, він індукуює синтез ферментів, що беруть участь у метаболізмі АФО [10].

Активність ферментів антиоксидантної системи (каталаза, глутатіонредуктаза) є важливим показником антиоксидантного захисту клітин. Вважають, що каталаза нівелює диспропорцію супероксидних радикалів у біологічних системах [9]. Як видно з даних, наведених на рисунку 2, у гемолізатах еритроцитів щурів відбувається зростання активності цього ферменту на 7 добу (на 18 %, $p < 0,05$) і зниження на 14 і 21 добу експерименту (на 52 і 54 %, відповідно, $p < 0,01$).

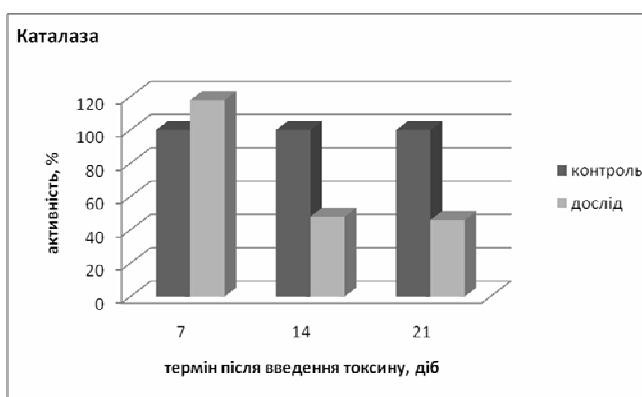


Рис. 2. Активність каталази в еритроцитах білих щурів за дії афлатоксину В1



Рис. 3. Активність глутатіонредуктази в еритроцитах білих щурів за дії афлатоксину В1

Отримані результати щодо пригнічення активності ферментів антиоксидантних ферментів в еритроцитах свідчать про можливі порушення кисень-транспортної функції в організмі тварин за умов надходження афлатоксину В1.

Що стосується іншого фермента-антиоксиданта, глутатіонредуктази, то отримані дані (рис. 3) свідчать, що його активність знижується впродовж експериментального періоду, досягаючи у тварин груп Д1, Д2, Д3 рівня на 15 %, 55 % і 44 %, відповідно, меншого у порівнянні з контрольною групою щурів (рис. 3).

Висновки

1. Під впливом одноразового введення афлатоксину В1 (0,5 мг/кг) в еритроцитах білих щурів відбувається інтенсифікація утворення продуктів, які взаємодіють з тіобарбітуровою кислотою, що свідчить про активацію в цих клітинах процесів ПОЛ.

2. Зміни активності ферментів антиоксидантної системи в еритроцитах під впливом одноразового введення афлатоксину В1 неоднакове: каталазна активність зростає на 7 і знижується на 14 доби після надходження токсину в організм тварин, а глутатіонредуктазна активність знижується впродовж усього 21-добового періоду досліджень.

Перспективи подальших досліджень. У зв'язку з одержаними результатами, подальші дослідження будуть проведені з метою вивчення можливості корекції порушень метаболізму в еритроцитах застосуванням антиоксидантів.

R. O. Fedyakov, N. K. Koval, O. M. Stefanyshyn, H. L. Antonyak

EFFECTS OF AFLATOXIN B1 ON LIPID PEROXIDATION AND ACTIVITIES OF SOME ANTIOXIDANT ENZYMES IN RED BLOOD CELLS OF WHITE RATS

Summary

The effects of aflatoxin B1 on intensity of lipid peroxidation and activities of some antioxidant enzymes in red blood cells of white rats are presented in the study. It was established that aflatoxin B1 stimulated TBA-active products formation and decreased the activities of antioxidant enzymes (catalase, glutathione reductase).

R. O. Fedyakov, N. K. Koval, O. M. Stefanyshyn, H. L. Antonyak

ПРОЦЕССЫ ПЕРОКСИДНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ-АНТИОКСИДАНТОВ В ЕРИТРОЦИТАХ КРИС

ПРИ ВВЕДЕНИИ ИМ АФЛАТОКСИНА В1

А н н о т а ц и я

В статье представлены результаты исследований влияния афлатоксину В1 (при условиях одноразового введения) на показатели пероксидного окисляющего липидов и активность ферментов антиоксидантной системы в эритроцитах белых крыс. Установлено, что за действия афлатоксину В1 растет содержимое ТБК-активных продуктов и неоднозначно изменяется активность ферментов антиоксидантного защиты в исследуемых клетках.

1. *Shen H. M.* Detection of elevated reactive oxygenspecies level in cultured rat hepatocytes treated with aflatoxin B1 / H. M. Shen, C. Y. Shi, Y. Shen and C. N. Ong // *Free Radical Biology & Medicine*. — 1996. — 21. — P. 139–146.

2. *Wang J. S.* DNA damage by mycotoxins / J. S. Wang, J. D. Groopman // *Mutat Res*. — 1999. — 424. — P. 167–181.

3. *Imlay J. A.* DNA damage and oxygen radical toxicity / J. A. Imlay and S. Linn // *Science*. — 1986. — 240 : 1302–1309.

4. *Richard J. L.* Mycotoxins in plant, animal, and human systems / J. L. Richard, G. A. Payne // *Task Force Report Council for Agricultural Science and Technology*. — 2003. — No. 139.

5. *Ohkawa H.* Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction / H. Ohkawa, N. Ohishi, K. Yagi // *Anal Biochem*. — 1979. — 95: 351–8.

6. Методы биохимических исследований / Под ред. М. И. Прохоровой. — Л. : Изд.-во Ленингр. ун.-та, 1982. — 272 с.

7. *Beers R. F.* A spectrophotometric method of measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase / R. F. Beers, J. W. Sizer // *J. Biol. Chem*. — 1952. — Vol. 195. — P. 133–140.

8. *Sies H.* Oxidative stress: introduction. In: *Oxidative Stress: Oxidants and Antioxidants*. — San Diego, California: Academic Press; 1991. — P. 15–22.

9. *Trush M. A.* An overview of the relationship between oxidative stress and chemical carcinogenesis / M. A. Trush, T. W. Kenslar // *Free Radic Biol Medicine*. — 1991. — 10: 201–9.

10. *Singh N.* Different tissue responses of mixed function oxidases and detoxifying enzymes to aflatoxin B1 administration in the rat / N. Singh, J. Clausen // *Br J Exp Path*. — 1980. — 61 : 611–6.

Рецензент: головний науковий співробітник лабораторії живлення ВРХ, доктор біологічних наук, професор Янович В. Г.