

**ВЛИЯНИЕ Т-2-ТОКСИНА НА ГИДРОЛИЗ ТРИБУТИРИНА И НЕКОТОРЫЕ
ПОКАЗАТЕЛИ ЛИПИДНОГО ОБМЕНА БЕЛЫХ БЕСПОРОДНЫХ КРЫС**

Скалич И.П.*, Жуков В.Е.,

ФГУП «Научно-исследовательский институт гигиены, токсикологии и профпатологии»

Федерального Медико-биологического Агентства России,

400048, Волгоград, ул. Землячки, 12.

Телефон/Факс: (8442) 78-62-57, e-mail:niigtp@rihtop.ru

Резюме. Цель исследования – изучить влияние Т-2-токсина на начальные стадии гидролиза трибутирина в тонком кишечнике белых беспородных крыс – самцов с одновременной оценкой содержания некоторых липидов в сыворотке крови. Микотоксин применяли внутривентрикулярно в диапазоне доз от 0,56 мг/кг до 2,8 мг/кг. Установлено, что однократное действие Т-2-токсина сопровождалось ингибированием начальных стадий гидролиза трибутирина, при этом в гомогенате слизистой тонкого кишечника накапливались триглицериды, а содержание общего холестерина и активность трибутириназы снижались. Одновременно в сыворотке крови подопытных животных регистрировали уменьшение концентрации триглицеридов, а также повышение количества β -липопротеинов, холестерина в β -липопротеинах и общего холестерина. Все выявленные изменения подчинялись зависимости «доза-эффект». Показано наличие корреляционной зависимости между снижением активности начальных стадий гидролиза трибутирина и концентрацией триглицеридов в сыворотке крови ($r = 0,97$; $t = 8,08$). Сформулирован вывод о том, что нарушения обмена липидов при однократном действии Т-2-токсина происходят уже на этапе их всасывания.

Ключевые слова: Т-2-токсин, трибутирин, тонкий кишечник, липиды крови.

**THE IMPACT OF T-2 TOXIN ON TRIBUTIRIN HYDROLYSIS AND SOME
LIPID EXCHANGE PARAMETERS IN WHITE OUTBRED RATS**

Skalich I.P.*, Zhukov V.E.,

Research Institute of Hygiene, Toxicology and Occupational Pathology of Federal Medical and
Biological Agency of Russia

Summary. The objective was to study the impact of T-2 toxin on the hydrolysis of tributyrin (in small intestine) in white outbred male rats and at the same time to assess certain blood parameters of lipid exchange in the test animals. Mycotoxin was administered intragastrically as a single dose in the range of 0,56 to 2,8 mg/kg. It was found out that the exposure to T-2 toxin resulted in inhibiting the initial stages of tributyrin hydrolysis accompanied by the accumulation of triglycerides in the small intestine mucosal homogenate and by reducing total cholesterol level

and tributyrinase activity. At the same time, a decrease in triglycerides concentration together with the rise of β -lipoprotein, β -lipoprotein cholesterol and total cholesterol content were registered in the blood serum of the test animals. All the revealed alterations complied with the “dose – effect” dependence. A correlation dependence was established between the lowered activity of the initial stages of tributyrin hydrolysis and the serum concentration of triglycerides ($r = 0.97$ when $t = 8.08$). It was concluded that the abnormalities of lipid exchange induced by a single T-2 exposure occurred even at the stage of absorption.

Key words: T-2 toxin, tributyrin, small intestine, blood lipids.

Введение. Т-2-токсин продуцируется микроскопическими грибами рода *Fusarium*, являющихся контаминантами зерновых. Из-за чрезвычайной токсичности и достаточной устойчивости к тепловой обработке вещество представляет серьезную опасность для здоровья человека [1]. Наличие Т-2 токсина в кормах, приготовляемых из зараженного зерна, также является проблемой и для животноводства [2].

На сегодняшний день патогенез Т-2 токсикозов изучен достаточно полно, определенное количество работ посвящено и исследованию нарушений функции желудочно-кишечного тракта [2, 3]. Однако в доступной литературе не обнаружено каких-либо данных о действии микотоксина на всасывание жиров в тонком кишечнике, равно как и о взаимосвязи интенсивности пристеночного пищеварения с содержанием липидов в сыворотке крови.

Цель исследований заключалась в изучении однократного действия Т-2-токсина на начальные стадии гидролиза трибутирина, а также на некоторые показатели обмена липидов.

Материалы и методы исследования. Исследуемый образец Т-2-токсина представлял собой порошок белого цвета, хорошо растворимый в органических растворителях (спирте, ацетоне и т.д.) и не растворимый в воде.

Опыты проводились на половозрелых белых беспородных крысах-самцах, с массой тела 180-200 г. Вещество в виде водно-спиртовых растворов (20:1) вводили per os из расчета 1мл раствора на 100 грамм массы тела.

В экспериментах по оценке состояния обмена липидов (включая процессы пристеночного пищеварения) Т-2-токсин использовался в следующих дозах: DL_{50} , $1/2DL_{50}$ и $1/5 DL_{50}$. Каждая из подопытных групп животных, в том числе и контрольная, насчитывала по 8 особей. В качестве контроля использовались интактные животные.

Оценку эффективности воздействия токсина осуществляли через 24 часа после введения. Всасывание липидов оценивали по изменению активности начальных стадий

гидролиза трибутирина. Исследование проводили в условиях *in vitro*, с помощью аккумулирующего препарата слизистой, выделенного из проксимального отдела тонкого кишечника. В качестве субстрата использовали 0,04% раствор трибутирина, приготовленный на растворе Рингера. Количество гидролизованного трибутирина определяли сталагмометрическим методом [4]. Кроме того, в гомогенате слизистой тонкого кишечника изучали активность трибутириназы, а также уровень триглицеридов и общего холестерина.

Одновременно определяли концентрацию триглицеридов, общего холестерина, общих липидов, β -липопротеинов, холестерина в β -липопротеинах в сыворотке крови [5].

Содержание подопытных животных и обращение с ними соответствовали требованиям ГОСТа Р 53434-2009 [6].

Полученные результаты обрабатывали методом вариационной статистики с использованием критерия Стьюдента, достоверными считали изменения при $P \leq 0,05$ [7].

Результаты и обсуждение. В предварительной серии опытов были определены параметры токсичности исследуемого образца Т-2-токсина ($DL_{50} - 2,80 \pm 0,14$ мг/кг, $DL_{16} - 1,60$ мг/кг, $DL_{84} - 6,30$ мг/кг). Статистическая обработка полученных данных осуществлялась по Миллеру и Тейнтеру [8].

Клиника интоксикации характеризовалась угнетением двигательной активности, гиперемией видимых слизистых (с точечными геморрагиями), взъерошенностью шерсти и диареей, реакция на внешние раздражители была снижена. Гибель большинства животных, получавших вещество в дозе 1 DL_{50} , происходила в течение суток после воздействия.

В целом, полученные данные позволили констатировать тот факт, что токсические свойства изучаемого образца Т-2-токсина соответствуют данным литературы [9, 10].

Результаты исследований действия Т-2-токсина на всасывание трибутирина и состояние жирового обмена на уровне целостного организма представлены в таблице.

Анализ цифрового материала, приведенного в таблице, свидетельствовал о том, что токсин в дозе DL_{50} вызывал снижение количества гидролизованного трибутирина на 20 %, очевидно, из-за частичной инактивации трибутириназы (на 10%).

Кроме того, в гомогенате слизистой имело место уменьшение содержания холестерина (на 25,0 %) и возрастание уровня триглицеридов (на 41,0 %).

При введении вещества в дозе $1/2 DL_{50}$ направленность изменений перечисленных показателей и их количественные характеристики, в целом, были близки к вышеизложенным. Исключение составили триглицериды, повышение концентрации

которых составило 24,0 % (или в 1,7 раза меньше, чем после применения токсина в дозе 1 DL₅₀).

Таблица – Влияние однократного действия Т-2-токсина на начальные стадии гидролиза трибутирина и на некоторые показатели жирового обмена в гомогенате слизистой тонкого кишечника и в сыворотке крови белых крыс

Показатели, единицы измерения	Группы животных, уровни воздействия			
	контроль	1 DL ₅₀	1/2 DL ₅₀	1/5 DL ₅₀
Показатели, отражающие состояние жирового обмена в тонком кишечнике				
Количество гидролизованного трибутирина, мкг	2587,60±52,0	2060,00±124,0**	2194,80±21,98**	2400,00±38,23*
Трибутириназа, мкг/мг/мин	0,237±0,002	0,215±0,006**	0,216±0,005**	0,238±0,002
Триглицериды, ммоль/л	1,82±0,11	2,86±0,08**	2,26±0,10**	1,81±0,14
Общий холестерин, ммоль/л	0,89±0,08	0,66±0,04**	0,67±0,03**	0,83±0,088
Содержание липидов в сыворотке крови				
β-липопротеины, г/л	35,28±5,09	144,58± 6,98**	108,46±11,30**	80,31±10,56**
Общие липиды, ммоль/л	2,61±0,10	3,47± 0,03**	1,15± 0,12**	1,27± 0,11**
Триглицериды, ммоль/л	2,42±0,12	0,86± 0,11**	1,39± 0,13**	1,78± 0,11**
Общий холестерин, ммоль/л	2,61± 0,14	3,44± 0,15**	3,28± 0,22*	3,10± 0,05*
Холестерин в β-липопротеинах, ммоль/л	0,30±0, 04	1,60±0,007**	1,51±0,09**	0,90±0,04**
Примечание: *- различия статистически достоверны при $P \leq 0,05$ и находятся в пределах ($M \pm 2\sigma$) показателей контрольной группы животных; ** - различия статистически достоверны при $P \leq 0,05$ и выходят за пределы ($M \pm 2\sigma$) показателей контрольной группы животных				

Действие вещества в дозе 1/5 DL₅₀ ограничивалось статистически достоверным и находящимся в границах ($M \pm 2\sigma$) снижением ассимиляции трибутирина на 7,0 %.

Изменения жирового обмена при применении токсина в дозе 1 DL₅₀ выражались в уменьшении в сыворотке крови количества триглицеридов на 64,0%, а также в повышении содержания β-липопротеинов на 304,0%, общих липидов - на 33,0%, общего холестерина - на 32,0%, холестерина в β- липопротеинах - на 433,0%.

После введения Т-2-токсина в дозе 1/2 DL₅₀ отмечали снижение содержания триглицеридов на 55,0% и общих липидов на 43,0%, в то время как уровень β-липопротеинов, общего холестерина, холестерина в β- липопротеинах возрос на 203,0%, 26,0% и 403,0%, соответственно.

Реакция подопытных животных на воздействие токсина в дозе 1/5 DL₅₀ сопровождалась понижением уровня триглицеридов на 26,0% и общих липидов на 51,0%, а также повышением содержания β- липопротеинов на 28,0%, общего холестерина - на 25,0%, холестерина в β- липопротеидах - на 200,0%.

Выявленные изменения были не только статистически достоверны, но и выходили за пределы физиологической нормы животных контрольной группы ($M \pm 2\sigma$), за исключением изменения активности гидролиза трибутирина (при воздействии Т-2-токсина в дозе $1/5 DL_{50}$).

При сопоставлении полученных данных была выявлена зависимость «доза – эффект».

Проведенный регрессионный анализ позволил получить коэффициенты корреляции между снижением активности начальных стадий гидролиза трибутирина и повышением количества триглицеридов в гомогенате слизистой ($r = -0,82$ при $t = 2,83$), а также между ингибированием гидролиза трибутирина и уменьшением концентрации триглицеридов в сыворотке крови ($r = 0,97$ при $t = 8,08$). Наряду с этим корреляционной зависимости между ингибированием гидролиза трибутирина и изменениями других показателей липидного обмена в сыворотке крови не выявлено.

Таким образом, выявленные сдвиги свидетельствовали о нарушении обмена жиров уже на этапе их всасывания, что, вероятно, обусловлено как ингибированием активности соответствующего энзима, так и подавлением желчеобразования в печени под действием Т-2-токсина [11, 12].

Кроме того, гиперхолестеринемия при Т-2-токсикозе может быть сопряжена с нарушением транспорта холестерина через клеточные мембраны, который обеспечивается взаимодействием β -липопротеинов со специфическими рецепторами мембран клеток различных тканей и органов [13, 14, 15, 16, 17].

Выводы

1. Однократное воздействие Т-2-токсина вызывало снижение активности гидролиза трибутирина и его всасывания в тонком кишечнике.
2. Действие Т-2-токсина сопровождалось дозозависимыми изменениями уровня триглицеридов, а также β -липопротеинов, холестерина в β -липопротеинах и общего холестерина в сыворотке крови.
3. Установлена прямая корреляционная зависимость ($r=0,97$) между ингибированием гидролиза трибутирина и уменьшением концентрации триглицеридов в сыворотке крови.

Литература

1. СанПиН 2.3.2.1078-01 «Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов» (зарегистрировано в Минюсте РФ 22 марта 2002 г., регистрационный №3326).
2. Валиуллин, Л. Р. Токсикологическая оценка сочетанного воздействия зеараленона и Т-2 токсина на животных и изыскание профилактических средств: автореф. дисс... канд. биологических наук. - Казань, 2008.- 137 с.
3. Sokolovic, M. T-2-toxin incidence and toxicity in poultry / M. Sokolovic [et al.] // *Arch Hig Rada Toksikol.*- 2008.- V.59.-P.43-52.
4. Уголев, А.М. Исследование пищеварительного тракта человека / А.М. Уголев, Н.Н. Тимофеева, Н. Иезуитова. - Л.: Наука, 1969.- С.182-183.
5. Клинико-биохимическая лабораторная диагностика: Справочник в 2-х томах /Под ред. В.С. Камышникова. - Минск: Интерпрессервис, 2003.
6. ГОСТ Р 53434-2009 Принципы надлежащей лабораторной практики. Введен 2009-12-2 - № 554-ст.
7. Гланц, С. Медико-биологическая статистика. Пер. с англ. / С.Гланц.- М.: Практика, 1999.-459 с.
8. Бельский, М.Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта / М.Л.Бельский.- Л.: Мед. литература.- 1963.-152с.
9. Лодвигов, Э.Ю. Комбинированное воздействие на животных ионизирующего излучения, карбофоса, Т-2-токсина и изыскание лечебно-профилактических средств: автореф. дис... канд. биол. наук. – Казань, 2011.- 21с.
10. Kalantari, H. Review on T-2-toxin / H. Kalantari, M. Moosavi // *Jundishapur Journal of Natural Pharmfcentical Products.*- 2010.- № 5, is.1.- p.26-38.
11. Williams, Ph. P. Effects of T-2toxin on gastrointestinal tissues: a review of in vivo and in vitro models / Ph. P. Williams // *Arch. Environ. Contam. and Toxicol.* - 1989.- Vol. 18, №3.- P.374-387.
12. Judith, M. Determination of the Acute 50% Lethal Dose T-2 Toxin in Adult Bobwhite Quail: Additional Studies on the Effect of T-2 Mycotoxin on Blood Chemistry and the Morphology of Internal Organs / M. Judith, A. Grizzle, B.David // *Avian Diseases.*- 2003.- Vol. 48, № 2, P. 392–399.
13. Курашвили, Л.В. Липидный обмен при неотложных состояниях / Л.В. Курашвили, В.Г. Васильков. - Пенза, 2003.- 234 с.

14. Возиян, П.А. Структурная организация липопротеинов плазмы крови и их взаимодействие с клеткой / П.А. Возиян, Ю.Д.Холодова // Укр. биохим. журнж-1989.-Т.61, №3.-С.22-37.
15. Титов, В.Н. Фундаментальная медицина. Различие переноса жирных кислот в липопротеинах очень низкой плотности и низкой плотности и биологические основы коррекции семейных гиперлипопротеинемий / В.Н. Титов // Клиническая лабораторная диагностика. - 2005. - № 7. - С.3 -10.
16. Ahmadi, K. Effect of T-2 Toxin on Cell Death and Nitric Oxide Release by Mice Peritoneal / K. Ahmadi, M. Riazipoor // Macrophages Journal of Military medicine.- 2007.-V. 9, №1.- P.54-61
17. Баранец, А.А. Патогенное действие микотоксинов на организм животных и его оценка с помощью методов *in vitro* / А.А.Баранец, Г.А. Пригорелов //Актуальные проблемы животноводства, ветеринарной медицины, переработки сельскохозяйственной продукции и товароведения: Материалы международной научно-практической конференции. – Воронеж: ФГОУ ВПО ВГАУ, 2010. –с. 158-161