

## **НЕУЧТЕННАЯ АНАФИЛАКТИЧЕСКАЯ РЕАКЦИЯ НА ДЕЙСТВИЕ МИКОТОКСИНОВ**

Семенов Э.И., Мишина Н.Н., Папуниди К.Х

*ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической  
безопасности»*

*420075, г. Казань, Научный городок-2, тел. (843)239-53-20, e-mail: vnivi@mail.ru*

**Резюме.** В эксперименте изучено влияние сочетанного микотоксикоза на течение реакции системной анафилаксии у крыс, сенсibilизированных модельным аллергеном – куриным овальбумином. На протяжении 30 суток крысы получали корм контаминированный микотоксинами Т-2 токсином и дезоксиниваленолом отдельно и сочетано в дозах на уровнях максимально допустимых. Степень сенсibilизации оценивали по накоплению антител класса G в реакции непрямого твердофазного иммуноферментного анализа. Барьерную функцию кишечника на высокомолекулярные соединения исследовали по увеличению проницаемости стенки тонкого кишечника для полиэтиленгликоля 4000.

В результате эксперимента установили, что под действием микотоксинов в низких дозах происходит повышение аллергической реакции на другие аллергены (овальбумин, ксенобиотики), а также нарушение барьерной функции кишечника.

Полученные результаты объясняют причины клинического проявления аллергоза (одышка, кашель, бронхопневмонии, эозинофилия, эозинофильная инфильтрация слизистой кишечника) при латентном течении микотоксикоза.

**Ключевые слова:** микотоксины, Т-2 токсин, дезоксиниваленол, аллергия, анафилаксия.

## UNACCOUNTED ANAPHYLACTIC REACTION TO EFFECT OF MYCOTOXINS

Semenov E.I., Mishina N. N., Papunidi K. Kh.,

Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety

420075, Kazan, Nauchny Gorodok-2

**Summary.** In an experiment influence of the combined mikotoksikoz on the course of reaction of a system anaphylaxis at rats, sensibilized by model allergen – chicken ovalbumin is studied. For 30 days of a rat received a forage kontaminirovanny T-2 mycotoxins toxin and desoxynivalenol separately and combined in doses at the levels maximum allowed. Degree of a sensitization was estimated on accumulation of antibodies of class G in reaction of an indirect solid-phase enzyme immunoassay. Barrier function of intestines on high-molecular connections was investigated on increase in permeability of a wall of a small intestine for polyethyleneglycol 4000.

As a result of an experiment established that under the influence of mycotoxins in low doses there is an increase in allergic reaction to other allergens (ovalbumin, xenobiotics) and also disturbance of barrier function of intestines. The received results partially explain the reasons of clinical implication of an allergosis (short wind, cough, bronchial pneumonia, an eosinophilia, eosinophilic infiltration mucous intestines) at a latent current of a mikotoksikoz.

**Keywords:** mycotoxins, T-2 toxin, desoxynivalenol, allergy, anaphylaxis.

## ВВЕДЕНИЕ

Микотоксины – вторичные метаболиты, которые в течение последних 40 лет признаны одними из наиболее токсичных для здоровья человека и животных агентов, введены в перечень веществ, регламентированных в пищевых продуктах, кормах и сырье. Учитывая, что микотоксины, помимо общетоксического действия, обладают мутагенными, тератогенными и канцерогенными свойствами, а также существенно влияют на иммунный статус теплокровных, их следует рассматривать как одну из важнейших медицинских проблем [1].

Наиболее широко распространенными в мире являются микотоксины трихотеценовой группы, продуцируемые микроскопическими грибами рода *Fusarium*, из которых своими токсическими свойствами и высокой частотой обнаружения выделяется Т-2 токсин и дезоксиниваленол (ДОН) [2 - 5]. При этом нельзя исключать сочетанное воздействие различных токсинов [6 - 10]. В патогенезе заболевания микотоксикозом аллергические проявления также бывают клинически выражены, но большей степени проходит латентно, или на фоне других проявлений микотоксикоза остаются не

MEDLINE.RU, ТОМ 20 ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ТОКСИКОЛОГИЯ, 18 ЯНВАРЯ 2019 замеченными [2]. При этом, на фоне хронического воздействия микотоксинов происходит изменения в иммунной системе организма [11 - 15].

В этой связи представляется целесообразным изучить влияние микотоксикоза, вызванного Т-2 токсином и дезоксиниваленолом (ДОН) отдельно или сочетанно на протекание реакции системной анафилаксии у крыс, сенсibilизированных модельным аллергеном – куриным овальбумином (ОВА).

## **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

В исследованиях использовали крыс-самцов линии Вистар с исходной массой 180 - 200 г. В течение 7 дней перед началом эксперимента животных содержали на стандартном рационе вивария, не содержащем яичного белка. Затем сформировали 8 групп крыс по 10 животных в каждой. Животные 1-й группы (биологический контроль, интактные животные) получали стандартный рацион вивария; животные 2-й группы (контрольная группа) получали стандартный рацион вивария и дополнительно были сенсibilизированы модельным аллергеном (ОВА) животные 3-й группы получали стандартный рацион контаминированный Т-2 токсином в дозе 50 мкг/кг; животные 4-й группы - корм контаминированный ДОН в дозе 0,5 мг/кг; животные 5-й группы получали стандартный рацион контаминированный Т-2 токсином в дозе 50 мкг/кг и дополнительно были сенсibilизированы ОВА; животные 6-й группы - корм контаминированный ДОН в дозе 0,5 мг/кг и дополнительно были сенсibilизированы ОВА; животные 7-й группы получали стандартный рацион сочетанно контаминированный Т-2 токсином в дозе 50 мкг/кг и ДОН в дозе 0,5 мг/кг; животные 8-й группы - корм сочетанно контаминированный Т-2 токсином в дозе 50 мкг/кг и ДОН в дозе 0,5 мг/кг и дополнительно были сенсibilизированы ОВА.

Для исследований использовали Т-2 токсин и ДОН предварительно полученные нами из зернового субстрата инокулированного токсигенными штаммами-продуцентами микроскопических грибов рода *Fusarium*. Экстракты фунгальных масс очищали колоночной хроматографией, токсины кристаллизовали, чистота полученных токсинов составила не менее 97,8%.

Реакцию системной анафилаксии моделировали согласно стандартной методике [16]: на 1-ый, 3-й, 5-й день опыта животных 2-й, 4-й, 6-й и 8-й групп внутрибрюшинно сенсibilизировали овальбумином (по 100 мкг) в объеме 0,2 мл на стерильном изотоническом растворе натрия хлорида, на 21-й день эксперимента вводили бустерную дозу антигена, уменьшенную в 10 раз в сравнение с первоначальной. Кормление рационами продолжали до утра 30-го дня эксперимента. Далее у части крыс отбирали кровь для определения уровня специфических антител на аллерген и сразу другой

половине животных для индукции реакции системной анафилаксии вводил «разрешающую» дозу раствора овальбумина - 3 мг/кг массы тела в 0,5 мл изотонического апирогенного раствора натрия хлорида.

Тяжесть системной анафилаксии у животных наблюдали в течение 30 минут и выражали в баллах в соответствии со следующей шкалой: отсутствие видимых изменений - 0 баллов; вялость, озноб, одышка - 1 балл; атаксия, цианоз, парез задних конечностей - 2 балла; судороги, паралич - 3 балла; смертельный исход - 4 балла. Исследования на животных были разрешены Этическим комитетом ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности».

Одним из проявлений реакции системной анафилаксии является увеличение проницаемости кишечника к высокомолекулярным соединениям [17]. Для определения изменения проницаемости слизистой кишечника внутрижелудочно вводили всем крысам полиэтиленгликоль ПЭГ 4000 (ПЭГ – 4000) по 500 мг. Интенсивность гуморального иммунного ответа оценивали по концентрации циркулирующих специфических IgG-антител к овальбумину в непрямом твердофазном иммуноферментном тесте [18]. Концентрацию ПЭГ-4000 определяли в моче рефрактометрическим детектированием [19], а величину всасывания выражали в процентах от внутрижелудочно введенной дозы.

Экспериментально-полученный цифровой материал подвергали статистической обработке с использованием критерия t-Стьюдента.

## **РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ**

Распределение животных опытных и контрольных групп по тяжести активного анафилактического шока, различалось в целом незначительно. Наблюдали проявления анафилаксии в виде атаксии, цианоза, пареза задних конечностей. У некоторых животных наблюдали диарею. Летальные исходы не регистрировались.

Однако по уровню сенсибилизации, определяемому по ответу специфических антител на аллерген, наблюдалось увеличение сенсибилизации в опытных группах по сравнению с контрольными группами. При этом максимальное усиление наблюдали в группе животных, получавших сочетанно Т-2 токсин и ДОН. Результаты исследований представлены в таблице.

Следует отметить, что потребление сенсибилизированными крысами кормов, загрязненных микотоксинами не приводило к значительному изменению аллергического ответа к ОВА по сравнению с таковым у сенсибилизированных животных, не получавших загрязненных кормов (группа 2). Однако при потреблении кормов сочетанно загрязненных микотоксинами происходило более выраженное усиление сенсибилизации

по сравнению с алергизирующим ответом у животных, не получавших загрязненный корм.

Учитывая тот факт, что ДОН и Т-2 токсин обладают выраженной тропностью в отношении желудочно-кишечного тракта, интерес представляли данные по исследованию проницаемости кишечной стенки к высокомолекулярным соединениям при модельной системной анафилаксии.

Таблица - Влияние ДОН и Т-2 токсина на показатели реакции системной анафилаксии

| Группа животных (n=10)                             | Уровень антител,<br>мг/мл | Всасывание ПЭГ-4000,<br>% от введенной дозы |
|----------------------------------------------------|---------------------------|---------------------------------------------|
| Биологический контроль                             | 0,0                       | 0,23±0,03                                   |
| Сенсибилизация ОВА                                 | 4,6±0,6                   | 0,36±0,04*                                  |
| Т-2 токсикоз без сенсибилизации ОВА                | 0,0                       | 0,33±0,07                                   |
| ДОН-токсикоз без сенсибилизации ОВА                | 0,0                       | 0,28±0,05                                   |
| Т-2 токсикоз с сенсибилизацией ОВА                 | 6,4±0,4*                  | 0,43±0,06*                                  |
| ДОН-токсикоз с сенсибилизацией ОВА                 | 5,8±0,4                   | 0,38±0,08                                   |
| Сочетанный Т-2-ДОН токсикоз без сенсибилизации ОВА | 0,0                       | 0,74±0,08*                                  |
| Сочетанный Т-2-ДОН токсикоз с сенсибилизацией ОВА  | 16,2±0,6*                 | 0,47±0,06*                                  |

\* -  $P < 0,05$

Контаминация кормов микотоксинами отдельно в испытанных дозах незначительно влияла на проницаемость стенки для ПЭГ 4000 у несенсибилизированных животных, что подтверждает показателя в группах 3 и 5. Не приводила к дополнительному повышению проницаемости кишки для ПЭГ также у сенсибилизированных крыс в условиях протекания реакции системной анафилаксии (группы 4 и 6) по сравнению с показателем у сенсибилизированных животных, также подвергшихся разрешению этим белком, но не получавших контаминированный корм (группа 2).

При сочетанном загрязнении микотоксинами установлена тенденция к повышению проницаемости стенки тонкой кишки для ПЭГ у несенсибилизированных животных

MEDLINE.RU, ТОМ 20 ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ТОКСИКОЛОГИЯ, 18 ЯНВАРЯ 2019 (группа 7), что в определенной мере указывает на неблагоприятное влияние такой степени контаминации корма микотоксинами на проницаемость тонкой кишки. Однако одновременная контаминация не повышала степень ее проницаемости для ПЭГ 4000 для крыс сенсibilизированных ОВА в условиях сенсibilизации (8 группа). Этот результат может быть по видимому объяснен, тем, что при более высокой степени сенсibilизации (о чем свидетельствует уровень антител к модельному аллергену) происходит более выраженное нарушение функций желудочно-кишечного тракта. Это провоцирует диспепсические явления и быструю эвакуацию содержимого кишечника, что приводит к снижению всасывания высокомолекулярного соединения.

### **ВЫВОДЫ**

При контаминации продуктов питания или кормов микотоксинами Т-2 токсин и ДОН в максимально – допустимых концентрациях (для молодняка животных) происходит негативное влияние на барьерную функцию кишечника и уровень сенсibilизации. Наблюдается усиление аллергизирующего действия модельного аллергена – ОВА, которое при использовании данной модели систем анафилаксии является показателем степени их сенсibilизации, и увеличивается проницаемость стенки тонкой кишки для ПЭГ 4000 у несенсibilизированных модельным аллергеном животных.

Полученные результаты частично объясняют причины клинического проявления аллергоза (одышка, кашель, бронхопневмонии, эозинофилия, эозинофильная инфильтрация слизистой кишечника) при латентном течении микотоксикоза. Подтверждают непредсказуемость и многофакторность причин возникновения и тяжести течения микотоксикоза. Показывают, что микотоксины Т-2 и ДОН сочетанно в низких дозах способны вызвать повышенную аллергическую реакцию на другой аллерген (микотоксин или другой ксенобиотик).

### Литература

1. Hussein, S. Toxicity, metabolism, and impact of mycotoxins on humans and animals / S. Hussein, M. Brasel // *Toxicology*. – 2001. - Vol. 167. – P. 101–134.
2. Микотоксины (в пищевой цепочке): монография. / К.Х. Папуниди [и др.]; под ред. К.Х. Папуниди. - 2-е изд., перераб. и доп. Казань: ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ»; 2017.
3. Sato, N. Toxicological approaches to the toxic metabolites of Fusaria VIII: acute and subacute toxicities of T-2 toxin in cats / N. Sato, Y. Ueno, M. Enomoto // *Japan. J. Pharmacol.* – 1975. - Vol. 25. – P. 263-270.
4. Smith, T.K. Recent advances in the understanding of Fusarium trichothecene mycotoxicoses / T.K.Smith // *J. Anim. Sci.* – 1992. – V. 70. – P. 3989-3993
5. Bergers, W. Changes in circulatory white blood cells of mice and rats due to acute trichothecene intoxication / W. Bergers, E. Van Dura, J. Van Der Stap // *Tox. Lett.* – 1987. – V. 36. – P. 173-179.
6. Semenov, E.I. Joint effect of the mycotoxins T-2 toxin, deoxynivalenol and zearalenone on the weaner pigs against a background of the infection load / E.I. Semenov, L.E. Matrosova, M.Ya. Tremasov, E.Yu. Tarasova et al.// *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. – 2016. – V. 7. – № 1. - P. 1860–1868.
7. Papunidi, K.Kh. Cytomorphological changes hepatorenal system combined with fever poisoning xenobiotics / K.Kh. Papunidi, I.R. Kadikov, V.R. Saitov, M.Ya. Tremasov, A.M. Tremasova et al. // *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. – 2016. – V. 7. – № 4. - P. 2214-2220.
8. Semenov, E.I. Efficiency of application of a polysaccharide enterosorbent of «Fitosorb» for prevention of the combined mycotoxicosis / E.I. Semenov, A.M. Tremasova, V.R. Saitov, S.Yu. Smolentsev, F.A. Sunagatullin et al. // *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. – 2016. – V. 7. – № 4. - P. 2229–2237.
9. Papunidi, K.Kh. Homeostatic system of sheep against the background of combined effects of pollutants and the use of therapeutic and preventive agents / K.Kh. Papunidi, I.R. Kadikov, V.R. Saitov, E.I. Semenov, D.K. Gataullin, A.A. Korchemkin, A.M. Tremasova // *Bali Medical Journal*. – 2017. – V. 6. – № 2. - P. 83-87.
10. Smith, M.C. Natural co-occurrence of mycotoxins in foods and feeds and their in vitro combined toxicological effects / M.C. Smith, S. Madec, E. Coton, N. Hymery // *Toxins*. – 2016. – V. 8. – № 4. - P. 94.
11. Bondy, G.S. Immunomodulation by fungal toxins. / G.S. Bondy, J.J Pestka // *J. Toxicol. Environ. Health. Critical Reviews (Parth B)*. – 2000. - №3 - P. 109-143.

12. Corrier, D. Mycotoxicosis: mechanisms of immunosuppression / D. Corrier // *Vet. Immunopathol.* – 1991. – V. 30. – P. 73-87.
13. Rotter B., Thompson B., Lessard M. et al. Influence of low-level exposure to *Fusarium* mycotoxins on selected immunological and hematological parameters in young swine // *Fund. Appl. Toxicol.* – 1994. – V. 23. – P. 117-124.
14. Semenov, E.I. Screening drugs-potential immunomodulators for T-2 mycotoxicosis / E.I. Semenov, N.N. Mishina, I.R. Kadikov, S.Y. Smolentsev, A.I. Nikitin, K.Kh. Papunidi, M.Ya. Tremasov // *Bali Medical Journal.* – 2017. – V. 6. – № 2. - P. 110-114.
15. Vidal, D. Proprietes immunosuppressives des mycotoxines du groupe des trichothecenes / D. Vidal // *Bull. Inst. Pacteur.* – 1990. – №88. – P. 159-182.
16. Stokes, C.R. Animal models of food sensitivity / C.R. Stokes, B.G. Miller, F.J. Bourne // *Food allergy and intolerance.* London e.a. – 1987. - P. 286-300.
17. Гмошинский, И.В. Определение антител класса IgG у экспериментальных животных, сенсibilизированных перорально пищевым белком (к характеристике модели пищевой анафилаксии) / И.В.Гмошинский, В.В. Кржечковская, Н.Н. Пятницкий // *Вопросы питания.* – 1994. – №1-2. – С. 30-33.
18. Оценка безопасности наноматериалов: Методические рекомендации.—М: ФГУЗ "Федеральный центр гигиены и эпидемиологии" Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2007. – Режим доступа: <http://gost.donses.ru/Data1/52/52003/index.htm>, свободный.

**Статья опубликована в журнале Medline.ru, том 20, ст.4 2019 год.**