

**НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ АГРАРНИХ НАУК УКРАЇНИ  
ІНСТИТУТ БІОЛОГІЇ ТВАРИН**

УДК 577.3 + 615.9

**ГОЙВАНОВИЧ НАТАЛІЯ КОСТЯНТИНІВНА**

**БІОХІМІЧНІ МЕХАНІЗМИ ПОРУШЕНЬ МЕТАБОЛІЗМУ  
В ТКАНИНАХ ТВАРИН ПІД ВПЛИВОМ АФЛАТОКСИНУ В<sub>1</sub>  
ТА ЇХ КОРЕКЦІЯ ВВЕДЕННЯМ АНТИОКСИДАНТІВ**

03.00.04 – біохімія

**АВТОРЕФЕРАТ**

дисертації на здобуття наукового ступеня

кандидата біологічних наук

Львів – 2017

**Дисертацією є рукопис.**

Робота виконана в Інституті біології тварин НААН

**Науковий керівник** – доктор біологічних наук, професор  
**Антоняк Галина Леонідівна,**  
Львівський національний університет імені Івана Франка,  
професор кафедри екології

**Офіційні опоненти:** доктор біологічних наук, професор  
**Луцик Максим Дмитрович,**  
Інститут біології клітини НАН України,  
провідний науковий співробітник відділу  
регуляції проліферації клітин;

доктор біологічних наук, професор  
**Фіра Людмила Степанівна,**  
ДВНЗ «Тернопільський державний  
медичний університет  
імені І. Я. Горбачевського МОЗ України»,  
завідувач кафедри фармації ННІ ПО

Захист відбудеться «24» жовтня 2017 р. о 11<sup>00</sup> годині  
на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 35.368.01  
Інституту біології тварин НААН за адресою: 79034, м. Львів, вул. Стуса, 38.

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Інституту біології тварин НААН  
за адресою: 79034, м. Львів, вул. Стуса, 38.

Автореферат розісланий «22» вересня 2017 р.

**Вчений секретар**  
спеціалізованої вченої ради

**О.І. Віщур**

## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

**Актуальність теми.** Афлатоксини (одна з груп мікотоксинів) належать до найшкідливіших токсинів природного походження. Афлатоксини можуть потрапляти в організм тварин за умов згодовування кормів, уражених грибами роду *Aspergillus* (*A. flavus*, *A. parasiticus*, *A. nomius*), а також у продукти харчування людини у разі їх забруднення грибами-продуцентами (Котик А. зі співавт., 2004, 2005; Frisvad J. et al., 2006; Grintzalis K. et al., 2014). Найпоширенішим і найнебезпечнішим є афлатоксин В<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>), який разом із продуктами свого метаболізму може накопичуватися в клітинах органів і тканин (Bennett J. et al., 2003; Hamid A. et al., 2013). Афлатоксин В<sub>1</sub> характеризується широким спектром токсичного впливу на організм, виявляючи мутагенний, канцерогенний та імунотоксичний вплив, а також низкою віддалених ефектів (Chan H. et al., 2003; Ciegler A., 2007; Kensler T. et al., 2011). Незважаючи на значну кількість праць, присвячених вивченню впливу афлатоксинів на організм тварин, дотепер немає цілісного уявлення про механізми впливу AFB<sub>1</sub> на внутрішньоклітинний метаболізм і фактично не з'ясовані особливості пошкоджувальної дії токсину в тканинах серця, головного мозку та нирок. Однак такі дослідження актуальні, оскільки AFB<sub>1</sub> зазнає неповної детоксикації в клітинах печінки, де відбувається знешкодження афлатоксинів, і може надходити в русло крові, потрапляючи в інші клітини організму (Kensler T. et al., 2011; Roze L. et al., 2015).

Наявні дані про те, що афлатоксини здатні перетинати гемато-енцифалічний бар'єр (Maresca M., 2013; Qureshi H. et al., 2015; Taevernier L. et al., 2016) і, крім цього, можуть метаболізуватися не лише в гепатоцитах, а й у клітинах нирок та деяких інших органів з утворенням реакційно активних форм кисню (Adedara I. et al., 2010; Mary V. et al., 2012; Paul S. et al., 2015). Останні спричиняють розлади внутрішньоклітинного метаболізму, пошкоджують структуру мембран, індукують запальні процеси, імуносупресію та розвиток патологічних змін у тканинах (Bedard L. et al., 2007; Meissonnier G. et al., 2008). Тому важливо з'ясувати особливості формування антиоксидантного захисту й інших захисних систем клітини, спрямованих на детоксикацію AFB<sub>1</sub> і активацію метаболічних механізмів відновлення гомеостазу.

Водночас важливе значення мають профілактика та зменшення шкідливого впливу афлатоксинів на організм тварин застосуванням чинників, дія яких ґрунтується і на адсорбції токсинів у травному тракті, і на метаболічному захисті клітин. Наші дослідження були скеровані на з'ясування ефективності застосування з цією метою біомаси дріжджів *Phaffia rhodozyma*, які, з одного боку, виявляють дію у кишково-шлунковому тракті, адсорбуючи своєю клітинною стінкою афлатоксини та продукти їх часткової детоксикації, а з іншого – привертають увагу своєю здатністю продукувати каротиноїд астаксантин, який є потужним антиоксидантом (Johnson E. et al., 2003; Сімонова М., 2010; Dogi C. et al., 2011; Matur E. et al., 2011; Vovo F. et al., 2015). У низці досліджень (Boosalis M., 2008; Alpsoy L. et al., 2011; Dogi C. et al., 2011) встановлено, що введення в раціон тварин антиоксидантів зумовлює

зменшення загальної інтоксикації організму, тому актуальним є вивчення коригувального впливу на процеси клітинного метаболізму інших антиоксидантних препаратів (вітамін Е і комплекс «Е-Селен») за умов інтоксикації організму тварин введенням афлатоксину В<sub>1</sub>.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертаційна робота є фрагментом наукових досліджень, виконаних згідно з планом науково-дослідних робіт лабораторії обміну речовин імені С. З. Гжицького Інституту біології тварин НААН упродовж 2011–2015 рр. НТП 5 «Наукові основи управління мікробіологічними процесами в технологіях високопродуктивного сільськогосподарського виробництва», завдання «Вивчити біохімічні механізми дії природних токсинів кормів на мікроорганізми рубця і розробити методи зниження їх токсичності» (шифр 05/02-30Ф, № держреєстрації 0111U006137).

У межах наукової теми автор досліджувала: біохімічні механізми впливу АFB<sub>1</sub> на окремі ланки метаболізму у тканинах тварин (печінка, головний мозок, серце, нирки), механізми детоксикації АFB<sub>1</sub> у тканинах щурів під час експериментального введення тваринам АFB<sub>1</sub>, коригування метаболічних порушень ентеральним введенням біомаси дріжджів *Phaffia rhodozyma* та вітаміну Е і парентеральним введенням антиоксидантного комплексу «Е-Селен».

**Мета і завдання дослідження.** Мета дисертаційної роботи полягала у з'ясуванні впливу АFB<sub>1</sub> за різних доз та способів введення на окремі ланки метаболізму в тканинах білих щурів й обґрунтувати способи корекції порушень препаратами біомаси дріжджів *Phaffia rhodozyma* й антиоксидантів з огляду на порушення прооксидантно-антиоксидантного балансу в тканинах тварин під впливом АFB<sub>1</sub>.

Для досягнення поставленої мети окреслено такі **завдання**:

- дослідити динаміку процесів пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) у тканинах печінки, головного мозку, нирок та серця білих щурів за одноразового парентерального введення АFB<sub>1</sub> дозою 0,5 мг/кг маси і щодобового внутрішньошлункового введення токсину дозою 0,025 мг/кг маси впродовж 14 діб;
- дослідити стан антиоксидантної системи й активність ензимів енергетичного обміну в тканинах щурів після інтоксикації АFB<sub>1</sub> за різних доз і способів введення токсину;
- проаналізувати процеси трансамінування у тканинах і рівень вивільнення трансаміназ у плазму крові щурів під впливом АFB<sub>1</sub>;
- дослідити ефективність використання біомаси дріжджів *Phaffia rhodozyma* з метою корекції порушень метаболізму, виявлених у тварин, уражених АFB<sub>1</sub>;
- з'ясувати коригувальну дію антиоксидантів (вітамін Е, препарат «Е-Селен») щодо метаболічних змін у організмі тварин після введення АFB<sub>1</sub>.

**Об'єкт дослідження:** біохімічні механізми розвитку метаболічних порушень під впливом афлатоксину В<sub>1</sub> та їх корекція у тварин за допомогою антиоксидантів.

*Предмет дослідження:* показники процесів ПОЛ, ензими та неензимні компоненти антиоксидантної системи в клітинах і активність трансаміназ у плазмі крові й тканинах щурів, яким вводили AFB<sub>1</sub>, біомасу дріжджів *Phaffia rhodozyma* та антиоксиданти (вітамін Е і препарат «Е-Селен»).

*Методи досліджень:* біохімічні (спектрофотометричні), фізико-хімічні, статистичні.

**Наукова новизна отриманих результатів.** Уперше на основі комплексних досліджень визначено прооксидантно-антиоксидантний баланс в тканинах головного мозку, серця, нирок та печінки щурів за умов гострого і підгострого отруєння різними дозами і способами введення афлатоксину В<sub>1</sub>; встановлено провідну роль активації оксидативного стресу в біохімічних механізмах порушень тканинного метаболізму під впливом AFB<sub>1</sub>. З'ясовано особливості перебігу вільнорадикального окиснення, змін активності ензимів антиоксидантного захисту й обміну моносахаридів, процесів трансамінування у тканинах щурів за різних доз і способів введення AFB<sub>1</sub>. Встановлена залежність між активацією процесів ліпопероксидації і зниженням активності ензимів антиоксидантної системи й енергетичного обміну, вичерпанням функціональних резервів системи глутатіону, вивільнення трансаміназ у плазму крові тварин за умов розвитку AFB<sub>1</sub>-інтоксикації. Доведено ефективність застосування біомаси дріжджів *Phaffia rhodozyma* та антиоксидантів (вітамін Е, комплекс «Е-Селен») з метою коригування метаболічних порушень, запобігання розвитку прооксидантних ефектів у тварин, які зазнають впливу афлатоксину В<sub>1</sub>.

**Практичне значення одержаних результатів.** На основі проведених досліджень обґрунтовано доцільність застосування коригувальних препаратів – біомаси дріжджів *Phaffia rhodozyma*, які адсорбують AFB<sub>1</sub> у травному тракті, й антиоксидантів – вітаміну Е і комплексу «Е-Селен», що впливають на стан антиоксидантної системи. Експериментально доведено, що з досліджених чинників щодобове введення біомаси дріжджів *Phaffia rhodozyma* (1,5 мг/кг маси) за інтоксикації AFB<sub>1</sub> найефективніше сприяє зменшенню негативного впливу токсину на метаболізм у тканинах, нормалізує активність ензимів антиоксидантного захисту й може бути рекомендоване для профілактики розвитку афлатоксикозу.

Основні положення дисертаційної роботи впроваджені у навчальний процес Дрогобицького державного педагогічного університету імені Івана Франка, зокрема, під час викладання дисциплін «Біохімія» і «Мікробіологія з основами вірусології та імунології».

**Особистий внесок здобувача.** Автор самостійно здійснила аналіз літературних джерел, виконала експериментальні дослідження, статистично опрацювала результати, сформулювала основні висновки роботи. Аналіз одержаних результатів та їх інтерпретацію, підготовку до друку публікацій за матеріалами дисертації здійснено разом із науковим керівником. Окремі дослідження виконано за участю співавторів публікацій, на що вказується в авторефераті.

**Апробація результатів дисертації.** Матеріали дисертаційної роботи були оприлюднені на: VI Ogólnopolskiej konferencji naukowych młodych

pracownikow nauki i studentow «Nowe tendencje rozwoju rolnictwa i obszarów wiejskich» (Rzeszow, 2010), II Міжнародній науково-практичній конференції молодих вчених та студентів «Сучасний стан та перспективи розвитку біо- і агроценозів в умовах постійного техногенного забруднення» (Трускавець, 2010), III Міжнародній конференції молодих науковців «Біологія: від молекули до біосфери» (Харків, 2010), VIII Konferencji Młodych Badaczy p.t. «Fizjologia i biochemia w żywieniu zwierząt» (Warszawa, 2011); V Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих вчених «Екологічні проблеми сільськогосподарського виробництва» (Яремче, 2011), II Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Роль науки у підвищенні технологічного рівня і ефективності АПК України» (Тернопіль, 2012); Міжнародній науково-практичній конференції «Розвиток сучасної освіти і науки: результати, проблеми, перспективи» (Дрогобич, 2013, 2015); Мędzynarodowej konferencji «Wpływ czynników antropogenicznych na środowisko przyrodnicze w terenach górskich i podgórskich» (Rzeszow, 2013); Мędzynarodowej konferencji «Systemy gospodarowania w województwach pogranicza polsko-ukraińskiego» (Rzeszow, 2014).

**Публікації.** Основні результати дисертаційної роботи висвітлені в 29 наукових публікаціях. Зокрема, 6 статей опубліковані у наукових фахових виданнях, з них 4 публікації у виданнях, включених до міжнародних наукометричних баз, 4 – у зарубіжних наукових виданнях, решта – у наукових збірниках, матеріалах наукових конференцій і збірниках тез доповідей.

**Структура та обсяг дисертації.** Дисертаційна робота викладена на 163 сторінках комп'ютерного тексту, поділеного на такі розділи: вступ, огляд літератури, матеріали і методи досліджень, результати досліджень, аналіз та узагальнення результатів, висновки, практичні рекомендації, список використаних джерел, що налічує 310 найменувань (із них 274 – латиницею), 2 додатки. Дисертація містить 24 таблиці та 6 рисунків, які займають 22 сторінки.

## ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

**Огляд літератури** присвячений вивченню механізмів токсичної дії афлатоксинів на організм тварин і людини. В огляді висвітлено: небезпеку розповсюдження мікотоксинів у кормах і харчових продуктах, особливості утворення та поширення афлатоксинів, біологічні ефекти, спричинені ураженням тварин афлатоксинами, охарактеризовано методи профілактики та зниження рівня афлатоксинів у кормах тварин і продуктах харчування людини.

**Матеріали і методи досліджень.** Дослідження проведені в лабораторії обміну речовин ім. С. З. Гжицького Інституту біології тварин НААН упродовж 2009–2015 рр. на білих безпородних щурах масою 180–200 г. Усього в дослідженнях використано 140 щурів. Кожна дослідна група налічувала по 5–7 особин, контрольна група – 20 особин.

Моделями токсичного ураження тварин слугувала гостра і підгостра інтоксикація АFB<sub>1</sub> за різних доз (одноразово – 0,5 мг/кг маси; щодобово – 0,025 мг/кг маси тіла, 14 діб) і способів введення (парентерально та внутрішньо-шлунково). Сухий афлатоксин B<sub>1</sub> (Sigma, США) перед введенням розводили в оливковій олії. Проведено 5 етапів досліджень (рис.1).

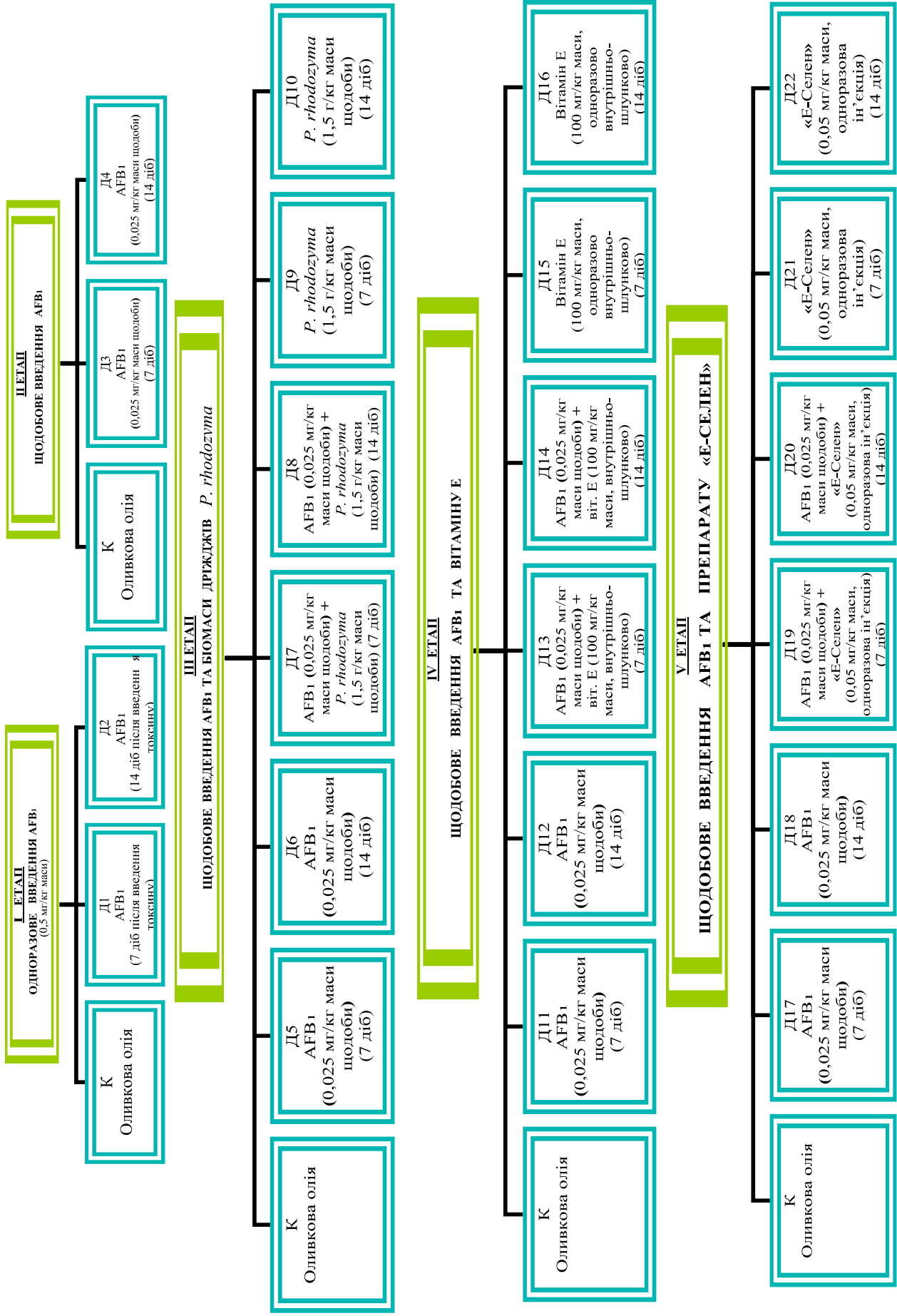


Рис. 1. Схема досліджень

На першому етапі проводили модельні експерименти з використанням лабораторних щурів, яких поділили на 3 групи. Афлатоксин В<sub>1</sub>, розчинений у кип'яченій оливковій олії, щурам вводили одноразово, внутрішньочеревною ін'єкцією дозою 0,5 мг/кг маси тіла (дослідні групи Д1–Д2). Тваринам контрольної групи (К) вводили кип'ячену оливкову олію у такому самому об'ємі. Евтаназію тварин і відбір дослідного матеріалу проводили на 7-му (Д1) і 14-ту (Д2) доби після введення токсину.

На другому етапі проводили дослід з використанням трьох груп тварин: дослідним групам (Д3, Д4) щодоби вводили внутрішньошлунково за допомогою зонда дозою 0,025 мг/кг маси тіла афлатоксин В<sub>1</sub>, розчинений у кип'яченій оливковій олії. Щурам групи Д3 вводили АFB<sub>1</sub> упродовж 7-ми діб, а щурам групи Д4 – впродовж 14-ти діб. Тваринам контрольної групи (К) вводили кип'ячену оливкову олію у такому самому об'ємі. Евтаназію щурів груп Д3 і Д4 та відбір матеріалу для досліджень у них здійснювали через 24 год після останнього введення афлатоксину В<sub>1</sub>.

На третьому етапі модельних досліджень оцінювали ефективність використання живих культивованих дріжджів *Phaffia rhodozyma* для корекції зумовлених афлатоксином В<sub>1</sub> метаболічних порушень. Афлатоксин, розведений у кип'яченій оливковій олії, вводили щодоби внутрішньошлунково дозою 0,025 мг/кг маси тіла щурам груп Д5 і Д6 упродовж 7-ми і 14-ти діб відповідно. Тваринам груп Д7 і Д8 крім афлатоксину щодоби вводили внутрішньошлунково препарат культивованих дріжджів *P. rhodozyma* дозою 1,5 г/кг маси тіла. Щурам груп Д9 і Д10 щодоби вводили препарат дріжджів *P. rhodozyma* дозою 1,5 г/кг маси тіла відповідно впродовж 7-ми і 14-ти діб. Тваринам контрольної групи (К) вводили кип'ячену оливкову олію у такому самому об'ємі. Евтаназію щурів груп Д5–Д8 і відбір матеріалу для досліджень здійснювали через 24 год після останнього введення афлатоксину В<sub>1</sub>, а щурів груп Д9 і Д10 – відповідно через 7 і 14 діб після введення *P. rhodozyma*.

На четвертому етапі досліджували можливість корекції метаболічних порушень, спричинених афлатоксином В<sub>1</sub>, введенням вітаміну Е. АFB<sub>1</sub>, розведений у кип'яченій оливковій олії, вводили щодоби внутрішньошлунково дозою 0,025 мг/кг живої маси щурам групи Д11 – упродовж 7-ми діб, а щурам групи Д12 – впродовж 14-ти діб. Тваринам груп Д13 і Д14 одноразово внутрішньошлунково вводили вітамін Е дозою 100 мг/кг маси за 1 год до першого введення афлатоксину В<sub>1</sub>. Щурам груп Д15 і Д16 вітамін Е вводили внутрішньошлунково дозою 100 мг/кг маси тіла. Тваринам контрольної групи (К) вводили кип'ячену оливкову олію у такому самому об'ємі. Евтаназію щурів груп Д11–Д14, відбір матеріалу для досліджень здійснювали через 24 год після останнього введення афлатоксину В<sub>1</sub>, а щурів груп Д15 і Д16 – відповідно через 7 і 14 діб після введення вітаміну Е.

На п'ятому етапі досліджували можливість корекції метаболічних порушень, спричинених афлатоксином В<sub>1</sub>, введенням препарату «Е-Селен». Афлатоксин В<sub>1</sub>, розведений у кип'яченій оливковій олії, вводили щодоби внутрішньошлунково дозою 0,025 мг/кг маси тіла щурам групи Д17 – впродовж 7-ми діб, а щурам групи Д18 – впродовж 14-ти діб. Препарат «Е-Селен»



вводили дозою 0,05 мл/кг маси тіла тваринам груп Д19 і Д20 внутрішньом'язовою ін'єкцією за 1 год до першого введення афлатоксину В<sub>1</sub>. Щурам груп Д21 і Д22 вводили препарат «Е-Селен» одноразовою внутрішньом'язовою ін'єкцією дозою 0,05 мл/кг. Тваринам контрольної групи (К) вводили кип'ячену оливкову олію у такому самому об'ємі. Евтаназію щурів груп Д17–Д20, відбір матеріалу для досліджень здійснювали через 24 год після останнього введення афлатоксину В<sub>1</sub>, а щурів груп Д21 і Д22 – відповідно через 7 і 14 діб після введення препарату «Е-Селен».

Евтаназію щурів контрольних груп відбір матеріалу для досліджень здійснювали через 7 і 14 діб після введення кип'яченої оливкової олії. Евтаназію тварин проводили згідно з біотичними вимогами стосовно тварин, що відповідають Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» від 21.02.2006 р., з дотриманням вимог «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, яких використовують для експериментальних і наукових цілей» (Страсбург, 1986) та загальних етичних принципів експериментів на тваринах, схвалених на Національному конгресі з біоетики (Київ, 2001).

Матеріалом для біохімічних досліджень слугували печінка, головний мозок, нирки, серце і плазма крові білих щурів, отримані після евтаназії, яку здійснювали під впливом CO<sub>2</sub>. Гомогенати тканин органів готували в 0,05 М тріс-НСІ буфері (рН 7,5) за масового співвідношення тканина:буфер – 1:9 за допомогою гомогенізатора MPW-324 (Польща).

У гомогенатах тканин визначали активність ензимів: супероксиддисмутази (СОД, КФ 1.15.1.1) – за рівнем інгібування ензимом процесу відновлення нітросинього тетразолію за наявності NADH і феназинметасульфату (Дубинина Е. Е. с соавт., 1983); глутатіонредуктази (ГР, КФ 1.6.4.2) за швидкістю відновлення глутатіону за наявності NADPH (Carlberg I., Maimervik B., 1975); глутатіонпероксидази (ГПО, КФ 1.11.1.9) за рівнем накопичення окисненого глутатіону (Горячковский А. М., 1998); глутатіон-S-трансферази (Г-S-T) за реакцією з 1-хлор-2,4-динітробензолом (Habig W. et al., 1974); лактатдегідрогенази (ЛДГ, КФ 1.1.1.27) за рівнем окиснення NADH (Chapman R. et al., 1962); глюкозо-6-фосфатдегідрогенази (Г-6-Ф, КФ 1.1.1.49) за рівнем відновлення NADP<sup>+</sup> (Kornberg A. et al., 1955). Вміст відновленого глутатіону визначали за реакцією з 5,5-дитіобіс-2-нітробензойною кислотою (Ellman G., 1959). Визначення вмісту кінцевих продуктів ПОЛ, які взаємодіють з тіобарбітуровою кислотою (ТБК-активні продукти) в досліджуваних зразках здійснювали методом, описаним Н. Ohkawa (1979). У плазмі крові та тканинах визначали активність АлАТ і АсАТ за допомогою стандартних наборів реактивів («СІМКО», Україна).

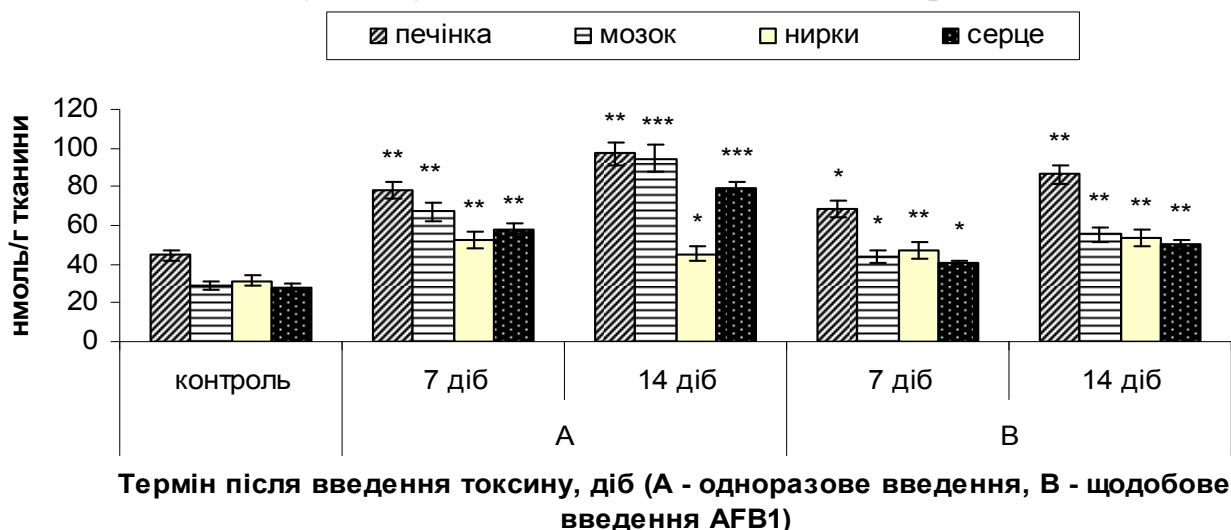
Статистичний аналіз отриманих результатів проведено методом варіаційної статистики з використанням t-критерію Стьюдента за допомогою стандартних комп'ютерних програм.

## РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

**Вплив афлатоксину В<sub>1</sub> на окремі ланки метаболізму у тканинах білих щурів.** У модельному досліді з'ясовано, що за різних доз і способів введення (одноразова внутрішньочеревна ін'єкція (0,5 мг/кг) та внутрішньошлункове введення (0,025 мг/кг щодоби впродовж 14-ти діб) в організм тварин афлатоксин В<sub>1</sub> стимулює активацію процесів ПОЛ у тканинах печінки, головного мозку, нирок і серця (рис. 2). Одноразове введення АFB<sub>1</sub> призводить до збільшення концентрації ТБК-активних продуктів у досліджуваних тканинах на 14-ту добу в 1,44–3,28 разу ( $p < 0,01$ – $0,001$ ), а щодобове – в 1,72–1,93 разу ( $p < 0,05$ – $0,01$ ).

Реалізація захисної стратегії клітин за умов надходження афлатоксину В<sub>1</sub> в організм тварин здійснюється за участю компонентів антиоксидантної системи. Ензим супероксиддисмутаза каталізує початкову стадію детоксикації вільних радикалів кисню і, таким чином, обриває ланцюг вільнорадикальних реакцій у тканинах. Згідно з результатами досліджень, за умов одноразового введення щурам афлатоксину В<sub>1</sub> активність СОД у тканинах печінки на 7-му добу знижується на 24,9 % ( $p < 0,05$ ), а на 14-ту добу – на 40,5 % ( $p < 0,01$ ). За умов щодобового введення АFB<sub>1</sub> цей показник зменшується на 14-ту добу експерименту на 40,2 % ( $p < 0,01$ ).

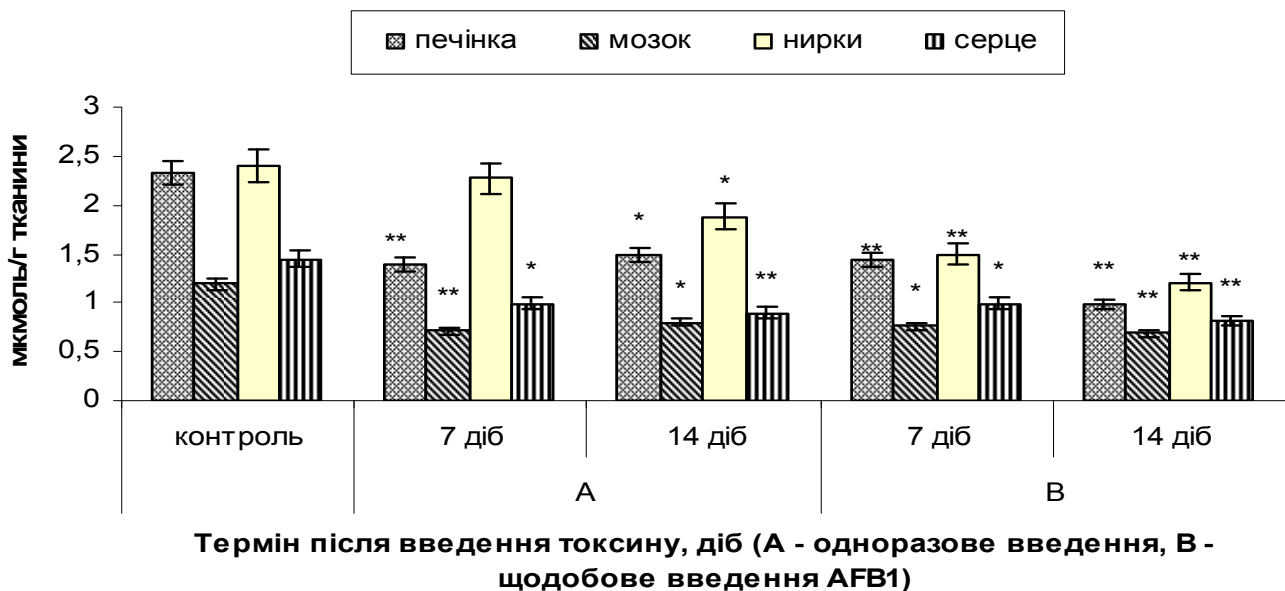
У тканинах головного мозку і серця супероксиддисмутазна активність знижується протягом 14-ти діб після одноразового введення АFB<sub>1</sub>. Зокрема, на 7-му добу активність знижується відповідно на 21,8 % ( $p < 0,05$ ) і 21,1 % ( $p < 0,05$ ), а на 14-ту – на 40,3 % ( $p < 0,01$ ) і 42,1 % ( $p < 0,01$ ). За щодобового введення токсину активність СОД знижувалася лише на 7-му добу експерименту ( $p < 0,05$ ). Для тканин нирок встановлена найвиразніша динаміка зниження активності СОД. Зокрема, за умов одноразового введення АFB<sub>1</sub> ензим інгібується на 7-му і 14-ту доби відповідно на 13,2 і 43,7 % ( $p < 0,01$ ). Щодобове введення АFB<sub>1</sub> також виявляє пригнічувальний вплив на супероксиддисмутазну активність, зумовлюючи зниження її на 7-му і 14-ту доби відповідно на 21,7 і 31 % ( $p < 0,05$ – $0,01$ ).



**Рис. 2. Концентрація ТБК-активних продуктів у тканинах щурів за різних доз введення афлатоксину В<sub>1</sub>**

Примітка. На цьому і подальших рисунках: \*, \*\*, \*\*\* – вірогідність різниць між контрольною і дослідними групами тварин (\* –  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,01$ ; \*\*\* –  $p < 0,001$ ).

Важливу роль у механізмах захисту біологічних молекул і сполук від пошкоджувальної дії активних форм кисню за умов надходження афлатоксину В<sub>1</sub> відіграє система глутатіону. Узгоджена дія всіх її компонентів (глутатіонпероксидаза, глутатіонредуктаза, глутатіонтрансфераза, відновлений глутатіон) сприяє збереженню антиоксидантного гомеостазу, забезпечує детоксикацію пероксидів, органічних гідрпероксидів, інактивацію вільних радикалів. Внутрішньоклітинний вміст GSH є чутливим показником загального стану організму та його здатності протидіяти токсинам. Отримані результати вказують (рис. 3), що одноразове внутрішньочеревне введення АFB<sub>1</sub> спричиняє зниження вмісту відновленого глутатіону в тканині печінки на 7-му добу на 40,4 % (p<0,01), у тканині головного мозку – 39,5 % (p<0,01). На 14-ту добу незначно підвищується вміст GSH у тканинах печінки і головного мозку порівняно з 7-мою добою. У тканинах нирок і серця за одноразового введення АFB<sub>1</sub> вміст GSH зменшувався впродовж усього періоду досліджень (p<0,05–0,01).



**Рис. 3. Вплив АFB<sub>1</sub> на вміст GSH в тканинах щурів**

За щодобового введення АFB<sub>1</sub> у досліджуваних тканинах прослідковувалось дозозалежне зниження вмісту відновленого глутатіону впродовж 14-добового терміну досліджень, причому в печінці ця динаміка була найвиразнішою. Зниження вмісту GSH може бути пов'язане з його участю у зв'язуванні токсичного метаболіту афлатоксину В<sub>1</sub> – АFB<sub>1</sub>-епоксиду (Commandeur J., 2010).

Зниження вмісту GSH за умов введення АFB<sub>1</sub> призводить до інгібування активності глутатіон-залежних ензимів у тканинах тварин. Зокрема, глутатіонредуктазна активність пригнічується в усіх досліджуваних тканинах на 14-ту добу після одноразового введення АFB<sub>1</sub> (p<0,05–0,001).

За щодобового введення афлатоксину в організм щурів активність ензиму знижується в тканинах печінки, головного мозку і нирок (p<0,05–0,001) на всіх етапах досліджень. У тканині серця активність ензиму знижується на 7-му добу

експерименту на 61,6 % ( $p < 0,01$ ), а на 14-ту добу зростає на 8 % порівняно з рівнем, встановленим на 7-му добу експерименту. Оскільки глутатіонредуктаза відновлює молекули глутатіону, зниження її активності може свідчити про виснаження резервів глутатіонової системи в тканинах щурів, інтоксикованих AFB<sub>1</sub>.

Глутатіонпероксидаза бере участь у детоксикації гідроген пероксиду і каталізує процес відновлення гідропероксидів ліпідів до відповідних оксисполук. Під час експерименту встановлено, що за одноразового введення AFB<sub>1</sub> активність ГПО в тканинах печінки знижується на 14-ту добу на 41 % ( $p < 0,01$ ), у тканинах нирок – на 53 % ( $p < 0,01$ ), у тканинах головного мозку – на 26,9 % ( $p < 0,01$ ), відповідно. У тканині серця за одноразового введення AFB<sub>1</sub> глутатіонпероксидазна активність знижувалася на 7-му добу на 17,2 % ( $p < 0,05$ ) і залишалася на такому ж рівні на 14-ту добу експерименту. Активність цього ензиму зменшувалася в усіх досліджуваних тканинах і за щодобового введення AFB<sub>1</sub>, причому зі збільшенням тривалості надходження токсину в організм тварин рівень інгібування ГПО посилювався.

Ключову роль у детоксикації AFB<sub>1</sub> та проміжних сполук, які утворюються в процесі його метаболізму, відіграє глутатіон-S-трансфераза. Згідно з отриманими результатами, на 7-му добу після одноразового введення AFB<sub>1</sub> у тканинах печінки, головного мозку і серця активність Г-S-T вірогідно знижувалася ( $p < 0,001$ ), але на 14-ту добу виявляла динаміку до нормалізації. Натомість у нирках активність Г-S-T зростає упродовж 14 діб ( $p < 0,05$ ), і такий ефект може відігравати компенсаторну роль, сприяючи зменшенню токсичного впливу афлатоксину в цьому органі (рис. 4). За умов щодобового введення тваринам AFB<sub>1</sub> глутатіон-S-трансферазна активність зменшується у всіх досліджуваних тканинах упродовж експерименту. Пригнічення активності Г-S-T, очевидно, відбувалося через інактивацію молекул ензиму внаслідок зв'язування з продуктами біотрансформації AFB<sub>1</sub>.

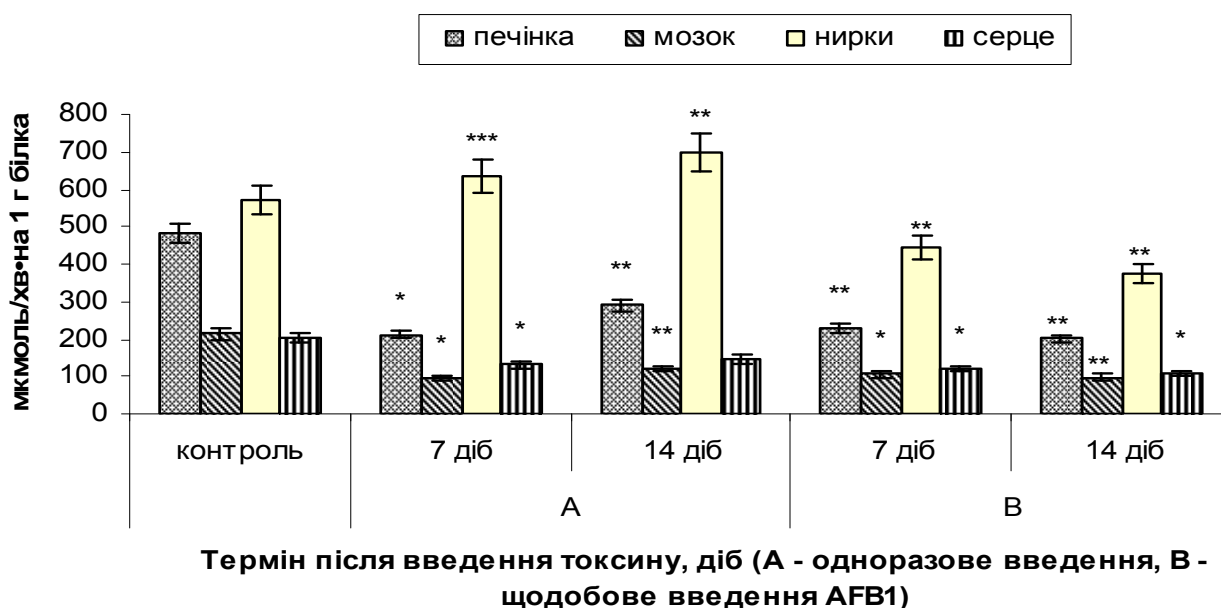


Рис. 4. Вплив AFB<sub>1</sub> на активність Г-S-T у тканинах щурів

Отже, підсумовуючи отримані результати, можна зробити висновок, що активність ензимів антиоксидантної системи в тканинах печінки, нирок, серця і головного мозку пригнічувалася під впливом АFB<sub>1</sub> майже на всіх стадіях проведених експериментів, а вміст глутатіону в цих тканинах зменшувався. Це свідчить про значну гепато-, нефро- і нейротоксичність афлатоксину В<sub>1</sub> та його пошкоджувальний вплив на метаболічні процеси в серці.

Для підтримання антиоксидантного статусу клітин і стабільності мембран необхідна відповідна активність процесів енергетичного обміну. Результати наших досліджень свідчать, що активність лактатдегідрогенази, яка каталізує кінцеву стадію гліколізу, в досліджуваних тканинах зменшувалась і за умов одноразового, і за щодобового введення АFB<sub>1</sub>. Така динаміка чітко виявляється в тканинах печінки, головного мозку, нирок і серця за одноразової дози АFB<sub>1</sub> ( $p < 0,01-0,001$ ). Привертає увагу динаміка активності ЛДГ у тканині серця, в якому спостерігали виразніше зменшення цього показника за щодобового введення – на 60,3 % ( $p < 0,01$ ), ніж за одноразового – на 51,2 % ( $p < 0,01$ ).

Проведені дослідження свідчать, що за одноразового і щодобового введення тваринам АFB<sub>1</sub> відбувається зниження активності NADPH-генеруючого ензиму – глюкозо-6-фосфатдегідрогенази – в тканинах печінки, нирок та головного мозку. У тканині серця активність ензиму пригнічується меншою мірою – на 19,7–24,4 % ( $p < 0,05$ ) за різних умов експерименту.

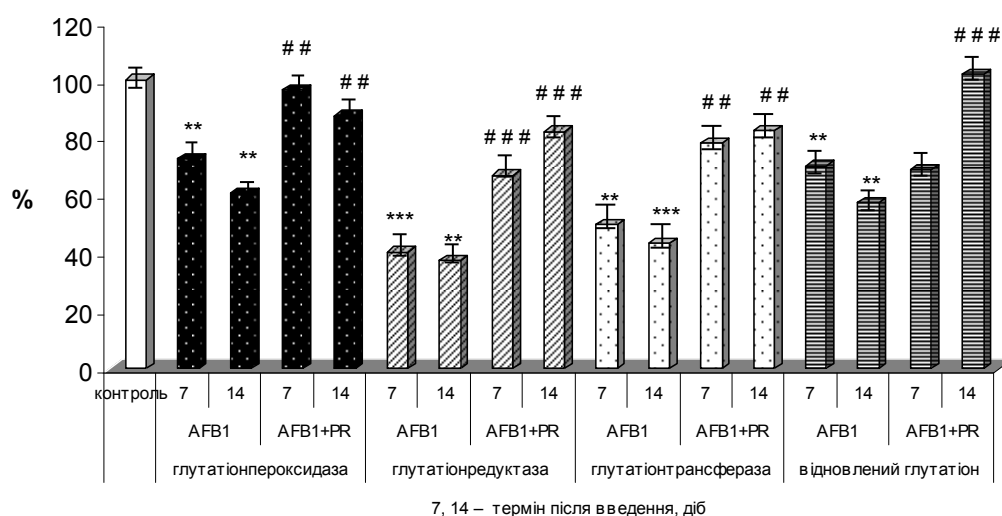
Одним із ефектів АFB<sub>1</sub> за умов його щодобового введення є зниження активності амінотрансфераз у тканинах піддослідних тварин, що може вказувати на зміни у процесах трансамінування. Окрім цього, за введення АFB<sub>1</sub> зростає активність трансаміназ у плазмі крові щурів на 14-ту добу: АЛАТ – у 4,3 разу ( $p < 0,001$ ), АсАТ – у 2,59 разу ( $p < 0,05$ ). Ці результати свідчать про порушення функцій досліджуваних органів, насамперед, про ушкодження цілісності плазматичних мембран під впливом афлатоксину В<sub>1</sub>.

**Оцінка ефективності використання біомаси дріжджів *Phaffia rhodozyma* за рівнем антиоксидантної активності в тканинах щурів, інтоксикованих АFB<sub>1</sub>.** Введення біомаси *Phaffia rhodozyma* щурам, які зазнавали впливу АFB<sub>1</sub>, зменшує токсичну дію токсину у всіх досліджуваних тканинах. Результати аналізу концентрації продуктів ПОЛ за введення тваринам АFB<sub>1</sub> і біомаси дріжджів *P. rhodozyma* свідчать про нормалізацію цього показника в тканинах головного мозку, нирок, серця на 7-му і 14-ту доби експерименту, а в тканинах печінки вміст продуктів ПОЛ нормалізувався лише на 7-му добу.

Водночас, введення біомаси дріжджів *Phaffia rhodozyma* сприяє нормалізації супероксиддисмутазної активності у всіх досліджуваних тканинах на 14-ту добу експерименту.

За результатами досліджень, у тканинах печінки, головного мозку, нирок і серця тварин, яким вводили афлатоксин В<sub>1</sub>, застосування дріжджів *P. rhodozyma* сприяло нормалізації показників функціонального стану системи глутатіону внаслідок збільшення вмісту відновленого глутатіону ( $p < 0,05-0,001$ ), підвищення активності глутатіонредуктази ( $p < 0,01-0,001$ ) і глутатіонпероксидази ( $p < 0,01-0,001$ ). У тканинах нирок і серця, за умов

введення інтоксикованим AFB<sub>1</sub> щурам, *P. rhodozyma*, нормалізувалася активність Г-S-T. Однак у тканинах печінки і головного мозку відмічене лише зростання активності цього ензиму ( $p < 0,05-0,001$ ) порівняно зі значеннями на тлі AFB<sub>1</sub>-інтоксикації (рис. 5).

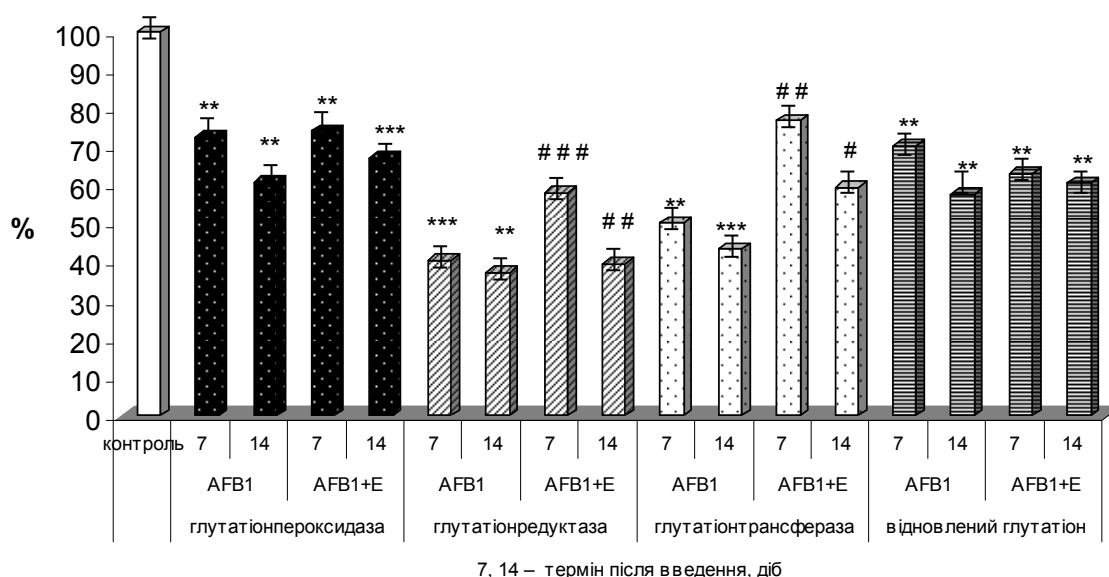


**Рис. 5. Вплив AFB<sub>1</sub> і біомаси *Phaffia rhodozyma* на стан глутатіонової системи у печінці щурів**

Примітка. На цьому і подальших рисунках: за 100 % приймали значення показників у тварин контрольних груп; \*, \*\*, \*\*\* - вірогідність різниць порівняно з контролем (\* -  $p < 0,05$ ; \*\* -  $p < 0,01$ ; \*\*\* -  $p < 0,001$ ); #, ##, ### - вірогідність різниць порівняно з групою тварин, яким вводили AFB<sub>1</sub> (# -  $p < 0,05$ ; ## -  $p < 0,01$ ; ### -  $p < 0,001$ )

Ефективність дії біомаси дріжджів *Phaffia rhodozyma* характеризується такими особливостями: клітинна стінка *P. rhodozyma* діє як адсорбент; як клітинний метаболіт продукується антиоксидант астаксантин, і його дія виявляється у місці всмоктування афлатоксинів – кишково-шлунковому тракту. З метою отримання стійкого позитивного ефекту у застосуванні *P. rhodozyma*, важливо щодобово вводити біомасу дріжджів *P. rhodozyma*, адже при такому застосуванні зменшується ризик розвитку метаболічних порушень у тварин, інтоксикованих афлатоксином В<sub>1</sub>, та відбувається профілактика розвитку афлатоксикозу.

**Вплив вітаміну Е на антиоксидантний статус тканин на тлі інтоксикації AFB<sub>1</sub>.** Вітамін Е – біологічний антиоксидант, який захищає клітини від ушкодження вільними радикалами, бере участь у ліпідному обміні, формуванні клітинних мембран, укріплює стінки кровоносних судин, а також забезпечує клітинне дихання, підвищує загальну стійкість організму тварин (Подколзин А. А., 2000; Alrsoy L., 2011). Встановлено, що введення вітаміну Е за щодобової інтоксикації AFB<sub>1</sub> сприяє зниженню концентрації продуктів ПОЛ у тканинах тварин порівняно з дослідними тваринами, яким вводили AFB<sub>1</sub>. Результати досліджень також свідчать про покращення стану антиоксидантного захисту в тканинах (рис. 6).

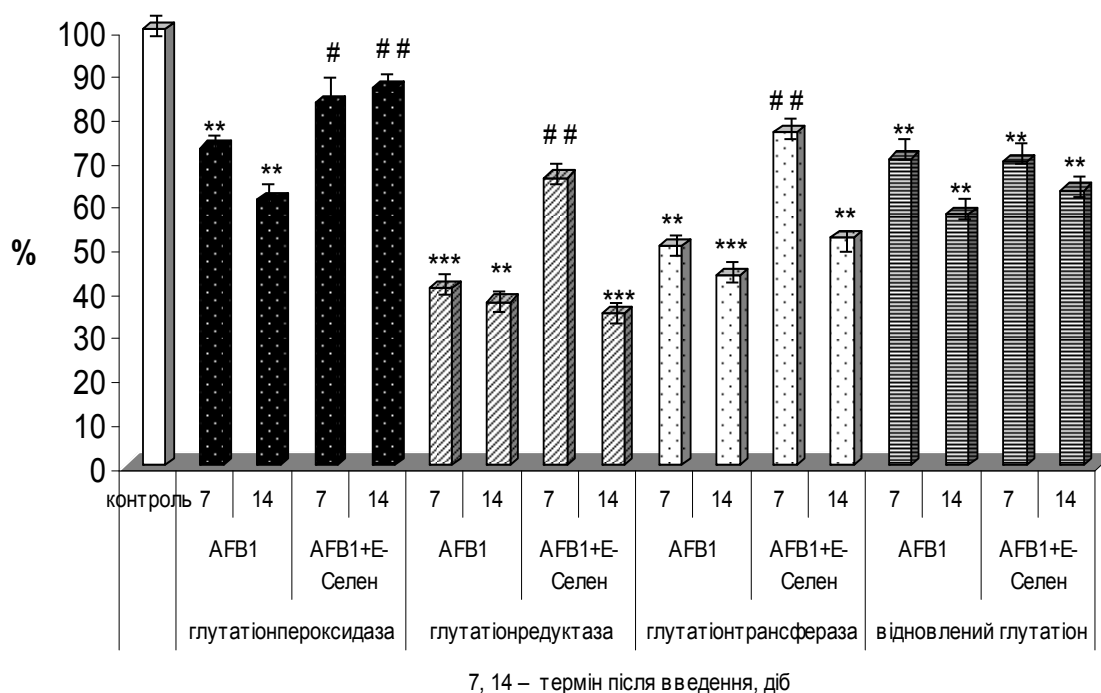


**Рис. 6. Вплив AFB<sub>1</sub> і вітаміну E на стан глутатіонової системи у печінці щурів**

Одноразове введення вітаміну E, на тлі інтоксикації AFB<sub>1</sub>, нормалізує глутатіонредуктазну активність у тканинах нирок і серця, глутатіонтрансферазну активність у тканині серця на 7-му добу експерименту. У тканинах печінки і головного мозку активність СОД, глутатіонпероксидази, глутатіонредуктази, глутатіонтрансферази підвищується на 7-му добу. Проте за щодобового введення AFB<sub>1</sub> активність ензимів значно знижується на 14-ту добу у всіх досліджуваних тканинах щурів порівняно з контролем ( $p < 0,05-0,001$ ).

**Вплив комплексного препарату «Е-Селен» на антиоксидантний статус тканин при AFB<sub>1</sub>-токсикації.** Препарат «Е-Селен» виявляє коригувальний ефект щодо клітинного метаболізму в тканинах щурів, яким вводили AFB<sub>1</sub>, оскільки поєднує антиоксидантну дію вітаміну E та мікроелементу Селену. У результаті вивчення дії препарату «Е-Селен» на процеси ліпопероксидації у інтоксикованих тканинах встановлено, що за умов щодобового введення тваринам AFB<sub>1</sub> цей комплекс сприяє зменшенню концентрації продуктів ПОЛ у досліджуваних тканинах.

Отримані результати дають підставу стверджувати, що зменшення інтенсивності процесів ПОЛ в інтоксикованих афлатоксином щурів пов'язане із впливом досліджуваного препарату на активність ензимів антиоксидантного захисту в тканинах. Так, за умов одноразового введення «Е-Селену» на тлі інтоксикації AFB<sub>1</sub>, у досліджуваних тканинах щурів на 7-му добу зростає активність СОД порівняно з дослідною групою щурів, яким вводили тільки AFB<sub>1</sub>. Проте на 14-ту добу введення AFB<sub>1</sub> нормалізуючий ефект «Е-Селену» виявляється меншою мірою (рис. 7).



**Рис. 7. Вплив AFB<sub>1</sub> і препарату Е-Селен на стан глутатіонової системи у печінці щурів**

Введення препарату «Е-Селен» сприяє нормалізації вмісту відновленого глутатіону на 7-му добу ( $p < 0,05-0,01$ ) у тканинах щурів, яким вводили AFB<sub>1</sub>. Препарат «Е-Селен» впливає і на глутатіон-залежні ензими, підвищує активність глутатіонредуктази у щурів, яким вводили AFB<sub>1</sub> ( $p < 0,01-0,001$ ), нормалізує глутатіонтрансферазну і глутатіонпероксидазну активність у піддослідних тварин на 7-му добу експерименту ( $p < 0,05-0,001$ ). Проте на 14-ту добу нормалізація цих показників не виявляється.

Після введення тваринам антиоксидантного препарату «Е-Селен» для зменшення токсичної дії афлатоксину В<sub>1</sub>, тканини отримують опосередкований захист, завдяки підвищенню вмісту GSH, але не інгібуванню метаболізму AFB<sub>1</sub>. Тому після одноразової ін'єкції препарату «Е-Селен», за подальшої щодобової інтоксикації AFB<sub>1</sub>, підвищення антиоксидантної активності у тканинах має нетривалий ефект.

## ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі отримано комплекс даних про біохімічні механізми порушень окремих ланок метаболізму (активація процесів ПОЛ, зниження активності антиоксидантних і енергетичних ензимів, зростання активності трансаміназ у плазмі крові) у тканинах білих щурів за різних доз та способів введення афлатоксину В<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>). Показано можливість коригування метаболічних порушень введенням біомаси дріжджів *Phaffia rhodozyma* та антиоксидантів (вітамін Е і препарат «Е-Селен»).

1. Афлатоксин В<sub>1</sub> є активатором процесів ПОЛ у тканинах печінки, нирок, головного мозку та серця. Розвиток AFB<sub>1</sub>-інтоксикації призводить до збільшення концентрації продуктів ліпопероксидації. Експериментально



доведено, що концентрація ТБК-активних продуктів зростає на 14-ту добу в тканинах печінки у 2,18 разу ( $p < 0,01$ ), головного мозку – в 3,28 разу ( $p < 0,001$ ), серця – в 2,45 разу, нирок – у 1,44 разу ( $p < 0,05$ ) за одноразового введення афлатоксину В<sub>1</sub>. Поступове збільшення вмісту ТБК-активних продуктів у досліджуваних тканинах за щодобового введення АFB<sub>1</sub> пов'язане з тривалістю надходження токсину в організм тварин, на 14-ту добу концентрація продуктів ПОЛ у тканинах збільшується в 1,72–1,93 разу ( $p < 0,01$ ).

2. Встановлено особливості змін у компонентах антиоксидантної системи залежно від тканин і способів інтоксикації тварин. У тканинах печінки та головного мозку на тлі гострої інтоксикації одноразовим введенням АFB<sub>1</sub> активність супероксиддисмутази, глутатіонпероксидази і глутатіонредуктази знижується на 14-ту добу ( $p < 0,05–0,001$ ); вміст відновленого глутатіону й активність глутатіонтрансферази знижується на 7-му добу ( $p < 0,01–0,001$ ) й підвищується на 14-ту добу ( $p < 0,05–0,01$ ). Щодобове введення АFB<sub>1</sub> інгібує активність усіх ензимів-антиоксидантів у тканинах печінки і головного мозку, починаючи з 7-мої доби.

3. Доведено, що нирки відіграють важливу роль у детоксикації АFB<sub>1</sub> за умов одноразового введення внаслідок активації глутатіонтрансферази в 1,22 разу впродовж 14 діб після надходження токсину ( $p < 0,05$ ). Однак активність ензимів антиоксидантної системи у тканинах цього органа знижувалась: супероксиддисмутази на 43,7 % ( $p < 0,01$ ); глутатіонпероксидази, глутатіонредуктази і вміст відновленого глутатіону – впродовж 14 діб після введення токсину ( $p < 0,05–0,001$ ). За щодобового його введення відбувається дозозалежне зниження активності всіх ензимів антиоксидантної системи, із найбільш вираженими змінами на 7-му добу ( $p < 0,05–0,001$ ).

4. За умов одноразового введення АFB<sub>1</sub> у серці відбувається зниження активності супероксиддисмутази, глутатіонредуктази і вмісту відновленого глутатіону на 14 добу ( $p < 0,05–0,01$ ), глутатіонпероксидази і глутатіонтрансферази – на 7-му добу. Водночас на 14-ту добу активність глутатіонпероксидази і глутатіонтрансферази зростає порівняно з рівнем встановленим на 7-му добу експерименту, проте вона не досягає контрольного рівня. За щодобового введення АFB<sub>1</sub> відбувається зниження активності ензимів антиоксидантної системи впродовж 14 діб експерименту ( $p < 0,05–0,01$ ).

5. Введення АFB<sub>1</sub> призводить до змін активності ензимів катаболізму моносахаридів. За одноразової інтоксикації лактатдегідрогеназна активність знижувалася на 14-добу в усіх досліджуваних тканинах на 51,2–60,2 % ( $p < 0,01–0,001$ ), а за щодобового – найвиразніше у тканинах головного мозку і серця на 50,2–60,3 % ( $p < 0,01$ ). Глюкозо-6-фосфатдегідрогеназна активність за гострої одноразової інтоксикації пригнічувалась на 34,4–59,0 % ( $p < 0,05–0,01$ ) у тканинах печінки, нирок і головного мозку, за щодобового введення токсину в досліджуваних тканинах дозозалежно зменшувалась на 37,2–51,2 % ( $p < 0,05–0,01$ ). У тканині серця активність ензиму зменшувалась як за одноразового, так і за щодобового введення на 19,7–24,4 % ( $p < 0,05$ ).

6. Під впливом афлатоксину В<sub>1</sub> відмічено зниження активності амінотрансфераз і зміну коефіцієнта Де Рітіса. Зниження активності АЛАТ найбільш виражене у тканинах печінки та нирок щурів порівняно з іншими

органами, показник знижувався на 14-ту добу в 2,1 і 2,26 разу ( $p < 0,01$ ) відповідно. Активність АсАТ знижувалась у всіх досліджуваних тканинах у 1,76–2,33 разу ( $p < 0,05$ – $0,001$ ). Встановлені зміни активності трансаміназ у плазмі крові білих щурів, зокрема, збільшення АлАТ у 4,3 разу ( $p < 0,001$ ), АсАТ – у 2,59 разу ( $p < 0,05$ ). Коефіцієнт Де Рітиса зменшується у тканинах печінки і нирок як свідчення порушення проникності клітинних мембран на тлі АFB<sub>1</sub>-інтоксикації.

7. Щодобове введення біомаси дріжджів *Phaffia rhodozyma* на тлі гострої АFB<sub>1</sub>-інтоксикації зумовлює зменшення концентрації продуктів ПОЛ в тканинах печінки білих щурів і нормалізацію в тканинах нирок, головного мозку та серця. Після застосування біомаси *P. rhodozyma* на 14-ту добу дослідження відбувається нормалізація активності супероксиддисмутази, глутатіонпероксидази і вмісту відновленого глутатіону в тканинах нирок, головного мозку та серця щурів, інтоксикованих афлатоксином В<sub>1</sub>. Активність глутатіонредуктази і глутатіонтрансферази нормалізується впродовж дослідного періоду у тканинах нирок і серця, у тканинах печінки і головного мозку активність глутатіонредуктази знизилася на 17,7 і 10,8 %, глутатіонтрансферази – на 17,5 і 7,6 % порівняно з контролем.

8. Одноразове введення щурам вітаміну Е на тлі АFB<sub>1</sub>-інтоксикації зумовлювало зниження інтенсивності процесів ПОЛ, підвищувало активність ензимів антиоксидантної системи на 7-му добу експерименту у всіх досліджуваних тканинах. На 14-ту добу експерименту активність супероксиддисмутази, глутатіонпероксидази, глутатіонредуктази, глутатіонтрансферази і вміст відновленого глутатіону зменшувалась.

9. Одноразове введення препарату «Е-Селен» білим щурам на тлі АFB<sub>1</sub>-інтоксикації, сприяло зниженню процесів ліпопероксидації, підвищувало активність ензимів антиоксидантної системи на 7-му добу експерименту в усіх досліджуваних тканинах. На 14-ту добу експерименту активність супероксиддисмутази, глутатіонредуктази, глутатіонтрансферази і вміст відновленого глутатіону зменшувалися, активність глутатіонпероксидази – нормалізувалась.

### ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. З метою корекції порушень метаболізму у тварин за інтоксикації афлатоксином В<sub>1</sub> рекомендовано щодобове згодовування дріжджів *Phaffia rhodozyma* дозою 1,5 г/кг маси тіла.

2. Для усунення метаболічних порушень, спричинених афлатоксином В<sub>1</sub>, ефективним є введення антиоксидантів: вітамін Е (дозою 100 мг/кг маси тіла) і комплекс вітаміну Е з Селеном (дозою 2,5 мг вітаміну Е та 2,5 мкг натрію селеніту на 1 кг маси тіла).

## СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Антоняк Г. Л. Афлатоксини: біологічні ефекти та механізми впливу на організм тварин і людини / Г. Л. Антоняк, Н. О. Бабич, О. М. Стефанишин, **Н. К. Коваль**, Р. О. Федяков // Біологія тварин. – 2009. – Т.11, № 1–2. – С. 17–28. (*Дисертантка проаналізувала і написала розділ про токсичні ефекти, спричинені афлатоксинами, брала участь у написанні статті*).
2. Антоняк Г. Л. Вплив мікотоксинів на здоров'я тварин / Г. Л. Антоняк, Р. О. Федяков, **Н. К. Коваль**, О. М. Стефанишин // Науковий вісник ветеринарної медицини. – Біла-Церква, 2010. – Вип. 5(78). – С. 10–13. (*Дисертантка проаналізувала дані щодо профілактики мікотоксикозів у тварин, брала участь у написанні статті*).
3. Антоняк Г. Л. Вплив афлатоксину В1 на стан антиоксидантної системи в клітинах органів та еритроцитах крові білих щурів / Г. Л. Антоняк, **Н. К. Коваль**, М. Р. Досвядчинська, Х. М. Головчак // Науковий часопис Національного педагогічного університету імені М. П. Драгоманова. – Серія № 20: біологія. – Київ, 2013. – Вип. 5. – С. 112–117. (*Дисертантка провела визначення продуктів пероксидного окиснення ліпідів, активності у тканинах печінки, мозку та серцевого м'язу, опрацювала статистично отримані дані, написала статтю*).
4. Antonyak H. Effects of aflatoxin B1 on lipid peroxidation and activities of antioxidant enzymes in rat organs and erythrocytes / H. Antonyak, Cl. Olijnyk, **N. Koval**, R. Fedyakov, M. Dosviadchynska, I. Panchuk, V. Chekh // Вісник Львівського університету. Серія: біологічна. – Львів, 2015. – Вип. 69. – С. 41–48. (*Дисертантка провела визначення продуктів пероксидного окиснення ліпідів, активності у тканинах печінки, мозку та нирок, опрацювала статистично отримані дані, брала участь у написанні статті*).
5. **Гойванович Н. К.** Вплив афлатоксину В1 на прооксидантно-антиоксидантний баланс в клітинах білих щурів / Н. К. Гойванович // Біологія тварин. – 2016. – № 3. – С. 17–23.
6. **Гойванович Н. К.** Вплив біомаси дріжджів *Phaffia rhodozyma* на стан антиоксидантної системи в тканинах білих щурів за щодобового введення афлатоксину В1 / Н. К. Гойванович, Г. Л. Антоняк // Вісник проблем біології та медицини. – 2017. – Вип. 2(136). – С. 52–57. (*Дисертантка провела експериментальні дослідження, опрацювала статистично отримані дані, написала статтю*).
7. **Гойванович Н. К.** Вплив біомаси *Phaffia rhodozyma* й антиоксидантів на ензими системи глутатіону у тканинах білих щурів за дії афлатоксину В1 / Н. К. Гойванович, Г. Л. Антоняк // Наукові доповіді НУБіП України. – 2017. – №3(67). – 12 с. – Режим доступу до журн.: <http://journals.nubip.edu.ua/index.php/Dopovidy/article/view/8725/8063> (*Дисертантка провела експериментальні дослідження, опрацювала статистично отримані дані, написала статтю*).
8. **Koval N.** Mycotoxins in forages / N. Koval, H. Antonyak // Materials Jubileuszowej V Ogólnopolskiej Młodzieżowej Konferencji Naukowej „Nauki rolnicze w rzeczywistości społeczno-gospodarczej w współczesnych obszarach wiejskich” (21–23 kwietnia 2009 r., Rzeszów). – Rzeszów, 2009. – S. 57–61.

*(Дисертантка проаналізувала та узагальнила дані щодо вмісту і нормування мікотоксинів у кормах, написала статтю).*

9. **Koval N.** Acute toxicity of aflatoxin B1 / N. Koval, R. Fedyakow // *Materialy VI Ogólnopolskiej konferencji naukowych młodych pracowników nauki i studentów "Nowe tendencje rozwoju rolnictwa i obszarów wiejskich"* (20–22 kwietnia 2010 r., Rzeszów) – Rzeszów, 2010. – S. 10–13. *(Дисертантка узагальнила дані про токсичність афлатоксину В1, написала статтю)*

10. **Коваль Н. К.** Афлатоксини та їх вплив на організм тварин / **Н. К. Коваль**, Р. О. Федяков, Г. Л. Антоняк // *Матеріали II Міжнародної науково-практичної конференції молодих вчених та студентів „Сучасний стан та перспективи розвитку біо- і агроценозів в умовах постійного техногенного забруднення* (3–4 листопада 2010 р., Трускавець). – Трускавець, 2010. – С. 33–35. *(Дисертантка узагальнила дані про будову афлатоксинів, написала статтю)*

11. **Коваль Н. К.** Стан процесів ПОЛ і антиоксидантної системи клітин білих щурів за умов гострої інтоксикації афлатоксином В1 / **Н. К. Коваль**, Р. О. Федяков, Г. Л. Антоняк // *Біологія: від молекули до біосфери. Матеріали III Міжнародної конференції молодих науковців* (25–26 листопада 2010 р., Харків). – Харків, 2010. – С. 36–37. *(Дисертантка провела визначення вмісту продуктів пероксидного окиснення ліпідів та активності ензимів у органах, опрацювала статистично отримані дані, брала участь у написанні тез).*

12. **Коваль Н. К.** Афлатоксини – природні канцерогени / **Н. К. Коваль**, Р. О. Федяков, Г. Л. Антоняк // *Матеріали Міжнародної науково-практичної конференції «Захист навколишнього середовища. Збалансоване природо-користування»* (16–17 листопада 2010 р. Львів). – Львів, 2010. – С. 55 *(Дисертантка проаналізувала дані про канцерогенність афлатоксинів, написала тези)*

13. **Коваль Н. К.** Забруднення кормів мікотоксинами роду *Aspergillus* / **Н. К. Коваль**, Г. Л. Антоняк // *Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції „Роль науки у підвищенні технологічного рівня і ефективності АПК України”* (18–20 травня 2011 р., Тернопіль). – Тернопіль, 2011. – С. 107–109. *(Дисертантка проаналізувала дані щодо вмісту мікотоксинів у кормах, їх нормування в Україні та за кордоном, написала статтю)*

14. **Коваль Н. К.** Афлатоксини: хімічна будова та метаболізм / **Н. К. Коваль**, Г. Л. Антоняк // *Матеріали II Всеукраїнської науково-практичної конференції студентів та молодих вчених „Актуальні проблеми та перспективи розвитку природничих наук”* (20 травня 2011 р., Запоріжжя). – Запоріжжя, 2011. – С. 173–175. *(Дисертантка узагальнила дані про хімічну будову та метаболізм афлатоксинів, написала статтю)*

15. **Koval N.** Process of lipid peroxidation and activities of antioxidant system enzymes in cells liver, brain and lung of white rats in conditions of aflatoxin B1 injection / **N. Koval**, H. Antonyak // *VIII Konferencja Młodych Badaczy p.t. „Fizjologia i biochemia w żywieniu zwierząt”* (19–20 września 2011 r., Warszawa). – Warszawa, 2011. – S. 13–16. *(Дисертантка провела експериментальні*

дослідження, опрацювала статистично отримані дані, брала участь у написанні статті).

16. **Koval N.** Process of lipid peroxidation and activity of antioxidant system in the cells of white rats under aflatoxin B1 injection / **N. Koval**, H. Antonyak // *Materialy I Międzynarodowej i VII Ogólnopolskiej Młodzieżowej Konferencji Naukowej nt. «Nauki o człowieku w środowisku na początku XXI w.»* (23 maja 2011 r., Rzeszow). – Rzeszow, 2011. – S. 47–49. *(Дисертантка провела експериментальні дослідження, опрацювала статистично отримані дані, брала участь у написанні статті).*

17. **Коваль Н. К.** Вплив афлатоксину В1 на активність ферментів-антиоксидантів в гепатоцитах щурів / **Н. К. Коваль**, Г. Л. Антоняк // *Матеріали V Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих вчених „Екологічні проблеми сільськогосподарського виробництва”* (21 – 24 червня 2011 р., Яремче). – Київ–Яремче, 2011. – С. 203–204. *(Дисертантка провела визначення активності ензимів, опрацювала статистично отримані дані, написала тези).*

18. **Коваль Н. К.** Динаміка показників системи глутатіону в клітинах щурів за щодобового введення афлатоксину В1 / **Н. К. Коваль**, Г. Л. Антоняк // *Вісник Степу: науковий збірник*. – Кіровоград, 2012. – Част. 2. – С. 210–213. *(Дисертантка провела експериментальні дослідження, опрацювала статистично отримані дані, написала статтю).*

19. **Коваль Н. К.** Мікотоксини грибів роду *Aspergillus* / *Збірник наукових праць молодих учених Дрогобицького державного педагогічного університету імені Івана Франка (Пам'яті Валерія Григоровича Скотного)*. – Дрогобич : Посвіт, 2012. – С. 448–456.

20. Кузів Н. Мікотоксикози – важлива проблема тваринництва / Н. Кузів, **Н. Коваль** // *Acta Carpathica*. – 2013 – № 1. – С. 79–84. *(Дисертантка проаналізувала та узагальнила дані щодо впливу мікотоксинів на різні галузі тваринництва, написала статтю).*

21. **Коваль Н. К.** Токсичні ефекти афлатоксинів / **Н. К. Коваль** / *Матеріали I Міжнародної науково-практичної конференції „Розвиток сучасної освіти і науки: результати, проблеми, перспективи”*. – Дрогобич : Посвіт, 2013. – С. 23–26.

22. **Коваль Н. К.** Вплив гострого афлатоксикозу на процес пероксидного окиснення ліпідів та активність ферментів антиоксидантної системи в клітинах білих щурів / **Н. К. Коваль** / *Актуальні питання суспільно-природничих наук : міжвуз. зб. наук. праць молодих вчених Дрогобицького державного педагогічного університету імені Івана Франка*. – Дрогобич : Посвіт, 2013. – С. 60–66.

23. **Коваль Н. К.** Активність ферментів глутатіонової системи в клітинах білих щурів під впливом афлатоксину / **Н. К. Коваль**, М. Р. Досвядчинська, Г. Л. Антоняк // *Acta Carpathica*. – 2013. – № 7. – С. 233–238. *(Дисертантка провела визначення вмісту відновленого глутатіону та активності глутатіон-залежних ензимів у тканинах печінки, мозку та серцевого м'яза, опрацювала статистично отримані дані, написала статтю).*

24. **Коваль Н. К.** Біологічні ефекти афлатоксинів в організмі тварин і людини / **Н. К. Коваль** // Матеріали II Міжнародного Форуму нафтовиків „Шляхи подолання екологічних проблем на досвіді міст Західної Європи та України від тривалого використання надр”. – Борислав, 2013. – С. 85–90.

25. Антоняк Г. Дія біомаси дріжджів *Phaffia rhodozyma* на окремі показники метаболізму щурів за умов інтоксикації афлатоксином В<sub>1</sub> / Г. Антоняк, **Н. Гойванович** // Acta Carpathica. – 2014. – № 16. – С. 103–108. *(Дисертантка провела експериментальні дослідження, опрацювала статистично отримані дані, брала участь у написанні статті).*

26. **Гойванович Н.** Вплив препарату «Е-Селен» на вміст продуктів ПОЛ та стан антиоксидантної системи в клітинах щурів за експериментального афлатоксикозу / **Н. Гойванович**, Г. Антоняк // Acta Carpathica. – 2015. – № 23. – С. 127–132. *(Дисертантка провела експериментальні дослідження, опрацювала статистично отримані дані, написала статтю).*

27. **Гойванович Н.** Гриби-продуценти та джерела надходження афлатоксинів в організм тварин / **Н. Гойванович**, М. Гункевич / Розвиток сучасної освіти і науки: результати, проблеми, перспективи: тези III Міжнародної науково-практичної конференції молодих вчених (26–27 березня 2015 р.). – Дрогобич : Посвіт, 2015. – С. 15–16. *(Дисертантка проаналізувала та узагальнила дані про гриби-продуценти афлатоксинів, написала тези)*

28. **Гойванович Н. К.** Вміст афлатоксинів у харчових продуктах та їх вплив на здоров'я людини / **Н. К. Гойванович**, О. О. Волошанська / Валеологія: сучасний стан, напрямки та перспективи розвитку: тези доповідей XIV міжнародної науково-практичної конференції. – Харків : ХНУ ім. В. Каразіна, 2016. – С. 279–281. *(Дисертантка узагальнила дані про вміст афлатоксинів у харчових продуктах, їх нормування, написала тези)*

29. Антоняк Г. Л. Вплив афлатоксинів на здоров'я людини / Г. Л. Антоняк, **Н. К. Гойванович**, О. О. Волошанська. – Promoting healthy lifestyle: realities and prospects : monographic series. Volume 1; under the editorship of prof. N. V. Skotna – Drohobych : Publication Department at Drohobych Ivan Franko State Pedagogical University, 2016. – P. 241–250. *(Дисертантка проаналізувала та узагальнила відомості про випадки афлатоксикозу у людей, брала участь у написанні статті).*

## АНОТАЦІЇ

**Гойванович Н.К. Біохімічні механізми порушень метаболізму в тканинах тварин під впливом афлатоксину В<sub>1</sub> та їх корекція введенням антиоксидантів. – Рукопис.**

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.04. – біохімія. – Інститут біології тварин НААН, Львів, 2017.

У дисертаційній роботі досліджено вплив афлатоксину В<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>) на окремі ланки метаболізму у тканинах тварин; вивчено механізми детоксикації AFB<sub>1</sub> у тканинах печінки, головного мозку, нирок і серця в організмі щурів під час розвитку модельної AFB<sub>1</sub>-інтоксикації в різних дозах, досліджено

коригувальну дію антиоксидантів (біомаса дріжджів *Phaffia rhodozyma*, вітамін Е та препарат «Е-Селен»). Встановлено, що АFB<sub>1</sub> істотно впливає на процеси метаболізму в різних тканинах – печінки, головного мозку, нирок, серця. Введення АFB<sub>1</sub> різними способами (парентеральний і внутрішньошлунковий) та дозами призводить до пригнічення функціональної активності антиоксидантної системи та інтенсифікації процесів ПОЛ, що свідчить про провідну роль ліпопероксидації в патогенезі отруєння.

Експериментально підтверджено, що введення у раціон щурів біомаси *P. rhodozyma* упродовж 14-ти діб сприяє нормалізації супероксиддисмутазної активності та функціонального стану системи глутатіону (збільшення вмісту відновленого глутатіону, підвищення активності глутатіонредуктази, глутатіонпероксидази, глутатіонтрансферази) в тканинах печінки, головного мозку, нирок і серця.

З'ясовано, що у тканинах печінки, головного мозку, нирок і серця тварин, яким вводили афлатоксин В<sub>1</sub>, введення вітаміну Е та препарату «Е-Селен» сприяє покращенню показників функціонального стану системи глутатіону порівняно з показниками у дослідних групах на тлі АFB<sub>1</sub>-інтоксикації.

**Ключові слова:** афлатоксин В<sub>1</sub>, порушення метаболізму, печінка, головний мозок, нирки, серце, антиоксидантні ензими, антиоксиданти.

**Гойванович Н.К. Биохимические механизмы нарушений метаболизма в тканях животных под воздействием афлатоксина В<sub>1</sub> и их коррекция введением антиоксидантов. – Рукопись.**

Диссертация на соискание научной степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.04. – биохимия. – Институт биологии животных НААН, Львов, 2017.

В диссертационной работе исследовано влияние афлатоксина В<sub>1</sub> (АFB<sub>1</sub>) на отдельные звенья метаболизма в организме животных; изучены механизмы детоксикации АFB<sub>1</sub> в тканях печени, головного мозга, почек и сердца в организме крыс во время развития модельной АFB<sub>1</sub>-интоксикации в разных дозах, исследовано корректирующее действие антиоксидантов (биомасса дрожжей *Phaffia rhodozyma*, витамин Е и препарат «Е-Селен»).

Моделями токсического поражения животных служила острая и подострая интоксикация АFB<sub>1</sub> в разных дозах (однократно – 0,5 мг/кг массы; ежедневно – 0,025 мг/кг массы тела, 14 суток) и способах введения (парентеральный и внутрижелудочный).

Установлено, что АFB<sub>1</sub> существенно влияет на процессы метаболизма в исследуемых тканях – печени, головного мозга, почек, сердца. Введение АFB<sub>1</sub> разными способами и в разных дозах приводит к снижению функциональной активности антиоксидантной системы (супероксиддисмутазы, глутатионредуктазы, глутатионпероксидазы, глутатионтрансферазы) и интенсификации процессов ПОЛ, которые указывают на роль липопероксидации в патогенезе отравления. Однократное введение АFB<sub>1</sub> приводит к увеличению концентрации

ТБК-активных продуктов в исследуемых тканях на 14-е сутки в 1,44–3,28 раза ( $p < 0,01$ – $0,001$ ), а ежесуточное – в 1,72–1,93 раза ( $p < 0,05$ – $0,01$ ).

Показано, что введение АFB<sub>1</sub> приводит к снижению активности энзимов катаболизма моносахаридов (лактатдегидрогеназы и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы) во всех исследуемых тканях как при однократной, так и ежесуточной интоксикации. Определено, что АFB<sub>1</sub>-интоксикация влияет на процессы трансаминирования и уровень трансаминаз в плазме крови крыс опытных групп. Отмечено снижение активности аминотрансфераз в исследуемых тканях. В плазме крови белых крыс активность АлАТ и АсАТ увеличивается. Коэффициент Де Ритиса уменьшается в тканях печени и почек, что свидетельствует о нарушении проницаемости клеточных мембран на фоне АFB<sub>1</sub>-интоксикации.

Ежесуточное введение биомассы дрожжей *Phaffia rhodozyma* (1,5 г/кг массы тела) на фоне острой АFB<sub>1</sub>-интоксикации предопределяет уменьшение концентрации продуктов ПОЛ в тканях печени белых крыс и нормализует в тканях почек, головного мозга и сердца. После применения биомассы *P. rhodozyma* на 14-е сутки исследования происходит нормализация активности супероксиддисмутазы, глутатиопероксидазы и содержания восстановленного глутатиона в тканях почек, головного мозга и сердца крыс на фоне интоксикации афлатоксином В<sub>1</sub>. Активность глутатионредуктазы и глутатионтрансферазы нормализуется на протяжении исследований в тканях почек и сердца.

Установлено, что однократное введение крысам витамина Е (100 мг/кг массы тела) на фоне интоксикации АFB<sub>1</sub> снижало интенсивность процессов ПОЛ, повышало активность энзимов антиоксидантной системы на 7-е сутки эксперимента во всех исследуемых тканях. На 14-е сутки активность супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы, глутатионредуктазы, глутатионтрансферазы и содержимое восстановленного глутатиона уменьшались.

Экспериментально подтверждено, что однократное введение препарата «Е-Селен» (0,05 мл/кг массы тела) белым крысам на фоне интоксикации АFB<sub>1</sub>, способствовало снижению процессов липопероксидации, повышало активность энзимов антиоксидантной системы на 7-е сутки эксперимента во всех исследуемых тканях. На 14-е сутки активность супероксиддисмутазы, глутатионредуктазы, глутатионтрансферазы и содержимое восстановленного глутатиона уменьшались, активность глутатиопероксидазы – нормализовалась.

Практические рекомендации: в целях профилактики и коррекции нарушений метаболизма при интоксикации афлатоксином В<sub>1</sub> у животных рекомендовано ежесуточное скармливание дрожжей *Phaffia rhodozyma* в дозе 1,5 г/кг массы тела.

**Ключевые слова:** афлатоксин В<sub>1</sub>, нарушение метаболизма, печень, головной мозг, почки, сердце, антиоксидантные энзимы, антиоксиданты.



**Hoivanovych N.K. The biochemical mechanisms of metabolic disorders in animal tissues under the influence of aflatoxin B<sub>1</sub> and correction by antioxidants introducing. – Manuscript.**

Dissertation for the degree of candidate of biological sciences in specialty 03.00.04. – Biochemistry. – Institute of Animal Biology NAAS, Lviv, 2017.

The impact of aflatoxin B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>) on the certain parts of metabolism in animal tissues was studied in the thesis; the mechanisms of detoxification by AFB<sub>1</sub> in the liver tissue, brain, kidney and heart of rats during development model AFB<sub>1</sub>-intoxication in different doses were explored; antioxidants corrective action (the yeast biomass of *Phaffia rhodozyma*, vitamin E, «E-Selenium» preparation) was studied. It was found that AFB<sub>1</sub> significantly affects the metabolism in different tissues – liver, brain, kidneys, and heart. AFB<sub>1</sub>-introduction by different rouds (parenteral and intragastric) lead to the inhibition of functional activity of antioxidant system and to intensification of lypoperoxidation (LPO). The results indicate the important role of LPO in the pathogenesis of AFB<sub>1</sub> poisoning.

It was experimentally confirmed that the introduction of *P. rhodozyma* biomass in the diet of rats during 14 days contributes to normalization of functional state of glutathione system (GSH content, glutathione reductase, glutathione peroxidase, glutathione transferase) in the liver, brain, kidney and heart of rats. It was found that vitamin E and «E-Selenium» preparation contributed to the improvement of functional state of glutathione system compared to values specific to animals that were exposed to AFB<sub>1</sub>.

**Keywords:** aflatoxin B<sub>1</sub>, metabolism, liver, brain, kidneys, heart, antioxidant enzymes, antioxidants.

Підписано до друку 12.09.2017. Формат 60x84/16  
Гарн. Times New Roman. Папір офсетний.  
Ум. друк. арк. 0,9.  
Зам. № 310 Наклад 100 прим.

Друк ФОП Новожилов С.В.  
Д.Галицького, 1, м.Дрогобич, 82100  
тел. (0324) 410890  
[drukso@gmail.com](mailto:drukso@gmail.com)