

ISSN 0428-0296

# ФАРМАЦИЯ PHARMACIA

Том/Volume LVI

2009

Книжка/Number 1-4

## СПИСАНИЕ НА БЪЛГАРСКОТО НАУЧНО ДРУЖЕСТВО ПО ФАРМАЦИЯ

**Главен редактор:** Ст. Николов

**Секретар:** Ал. Златков

**Редакционна колегия:**

Зл. Димитрова, Св. Богданова, И. Иванов, Г. Китанов, И. Йонкова, Н. Данчев, Г. Петрова,  
Д. Обрешкова, Ст. Титева, И. Костадинова, Ф. Клерфьой, Е. Х. Хансен,  
М. Шефер, Р. Грьонинг, Л. Пистели, М. Унзета

## JOURNAL OF THE BULGARIAN PHARMACEUTICAL SCIENTIFIC SOCIETY

**Editor in Chief:** St. Nikolov

**Assistant Editor:** Al. Zlatkov

**Editorial Board:**

Zl. Dimitrova, Sv. Bogdanova, I. Ivanov, G. Kitanov, I. Jonkova, N. Danchev, G. Petrova, D. Obreshkova,  
St. Titeva, I. Kostadinova, F. Clerfeuille, E. H. Hansen, M. Schaefer,  
R. Gröning, L. Pistelli, M. Unzeta

**Адрес на редакцията**

Фармацевтичен факултет  
ул. "Дунав" 2, София 1000  
Факс (02) 987 987 4

Гл. редактор: ☎ (02) 987 987 4  
E-mail: snikolov@mbox.pharmfac.acad.bg

**Address of Editorial Board**

Faculty of Pharmacy  
2, Dunav str., Sofia 1000  
Fax (02) 987 987 4

Editor in Chief: ☎ (+359 2) 987 987 4  
E-mail: snikolov@mbox.pharmfac.acad.bg

## СЪДЪРЖАНИЕ

### Оригинални статии

<i>Ил. Кръстева, М. Йотова, И. Попов, П. Здравева и Ст. Николов.</i> Фитохимично изследване на листа и корени от <i>Gypsophila trichotoma</i> wend. чрез газ хроматография/маспектрометрия.....	3
<i>К. Йончева и Х. М. Ираче.</i> Приготвяне на аминок-пегилвани полианхидридни наночастици чрез метод на изместване на разтворителя .....	7
<i>Р. Николов, Я. Чекаларова, Д. Пехливанова, Л. Танчева, В. В. Петков и К. Якимова.</i> Ефекти на кофеина върху телесната температура на плъхове при норма и депресия .....	10
<i>В. Цанкова и Д. Стефанова.</i> Протективни ефекти на червеното вино върху микотоксин-индуцираната липидна пероксидация в модел на тъканни срезове от тънко черво на плъх .....	15
<i>В. Цанкова и Д. Стефанова.</i> Микотоксин повишава освобождаването на ензима алкална фосфатаза в модел на тъканни срезове от тънко черво на плъх .....	21
<i>М. Мичева, М. Кондева-Бурдина и В. Вичева.</i> Проучване на хепатотоксичността на цитизин (Tabex®) в сравнение с никотин в изолирани хепатоцити от плъх .....	27
<i>Г. Драганов, Ф. Рибарова и П. Пейков.</i> L-tyrosine съдържащи хранителни добавки – здравни претенции.....	33
<i>Т. Ангелов, Д. Обрешкова и В. Ташков.</i> Стабилизатори в лекарствата. подбор, употреба и действие .....	38
<i>И. Йонкова и П. Прохш.</i> От растението до лекарството: противотуморни агенти .....	45
<i>И. Миладинова и К. Йончева.</i> Полимерните мицели като нови лекарствени системи във фармацевтичната технология .....	57
<i>Б. Дудева.</i> Потребностите на студентите по фармация да общуват на английски език .....	62
<b>In memoriam</b> .....	69
<b>Информационен отдел</b> .....	71

## CONTENTS

### Original articles

<i>I. Krasteva, M. Yotova, I. Popov, P. Zdraveva and S. Nikolov.</i> Phytochemical study of leaves and roots of <i>Gypsophila trichotoma</i> wend. using gas chromatography – mass spectrometry .....	3
<i>K. Yoncheva and J. M. Iраche.</i> Preparation of amino-pegylated poly(anhydride) nanoparticles applying solvent displacement method .....	7
<i>R. Nikolov, Y. Chekalarova, D. Pehlivanova, L. Tancheva, V. V. Petkov and K. Yakimova.</i> Effect of caffeine on body temperature of rats in norm and depression.....	10
<i>V. Tsankova and D. Stefanova.</i> Red wine protects against mycotoxin-induced lipid peroxidation in rat precision-cut intestinal slices.....	15
<i>V. Tsankova and D. Stefanova.</i> Mycotoxin increases alkaline phosphatase release in rat precision-cut intestinal slices .....	21
<i>M. Micheva, M. Kondeva-Burdina and V. Vicheva.</i> Study on hepatotoxicity of cytosine (Tabex®) compared with nicotine in freshly isolated rat hepatocytes.....	27
<i>G. Draganov, F. Ribarova and P. Peykov.</i> L-tyrosine containing food supplements – health claims .....	33
<i>T. Angelov, D. Obreshkova and W. Tashkov.</i> Drug preservatives: selection, use and action.....	38
<i>I. Ionkova and P. Proksch.</i> From planta to pharmaca: anticancer agents.....	45
<i>I. Miladinova and K. Yoncheva.</i> Polymeric micelles as new drug delivery systems in pharmaceutical technology.....	57
<i>B. Dudeva.</i> On the needs of pharmacy students to communicate in english: a study.....	62
<b>In memoriam</b> .....	69
<b>Informasion section</b> .....	74

ФАРМАЦИЯ 1-4/2009

ISSN 0428-0296

УДК 615

Организационен секретар и стилов редактор *Св. Цветанова*  
Корекция *Св. Цветанова*  
Терминологичен и семантичен контрол *д-р Б. Станчева*  
Форматиране *О. Маркова*

Подписана за печат на 01.03.2010 г.  
Печатни коли 9.5, формат 60 x 90/8

Централна медицинска библиотека  
1431 София, ул. „Св. Г. Софийски” № 1, тел. 952-16-45, Fax: 851 82 65  
e-mail: svetlamu@mail.bg

## МИКОТОКСИН ПОВИШАВА ОСВОБОЖДАВАНЕТО НА ЕНЗИМА АЛКАЛНА ФОСФАТАЗА В МОДЕЛ НА ТЪКАННИ СРЕЗОВЕ ОТ ТЪНКО ЧЕРВО НА ПЛЪХ

В. Цанкова и Д. Стефанова

Катедра „Фармакология, фармакотерапия и токсикология“, Фармацевтичен факултет,  
Медицински университет – София

**Резюме.** Тънките черва са важно място, в което се извършва метаболизмът и/или детоксикацията на много ксенобиотици, включително и на попаднали в организма чрез хранителната диета. Микотоксинът зеараленон е контаминант в храни, консумирани както от животни, така и от хора. Токсичността на зеараленон се свързва с предизвикване на оксидативен стрес и отключване на процесите на липидна пероксидация. В настоящото изследване са проследени ефектите на зеараленон върху освобождаването на ензима алкална фосфатаза като маркер за жизнеността на тъканни срезове от тънки черва, приготвени по метода „precision-cut“. На 24-тия час от инкубацията микотоксинът повишава статистически значимо освобождаването на ензима алкална фосфатаза. Проследени са и протективните ефекти на червеното вино върху зеараленон-индуцираната токсичност. При преинкубация на срезовете с червено вино зеараленон не повишава значимо освобождаването на ензима алкална фосфатаза. Червеното вино проявява протективен ефект спрямо токсичността, предизвикана от зеараленон *in vitro*.

**Ключови думи:** тъканни срезове от тънки черва, алкална фосфатаза, микотоксин, червено вино

## MYCOTOXIN INCREASES ALKALINE PHOSPHATASE RELEASE IN RAT PRECISION-CUT INTESTINAL SLICES

V. Tsankova and D. Stefanova

Department of Pharmacology, Pharmacotherapy and Toxicology, Faculty of Pharmacy,  
Medical University – Sofia

**Summary.** Small intestine is an important place for metabolism and/or detoxification of many xenobiotics and foods. Zearalenone is a contaminant in cereal foods consumed by animals and humans. Zearalenone toxicity is associated with induction of oxidative stress, lipid peroxidation and glutathione depletion. The effects of zearalenone on alkaline phosphatase release were studied in precision cut intestine slices. Alkaline phosphates release is valued as a marker for viability of the tissues. A statistically significant increase in the enzyme release was found at the 24th hour of incubation with the mycotoxin. Additionally, we studied the protective effects of red wine on zearalenone-induced toxicity. When tissue slices were preincubated with red wine, zearalenone did not increase significantly the release of the enzyme alkaline phosphatase. Red wine shows a protective effect against zearalenone-induced increase in alkaline phosphatase release *in vitro*.

**Key words:** precision cut intestinal slices, alkaline phosphatase, mycotoxin, red wine

### Въведение

Тънките черва имат значително участие в метаболитните и детоксикационни процеси, въпреки че черният дроб се смята за основния метаболизиращ орган. Те играят важна роля в метаболизма на ксенобиотици благодарение на високата концентрация на лекарство-метаболизиращи ензими. Използването на тъканни срезове от тънки черва, приготвени по метода „precision-

cut“, представлява добър експериментален модел за проучаване на метаболизма и токсичността на ксенобиотиците [15].

Зеараленон (ZEA) е широко разпространен микотоксин, синтезиран главно от гъби, принадлежащи към род *Fusarium* [3, 11]. Той проявява различни токсични ефекти при животни и е вероятен причинител на заболявания при хора [2, 4, 5, 12, 13, 16]. След перорален прием ZEA се

резорбира сравнително бързо и може да се метаболизира от тънките черва при плъхове, свине и хора [14]. Много изследвания доказват, че ZEA причинява оксидативен стрес посредством индуциране на появата на високореактивни кислородни продукти, липидна пероксидация и деплация на редуциран глутатион [1, 6].

Червеното вино съдържа голямо количество полифенолни съединения. Флавоноидите играят важна роля като антиоксиданти. Техният ефект се проявява чрез "прихващане" на реактивните кислород-съдържащи групи, като по този начин се намалява образуването на свободни радикали и се предотвратява процесът на липидна пероксидация. В този аспект, флавоноидите биха могли да бъдат полезни срещу процесите на оксидативен стрес, индуциран от някои токсични контаминанти в хранителната диета, като микотоксините [17].

Цел на настоящото изследване бе да се направи оценка на ефектите на микотоксина зеараленон върху освобождаването на ензима алкална фосфатаза, като маркер за жизнеността на тъканни срезове от тънко черво на плъх. На следващ етап бяха проведени експерименти с цел проучване на възможната протекция от страна на червеното вино, като компонент от хранителната диета, съдържащо полифенолни вещества с доказани антиоксидантни свойства спрямо ZEA-индуцираната токсичност.

### Материал и методи

**Реактиви.** Използвани са: инкубационна среда RPMI 1640, телешки фетален серум FCS (fetal calf serum) (BioWhittaker, Cambrex, Belgium), Zearenone (Sigma – Aldrich), BSA (Sigma – Aldrich). Всички останали вещества, използвани в експериментите, са закупени от Sigma – Aldrich и са за аналитични цели.

В експериментите за проследяване на протективните ефекти на виното върху токсичността на ZEA е използвано натурално вино от областта Montalcino, Италия, реколта 2002, получено от фирмата Banfi srl, Montalcino, Siena. Тъканните срезове са инкубирани за различни периоди от време (0-24 часа) в инкубационна среда, в присъствие червено вино, разрежено 1:10 (крайна концентрация на алкохол в пробите 1.5%).

**Експериментални животни.** Използвани са мъжки плъхове от линията „Sprague-Dawley” с тегло 200-400 g (Charles River, Italy). Животните

са отглеждани при стандартни условия с достъп до храна и вода *ad libitum*. Шестнадесет часа преди експериментите е отнет достъпът до храна. След екстракцията тънкото черво се поставя в леденостуден физиологичен разтвор.

**Приготвяне на тъканни срезове от тънко черво по метода „precision-cut slices”.** Тънкото черво се отделя, премахва се дуоденумът и се промива трикратно с леденостуден физиологичен разтвор [8]. Така полученият отрязък се разделя на две равни части от 12,5 cm за приготвяне на срезове.

Сегментите за срезовете се приготвят по техниката „agarose – filled and – embedded intestines”. Чревните сегменти се пълнят с 3% разтвор на агароза и краищата им се фиксират здраво. Сегментите се поставят за 15 min в леденостуден (4°C) Krebs-Henseleit буфер (pH = 7.4, предварително наситен с карбоген), за да се желира разтворът на агароза. Нарязват се на парченца с големина 1 cm и всяко едно се поставя вертикално в средата на ямкова микроплака. Около него внимателно се поставя отново 3% агарозен разтвор до желиране. Получените по този начин цилиндри (16 mm) са готови да бъдат нарязани с помощта на апарата – Krumdieck tissue slicer (Alabama R&D, Munsford, USA), съхраняван при 4°C. Интестиналните срезове с дебелина 400-450  $\mu\text{m}$  се отделят от агарозата и са готови за инкубация.

**Инкубация на интестиналните срезове.** За експерименталната постановка са необходими по 6 среза за всяка инкубация на два, шест и двадесет и четири часа. Получените срезове се инкубират при 37°C и контролирана влажност в ямкови микроплаки (AP Wyott, Baltimore, MD), съдържащи 0,5 ml инкубационен разтвор. След приключване на инкубационното време срезовете от всяка микроплака се промиват и се суспендират в 1 ml хомогенизационен буфер. Хомогенизират се с ултразвук чрез Potter – Elvehjem homogenizer.

**Оценка на жизнеността на срезовете.** Алкалната фосфатаза е определена в инкубационната среда и в съответните хомогенати от срезове по метод, описан от Van de Kerkhof [7]. Хомогенатът се получава при хомогенизиране на един срез в 500  $\mu\text{l}$  от 0.05M 2-amino-2-methyl-1,3-propanediol (буфер, pH 9.8, T = 4°C) с помощта на електрически хомогенизатор ултратуракс. 12.5  $\mu\text{l}$  от хомогената или 37.5  $\mu\text{l}$  от инкубационната среда са поставени в буфера, съдържащ

MgCl<sub>2</sub> (2 mM). Към реакционната смес се добавят 250 µl para-nitrophenylphosphate (1.25 mM) до получаване на краен обем от 1 ml. Пробите са инкубирани за 40 min при 37°C. Реакцията се прекратява с добавянето на 200 µl NaOH 1N. Определянето на активността на алкалната фосфатаза се основава на определянето на паранитрофенола, който се образува от субстрата пара-нитрофенилфосфат под действието на ензима алкална фосфатаза. Спектрофотометричното определяне се извършва при дължина на вълната  $\lambda = 405$  nm. Количеството на освободения ензим алкална фосфатаза се изразява като процент от ензима, отделен в инкубационната среда, отнесен към общото количество на ензима.

**Определяне на тъканния белтък.** Срезове се хомогенизират и съдържанието на протеини се определя спектрофотометрично по метода на Lowry и сътр. [12]. Стандартната крива е построена с пряко приготвени разтвори на BSA (bovine serum albumin).

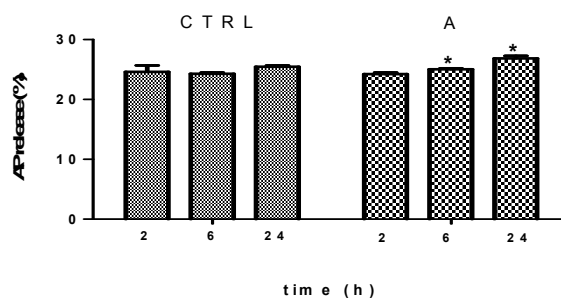
**Статистическа обработка на резултатите.** Статистическата оценка на резултатите е извършена чрез Student's t-test, като стойности на  $p \leq 0.05$  са приети за статистически значими.

## Резултати

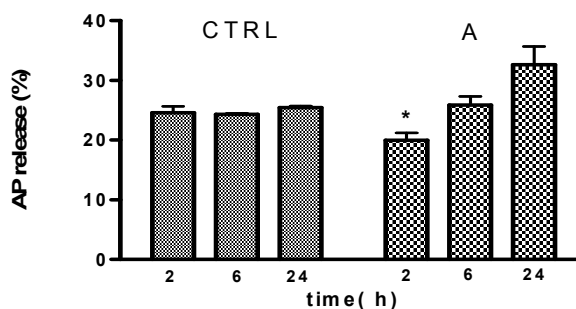
Алкалната фосфатаза е ензим, който се освобождава в инкубационната среда при некротични процеси, засягащи клетките на интестиналната мукоза. Жизнеността на тъканните срезове от тънко черво на плъх е определяна чрез измерване на активността на маркерния ензим алкална фосфатаза.

Представени са ефектите на етанол (3%) (фиг. 1A) като разтворител на ZEA и на червено вино (фиг. 1B) върху освобождаването на ензима алкална фосфатаза от тъканни срезове от тънко черво в инкубационната среда. Проведена е инкубация до 24 часа, а ензимът е определян на 2-рия, 6-ия, и 24-тия час от инкубацията. Получените резултати показват, че етанол, използван в концентрация 3%, предизвиква статистически значимо освобождаване на ензима от тъканните препарати след 6-ия час (фиг. 1A). Между 2-рия и 6-ия час не се наблюдава ефект на разтворителя, сравнено с нетретираните контроли. В присъствие на червено вино жизнеността се запазва до 24-тия час от инкубацията (фиг. 1B). Нещо повече, червеното вино намалява статистически значимо освобождаването на ензима алкална

фосфатаза на 2-рия час от инкубацията, докато на 6-ия и 24-тия час не се наблюдава разлика спрямо нетретираната контрола. Направихме сравнителна оценка на ефектите на етанол и на червено вино върху показателя жизненост на препаратите (фиг. 2). Резултатите показват, че червеното вино повишава жизнеността на тъканните препарати на 2-ия час от инкубацията, докато не се наблюдава статистическа значимост на данните на 6-ия и на 24-тия час, сравнено с ефектите на етанол.



1A – CTRL: контролна проба от тъканни срезове, инкубирани в среда RPMI; A: срезове, третирани с етанол (3%)

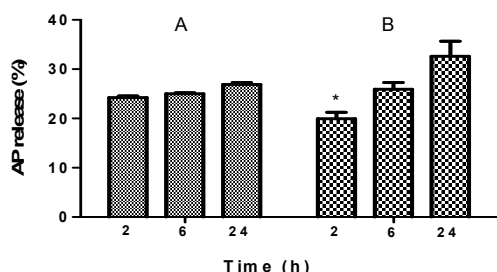


1B – CTRL: контролна проба от тъканни срезове, инкубирани в среда RPMI; A: срезове, третирани с червено вино (1:10)

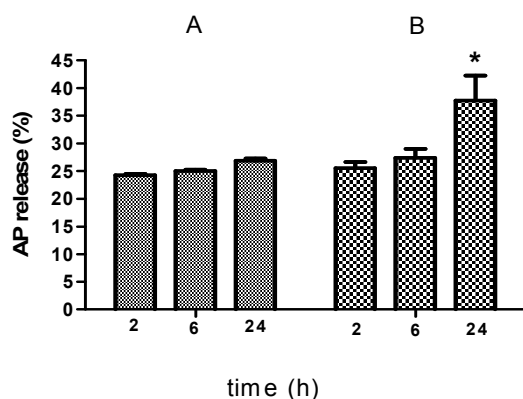
**Фиг. 1.** Ефект на етанол (1A) и червено вино (1B) върху освобождаването на ензима алкална фосфатаза (AP release %) в тъканни срезове от тънко черво, приготвени по метода "precision-cut". Представени са резултатите  $\pm$  SEM от 3 експеримента, както е описано в „Материал и методи“, \* $p \leq 0.05$

За да се установят ефектите на токсина върху жизнеността на тъканните срезове, те са инкубирани в присъствие на ZEA (240 µM) за 2, 6 и 24 часа. Контролните проби в тези експерименти съдържат етанол в концентрации, съответстващи на концентрациите на разтворителя в пробите със ZEA (фиг. 3). Токсичният ефект на ZEA е установен чрез повишаване на активността на освободения ензим алкална фосфатаза, което свидетелства за понижаване на жизнеността на

тъканните препарати. Статистическа значимост в повишаване на количеството на освободения ензим алкална фосфатаза се отчита на 24-тия час от инкубацията.



**Фиг. 2.** Сравнение на ефектите на етанол и червено вино върху освобождаването на ензима алкална фосфатаза (AP release %) в тъканни срезове от тънко черво, приготвени по метода "precision-cut". **A:** срезове, третирани с етанол (3%); **B:** срезове, третирани с червено вино (1:10). Представени са резултатите  $\pm$  SEM от 3 експеримента, както е описано в „Материал и методи“ \* $p \leq 0.05$

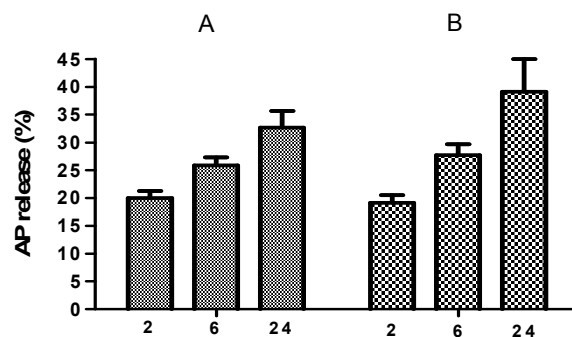


**Фиг. 3.** Ефект на микотоксина ZEA върху освобождаването на ензима алкална фосфатаза (AP release %) **A:** Срезове, третирани с етанол (3%); **B:** Срезове, третирани със ZEA. Представени са резултатите  $\pm$  SEM от 3 експеримента, както е описано в „Материал и методи“ \* $p \leq 0.05$

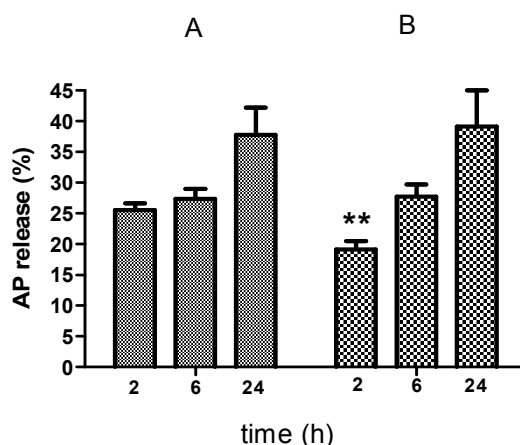
Възможен протективен ефект на червеното вино върху токсичността, предизвикана от ZEA, бе проучен в експерименти, в които тъканните срезове са разделени в 2 групи: контролна, преинкубирана с червено вино, и група, преинкубирана с червено вино и последващо добавяне на ZEA (фиг. 4). След преинкубацията с червено вино ZEA не повишава статистически значимо освобождаването на ензима алкална фосфатаза. Този ефект е особено изразен на 24-тия час, когато ZEA-индуцираната токсичност е най-силно проявена (фиг. 3). Червеното вино проявява протективен ефект спрямо токсичността, предизвикана от ZEA in vitro.

Проведен бе друг експеримент с цел установяване на възможен протективен ефект на чер-

веното вино на фона на ZEA-предизвикана токсичност. Тъканните срезове бяха разделени в 2 групи: контролна, третирана със ZEA, и група със ZEA, в която е добавено червено вино (фиг. 5). Червеното вино понижава количеството на освободената в инкубационната среда алкална фосфатаза на 2-рия час от инкубацията, сравнено с пробите със ZEA. Трябва да се отбележи, че на 24-тия час от инкубацията, в присъствие на червено вино в инкубационната смес, ZEA не понижава статистически значимо жизнеността на тъканните препарати, за разлика от ефектите му при самостоятелно приложение.



**Фиг. 4.** Ефекти на преинкубация с червено вино върху ZEA-индуцираното понижаване на жизнеността на тъканните препарати. **A:** срезове, преинкубирани с червено вино (1:10); **B:** срезове, преинкубирани с червено вино (1:10) + ZEA. Представени са резултатите  $\pm$  SEM от 3 експеримента, както е описано в „Материали и методи“. \* $p \leq 0.05$



**Фиг. 5.** Ефекти на червеното вино върху ZEA-индуцираното освобождаване на ензима алкална фосфатаза (AP release %). **A:** срезове, третирани със ZEA; **B:** срезове, третирани с червено вино (1:10) и ZEA. Представени са резултатите  $\pm$  SEM от 3 експеримента, както е описано в „Материал и методи“ \* $p \leq 0.05$

### Обсъждане

Зеараленон, микотоксин от рода *Fusarium*, е контаминант в много зърнени култури, които се срещат в хранителната диета както на хора, така и на животни. Контаминацията на храните с този микотоксин може да причини токсични ефекти, в основата на които са процесите на образуване на свободни радикали, и като следствие оксидативен стрес и перекисно окисление на липидите. В многобройни проучвания са установени антиоксидантните свойства на червеното вино. С настоящото изследване проследихме токсичния ефект на микотоксина зеараленон върху жизнеността на тъканните срезове, приготвени по метода „precision-cut”. На следващ етап бяха проведени експерименти за проследяване на протективните ефекти на червеното вино спрямо зеараленон-индуцираната токсичност.

Тъканни срезове от тънко черво на плъх представяват добър модел за проучване на токсичността на химични вещества. Съставът на инкубационната среда може да окаже влияние върху качеството на препаратите. Важно условие при избора на средата е компонентите, които тя съдържа, да не интерферират с резултатите от експериментите и да не намаляват токсикологичния риск. На базата на наши предварителни експерименти бе избрана инкубационната среда RPMI 1640, която е подходяща за оценка на токсикологичния риск.

В началната серия от експерименти бе оценена жизнеността на срезовете от тънко черво, приготвени по метода „precision-cut”, бе проведена инкубация за 24-часов интервал. Оценката е направена чрез определяне на количеството на освободения в инкубационната среда ензим алкална фосфатаза на 2-рия, 6-ия и 24-тия час от инкубацията. Алкалната фосфатаза е ензим, който се освобождава в средата при некротични процеси, засягащи клетките на интестиналната мукоза.

За да изследваме влиянието на етанол върху освобождаването на ензима алкална фосфатаза (разтворител на ZEA), тъканните препарати са инкубирани в присъствие и отсъствие на етанол (3%). Определяно е количеството на освободения ензим алкална фосфатаза на 2-рия, 6-ия и 24-тия час. Получените резултати показват, че етанол, използван в концентрация 3%, предизвика статистически значимо освобождаване на ензима от тъканните препарати на 6-ия и на 24-тия час. На 2-рия час не се наблюдава ефект на разтворителя, сравнено с нетретирани контроли.

В следваща серия от експерименти е проследен ефектът на микотоксина ZEA. Токсичният ефект е установен с понижаване на жизнеността на тъканните срезове спрямо инкубираните в отсъствие на токсина. Статистическа значимост се отчита на 24-тия час от инкубацията. Контролните проби в тези експерименти съдържат етанол в концентрации, съответстващи на разтворителя в пробите със ZEA. Анализът на резултатите показва, че понижаването на жизнеността на тъканните срезове се дължи на ZEA, а не на присъствието на етанол.

В експеримент с идентичен дизайн е определен ефектът на червеното вино върху жизнеността на тъканните препарати. Червеното вино е използвано след разреждане 1:10 (описано в „Материал и методи”). При това разреждане крайната концентрация на етанол в пробите е не по-висока от 1,5%, което не влияе върху жизнеността на срезовете. Трябва да отбележим, че тази концентрация е по-ниска от концентрацията, която нормално се открива в тънките черва след прием на червено вино [10].

Установихме, че в присъствие на червено вино жизнеността се запазва до 24-тия час от инкубацията. Нещо повече, червеното вино намалява статистически значимо освобождаването на ензима алкална фосфатаза на 2-рия час от инкубацията, докато на 6-ия и 24-тия час не се наблюдават разлики спрямо нетретирани контроли. Тези резултати показват, че червеното вино има протективен ефект и повишава жизнеността на тъканните препарати до 2-рия час от инкубацията, сравнено с нетретирани контроли.

ZEA повишава освобождаването на ензима алкална фосфатаза, като статистически значимо това се установява на 24-тия час от инкубацията, което потвърждава ефектите на токсичност. На следващ етап беше извършена серия от експерименти с цел установяване на възможен протективен ефект на червеното вино на фона на ZEA-предизвиканата токсичност. В тези експерименти контролите бяха преинкубирани с червено вино, а другите тъканни препарати – с червено вино и ZEA. Резултатите показват, че при преинкубация с червено вино ZEA не повишава значимо освобождаването на ензима алкална фосфатаза. Червеното вино проявява протективен ефект спрямо токсичността, предизвикана от ZEA *in vitro* в тъканни срезове от тънко черво на плъх.

**Благодарности.** Деница Стефанова бе стипендиант по програма Erasmus на Медицинския университет – София, във Факултета по фармация на Университета в Сиена.

#### Библиография

1. Abid-Essefi, S. et al. Cytotoxicity, inhibition of DNA and protein syntheses and oxidative damage in cultured cells exposed to zearalenone. – *Toxico. In Vitro*, **18**, 2004, 467-474.
2. Creppy, E. E. Update of survey, regulation and toxic effects of mycotoxins in Europe. – *Toxicol. Lett.*, **127**, 2002, 19-28.
3. Dawlatana, M. et al. The occurrence of mycotoxins in key commodities in Bangladesh: surveillance results from 1993 to 1995. – *J. Nat. Toxins.*, **11**, 1995, 379-386.
4. Gelderblom, W. C. A. et al. Fumonisin-novel mycotoxins with cancer promoting activity produced by *Fusarium moniliforme*. – *Appl. Environ. Microbiol.*, **54**, 1998, 1806-1811.
5. Kuiper-Goodman, T., P. M. Scott et H. Watanabe. Risk assessment of mycotoxins zearalenone. – *Regul. Toxicol. Pharmacol.*, **7**, 1987, 253-306.
6. Kouadio, J. H. et al. Comparative study of cytotoxicity and oxidative stress induced by deoxynivalenol, zearalenone or fumonisin B1 in human intestinal cell line Caco-2. – *Toxicology*, **213**, 2005, 56-65.
7. Van de Kerkhof, E. G. et al. Characterization of rat small intestinal and colon precision – cut slices as an in vitro system for drug metabolism and induction studies. – *Drug Metab. Disposition*, **33**, 2005, 1613-1620.
8. Lacombe, O. et al. Localization of drug permeability along the rat small intestine, using markers of the paracellular, transcellular and some transporter routes. – *Eur. J. Pharm. Sci.*, **23**, 2004, 385-91.
9. Levitt, M. D. et al. Use of measurements of ethanol absorption from stomach and intestine to assess human ethanol metabolism. – *Am. J. Physiol.*, **273**, 1997, G951-7.
10. Lowry. Protein measurement with the Folin phenol reagent. – *J. Biol. Chem.*, **193**, 1951, 265.
11. Magan, M. et al. Relationship between growth and mycotoxins production by *Fusarium* species, biocides and environment. – *Eur. J. Plant. Pathol.*, **108**, 2002, 685-690.
12. Mirocha, C. J. et C. M. Christensen. Oestrogenic mycotoxins synthesized by *Fusarium*. – In: Purchase, I.F.H. (Ed.), *Mycotoxins*. Elsevier, New York, 1974, 129-148.
13. Marasas, W. F. O. et al. Leukoencephalomalacia in a horse induced by fumonisin B1 isolated from *Fusarium moniliforme*. – *Onderstepoort J. Vet. Res.*, **55**, 1998, 197-203.
14. Olsen, M., H. Pettersson et K. H. Kiessling. Reduction of zearalenone to zearalenol in female rat liver by 3 alpha-hydroxysteroid dehydrogenase. – *Acta Pharmacol. Toxicol. (Copenh)*, **48**, 1981, 157-161.
15. Parrish, A. R., A. J. Gandolfi et K. Brendel. Precision-cut tissue slices: applications in pharmacology and toxicology. – *Life Sci.*, **57**, 1995, 1887-1901.
16. Rotter, B. A., D.B. Prelusky et J. J. Pestka. Toxicology of deoxynivalenol (vomitoxin). – *J. Toxicol. Environ. Health*, **48**, 1996, 1-34.
17. Watkins, B. A. et al. Dietary PUFA and flavonoids as deterrents for environmental pollutants. – *J. Nutritional Biochem.*, **18**, 2006, 196-205.

#### ✉ Адрес за кореспонденция:

В. Цанкова  
Катедра по фармакология и токсикология  
Фармацевтичен Факултет  
Медицински университет  
ул. „Дунав“ № 2  
1000 София  
☎ 35929236524  
e-mail: virginia\_tzankova@yahoo.com

#### ✉ Address for correspondence:

Virginia Tzankova  
Department of Pharmacology and Toxicology  
Faculty of Pharmacy  
2, Dunav Str.  
1000 Sofia  
Bulgaria  
☎ 35929236524  
e-mail: virginia\_tzankova@yahoo.com