

УДК 577.127.3: 616.036.12

Єршова О.М.

АДАПТАЦІЙНІ МОЖЛИВОСТІ БІОМАСИ ШТАМІВ СПІРУЛІНИ НА ФОНІ ХРОНІЧНОГО СТРЕСУ У МОЗКУ ЩУРІВ

Одеський національний університет ім. І.І. Мечникова
e-mail: lmKarpov@onu.edu.ua

Ключові слова: хронічний стрес, спіруліна, перекисне окислення ліпідів, глутатіонредуктаза, щури.

У сучасному світі людина дуже часто знаходиться у стані хронічного стресу. У зв'язку з цим, є актуальною проблема пошуку нових джерел речовин з антиоксидантними властивостями. Останнім часом увагу дослідників привертає біомаса синьо-зелених водоростей із роду *Spirulina* [2]. Встановлено антиоксидантну дію біомаси спіруліни при використанні її як у якості лікувальних так і профілактичних засобів при дії ряду екстремальних факторів та при багатьох патологіях [10, 3]. При вивченні складу та властивостей компонентів біомаси спіруліни встановлено, що сильна антиоксидантна дія спіруліни обумовлена великим комплексом речовин – це вітаміни, ароматичні та сірковмісні амінокислоти, фікобіліпротеїни, каротиноїди, хлорофіл «а», полісахариди та ін. [8]. Показано також, що основним антиоксидантом серед них є фікобіліпротеїн – с-фікоціанін, який здатний знешкоджувати гідроксильні та пероксильні радикали [12]. Враховуючи потенційні можливості природних штамів спіруліни в нашій лабораторії селекційно-генетичним шляхом були отримані нові штами *Spirulina platensis* – 27G та 198B, які на відміну від дикого штаму мали підвищений вміст компонентів з антиоксидантною дією: с-фікоціаніну, алофікоціаніну, каротиноїдів, хлорофілу «а», сірковмісних амінокислот, фенілаланіну [4]. Антиоксидантні властивості біомаси штамів 27G та 198B у порівнянні з біомасою батьківського штаму дикого типу при застосуванні їх в якості лікувального засобу були вивчені нами в серці та еритроцитах щурів на моделі хронічного стресу [6].

Одним з можливих механізмів швидкої реакції на стрес є активація перекисного окислення ліпідів (ПОЛ), внаслідок чого порушується рівновага між прооксидантною та антиоксидантною системами, що, в свою чергу, потребує нормалізації цього процесу.

Тому, крім процесів вільно-радикального окислювання в клітинах в умовах дії різних агентів звичайно вивчають і активність ферментів антиоксидантного захисту, тому що їх показники перебувають у постійній взаємозалежності один від одного. Збалансованість між рівнем перекисного окислення ліпідів і антиоксидантним захистом є необхідною умовою для підтримки нормальної життєдіяльності клітини. Зміщення цієї рівноваги є однією з перших неспецифічних ланок у розвитку патології і може служити тією біологічно важливою зміною внутрішнього середовища клітини, що запускає інші механізми захисту [1].

Мета даної роботи – порівняти вплив біомаси штаму дикого типу (ДТ) *Spirulina platensis* та його мутантних штамів 198В та 27G на фоні хронічного стресу на швидкість перекисного окислювання ліпідів, а також на активність антиоксидантного ферменту глутатіонредуктази (ГР) в мозку щурів для пошуку можливостей зменшення його наслідків.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Експеримент проводили на 40 білих безпородних самцях щурів вагою 180 – 200 г, поділених на 5 груп по 8 тварин у кожній: 1 група – інтактні тварини; 2 група – тварини, яким внутрішньошлунково протягом 2-х тижнів щодобово вводили фізіологічний розчин (ФР) в об'ємі 2 мл за допомогою зонду; 3, 4, 5 групи – тварини, що отримували біомасу штамів спіруліни ДТ, 198В і 27G відповідно. Біомасу спіруліни розчиняли у ФР (по 250 мг сухої речовини на кг маси щурів) і також щодобово вводили внутрішньошлунково за допомогою зонду в об'ємі 2 мл. Тварин, після наркотизації хлороформом, забивали через два тижні від початку досліду за загально прийнятою методикою. Гомогенати мозку щурів готували, як описано в [7].

Вміст малонового діальдегіду визначали за допомогою тіобарбітурової кислоти, як описано в [9]. Глутатіонредуктазну активність в гомогенатах досліджуваних органів вимірювали по швидкості окислення відновленого НАДФН₂ у реакційному середовищі (100 мМ Na-K-фосфатний буфер, рН 6,6; 0,075 мМ глутатіон окислений, 0,063 мМ НАДФН₂, ферментний препарат). Реакцію ініціювали окисленим глутатіоном. Динаміку зменшення концентрації НАДФН₂ реєстрували на протязі 5 хв при λ 340 нм [7].

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ І ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Раніше при проведенні дослідження нами було встановлено, що процедура введення щурам внутрішньошлунково ФР викликає в них стан, подібний до хронічного стресу [6]. В результаті цього кількість

кінцевого продукту ПОЛ – малонового діальдегіду в мозку щурів збільшувалася в 1,3 рази в порівнянні з інтактними тваринами, що свідчить про інтенсифікацію вільно-радикального процесу. Всі три штами спіруліни достовірно зменшували дію хронічного стресу: дикий тип і штам спіруліни 198В – в 1,15 і в 1,43 рази відповідно, штам 27G – в 1,3 рази (рис. 1). Найбільш уповільнює процес вільно-радикального окислювання біомаса штамів спіруліни 198В та 27G і, таким чином, мають найбільшу антиоксидантну дію.

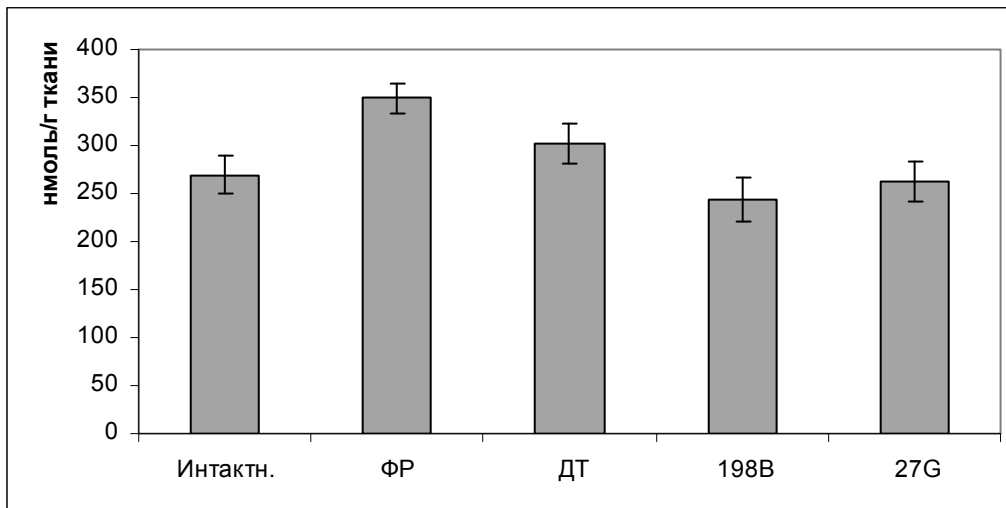


Рис. 1. Вміст малонового діальдегіду в мозку щурів на фоні хронічного стресу та прийому біомаси штамів спіруліни.

Спіруліна містить речовини антиоксидантного ряду (бета-каротин, фікобіліпротеїни, глутатіон, глютамінову кислоту, селен, супероксиддисмутазу) і завдяки оптимальному співвідношенню ненасичених і насичених жирних кислот забезпечує високу антиоксидантну й мембранопротекторну активність [11]. Біомаса мутантних штамів 198В і 27G має більш сильну антиоксидантну дію, ніж традиційно використовувана біомаса штаму ДТ. Імовірно, це пов'язано з тим, що обидва штами відрізняються підвищеним вмістом компонентів, які мають антиоксидантну дію: сірковмісних амінокислот, фенілаланіну, а також пігментів – *c*-фікоціаніну, алофікоціаніну і хлорофілу *a*, а штам 198В – ще й підвищеним вмістом каротиноїдів [5].

Дослідження активності глутатіонредуктази в мозку тварин, які перебували в стані хронічного стресу після процедури введення ФР показало (рис. 2), що активність цього ферменту знижувалась в 1,3 рази в порівнянні з інтактною групою тварин. Після додавання в раціон щурів біомаси різних штамів спіруліни активність цього антиоксидантного ферменту підвищувалась. Так, ГР активність

зростала у групах, які одержували біомасу штамів спіруліни ДТ, 198В та 27G в 1,1, в 1,25, та в 1,2 рази відповідно. В тих групах, де найбільш зростала активність глутатіонредуктази – знижувався рівень вільних радикалів.

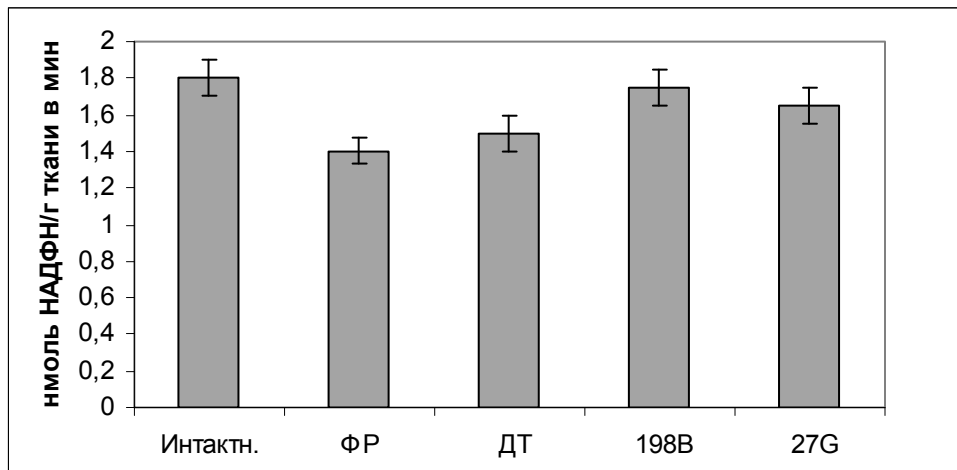


Рис. 2. Активність глутатіонредуктази в мозку щурів на фоні хронічного стресу та прийому біомаси штамів спіруліни.

Можна припустити, що активність глутатіонредуктази зростає за рахунок того, що до складу синьо-зеленої водорості входить потужний антиоксидант глутатіон, і, можливо, за рахунок додаткового синтезу даної речовини з цистеїну, вміст якого в використаних штаммах значно підвищений. Це, у свою чергу, ймовірно, впливало і на активність глутатіонредуктази, оскільки глутатіон є субстратом цього антиоксидантного ферменту.

ВИСНОВКИ

1. Тривале внутрішньошлункове введення ФР викликає посилення процесу утворення вільних радикалів в мозку щурів.
2. Додавання до раціону щурів біомаси всіх штамів спіруліни виявляє їх антиоксидантні властивості:
 - а) пригнічення процесу вільно-радикального окислювання;
 - б) активацію глутатіонредуктази.
3. Найбільш виражені адаптаційні можливості в мозку щурів виявлено у мутантних штамів 198В і 27G.

ЛІТЕРАТУРА

1. Барабой В.А. Механизмы стресса и перекисное окисление липидов // Успехи соврем. биол. – 1991. – Т. 111. – Вып. 6. – С. 923-932.
2. Блинкова Л.П., Горобец О.Б., Батуро А.П. Биологическая активность спирулины // Микробиология, эпидемиология, иммунология. – 2001. – Вып. 2. – С. 114-118.

3. Горбань Е.Н., Юрженко Н.Н., Брюзгина Т.С., Купраш Л.П., Донцова Л.Н. Антиоксидантные свойства спирулины // Вестник гигиены и эпидемиологии. – 2002. – Т. 6, вып. 1. – С. 25-27.
4. Каракіс С.Г., Драгоева О.Г., Лавренюк Т.І., Сагариц В.А., Карпов Л.М. Селекція мутантних штамів *Spirulina platensis* з підвищеним вмістом метіоніну в біомасі // Вісник Одеського національного університету. – 2005. – Т. 10, вип. 3. – С. 55-62.
5. Каракис С.Г., Карпов Л.М., Драгоева Е.Г., Лавренюк Т.И., Сагариц В.А., Марченко В.С. Биохимический состав биомассы штаммов *Arthrospira (Spirulina) platensis* // Мікробіологія і біотехнологія. – 2008. – № 2. – С. 58-63.
6. Карпов Л.М., Ершова О.М., Каракіс С.Г., Драгоева О.Г., Лавренюк Т.І., Сагариц В.А. Дія різних штамів спіруліни на деякі показники антиоксидантного захисту у щурів // Природничий альманах. Збірник наукових праць. Біологічні науки. - Херсон: ПП Вышемирский. – 2009. – Вип. 13. – С. 50-56.
7. Методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен) / Учеб. пособие под ред. М. И. Прохоровой. – Л.: Изд-во Ленинградского ун-та, 1982. – С. 181-183.
8. Овсянникова Т.Н., Миронова Н.Г., Заболотный В.Н., Губанова А.Г., Полищук Л.Я., Виноградова Г.Ю., Забелина И.А., Карпенко Н.А. Состав и антиоксидантная активность комплекса биополимеров из *Spirulina platensis* (Nordst.) Gietl. // Альгология. – 1998. – Т. 8, № 1. – С. 75-81.
9. Стальная Д.И., Гаришвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты // В кн.: Современные методы в биохимии. – М.: Медицина, 1977. – С. 66-68.
10. Kuhad A., Tirkey N., Pilkhwai S., Chopra K. Effect of Spirulina, a blue green algae, on gentamicin-induced oxidative stress and renal dysfunction in rats // Fundam Clin Pharmacol. – 2006. – Vol. 20 (2). – P. 121-128.
11. Majit K., Dua S., Ahluwalia A. S. Biochemical studies on spirulina proteins // Spirulina ETTA Nat. symp. MCRC. – Madras, India, 1992. – P. 78-84.
12. Romay C., Gonzalez R. Phycocyanin is an antioxidant protector of human erythrocytes against lysis by peroxyl radicals // J. Pharm Pharmacol. – 2000. – Vol. 52 (4). – P. 367-368.

О.Н. Ершова

АДАПТАЦИОННЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ БИОМАССЫ ШТАММОВ СПИРУЛИНЫ НА ФОНЕ ХРОНИЧЕСКОГО СТРЕССА В МОЗГЕ КРЫС

Ключевые слова: хронический стресс, спирулина, перекисне окисление липидов, глутатионредуктаза, крысы.

Исследовано влияние биомассы штаммов *Spirulina platensis* (дикий тип, штаммы 198В и 27G) на фоне хронического стресса на содержание продуктов перекисного окисления липидов и активность одного из ферментов антиоксидантной защиты – глутатионредуктазы в мозге крыс. Установлено, что процедура внутрижелудочного введения крысам физиологического раствора вызывает усиление перекисного окисления липидов и подавляет активность глутатионредуктазы в мозге крыс. Внутрижелудочное введение крысам по такой же схеме штаммов спирулины в физиологическом растворе снижает

интенсивность перекисного окисления липидов, усиливает активность глутатионредуктазы, что свидетельствует про адаптационные и антиоксидантные возможности спирулины для организма.

O.N. Yershova

**ADAPTATION CAPACITY OF SPIRULINA STRAINS AT THE
BACKGROUND OF CHRONIC STRESS IN THE BRAIN OF RATS**

Key words: chronic stress, spirulina, lipid peroxidation, glutathionreductase, rats.

The study analyzes the influence of *Spirulina platensis* biomass (wild type, strains 198B and 27G) at the background of chronic stress on the content of lipid peroxidation products and on the activity of one of the antioxidative protection enzymes, glutathionreductase, in the brain of rats. It is shown that the in-stomach administration of physiological solution leads to lipid peroxidation activation and suppresses the activity of glutathionreductase in the brain of rats. The in-stomach administration of different spirulina strains decreases lipid peroxidation, increases glutathionreductase activity, which testifies to the adaptive and antioxidative capacity of spirulina.