

УДК 577.127.3:616.036.12

**О. М. Єршова**, канд. біол. наук, ст. наук. співр.  
Одеський національний університет імені І. І. Мечникова,  
кафедра фізіології людини і тварин,  
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна

## АНТИОКСИДАНТНА ДІЯ БІОМАСИ ШТАМІВ СПІРУЛІНИ НА ФОНІ ХРОНІЧНОГО СТРЕСУ У ЩУРІВ

Досліджено вплив біомаси штамів *Spirulina platensis* (дикий тип, штам 27G та 198B) на вміст продуктів перекисного окислення ліпідів та активність глутатіонредуктази печінки та нирок щурів на фоні хронічного стресу. Встановлено, що процедура внутрішньошлункового введення щурам фізіологічного розчину щодобово протягом двох тижнів викликає посилення перекисного окислення ліпідів і пригнічує активність глутатіонредуктази. Внутрішньошлункове введення за такою ж схемою щурам біомаси різних штамів спіруліни знижує інтенсивність перекисного окислення ліпідів, посилює активність глутатіонредуктази, що свідчить про адаптивну та антиоксидантну дію спіруліни для організму щурів.

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

Сильні впливи оточуючого середовища, як правило, викликають стрес в організмі людини і тварин. При нетривалому впливі стресу помірної інтенсивності відбувається посилення функціонування органів і мобілізація організму. Однак, при інтенсивному та тривалому стресі в клітинах відбувається активація вільно-радикального окислення, зниження синтезу білка та його денатурація. Це призводить до патологічних змін у всіх органах і тканинах і, таким чином, стрес-реакція з ланцюга адаптації перетворюється в ланцюг патогенезу [1]. 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. У зв'язку з цим стає актуальною проблема пошуку нових джерел антиоксидантів. Саме серед природних біологічно активних речовин такої дії великої уваги дослідників заслуговує біомаса синьо-зеленої водорості *Spirulina platensis*, яка має виражені антиоксидантні властивості. На фоні прийому біомаси спіруліни за деяких патологій та впливу несприятливих патогенних та екстремальних факторів відмічено зниження перекисного окислення ліпідів в органах і тканинах та посилення системи антиоксидантного захисту. Відомо, що клітинні компоненти *Spirulina platensis* пригнічуюче діють на РНК- і ДНК-вміщуючі віруси, у тому числі на вірус імунодефіциту людини [2], володіють протимікробною, антикоагулянтною, осморегулюючою активністю [3], а сульфатовані полісахариди поряд з глікопротеїдами є основою протипухлинних препаратів, одержуваних з цієї водорості [4]. Встановлено, що антиоксидантна дія спіруліни обумовлена фікобіліпротейнами,  $\beta$ -каротином, фенольними кислотами, токоферолами, сульфатованими полісахаридами [5]. В ряді робіт показано, що основним антиоксидантом є фікобіліпротейн — *c*-фікоціанін [6].

Крім процесів вільно-радикального окислювання, в клітинах в умовах дії різних агентів звичайно вивчають і активність ферментів антиоксидантного за-

хисту, 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 дію біомаси штаму дикого типу (ДТ) *Spirulina platensis* та його мутантних штамів 198В та 27G на швидкість перекисного окислювання ліпідів, а також на активність антиоксидантного ферменту глутатіонредуктази (ГР) на фоні хронічного стресу у 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-а група — інтактні тварини; 2-а група — тварини, яким внутрішньошлунково протягом двох тижнів щодобово вводили фізіологічний розчин (ФР) в об'ємі 2 мл за допомогою зонду; 3, 4, 5-а 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 загальноприйнятою методикою. Гомогенати печінки та нирок готували, як описано в [7].

Вміст малонового діальдегіду визначали за допомогою тіобарбітурової кислоти, як описано в [8]. Глутатіонредуктазну активність в гомогенатах досліджуваних органів вимірювали по швидкості окислення відновленого НАДФН<sub>2</sub> у реакційному середовищі (100 мМ Na-K-фосфатний буфер, рН 6,6; 0,075 мМ глутатіон окислений, 0,063 мМ НАДФН<sub>2</sub>, ферментний препарат). Реакцію ініціювали окисленим глутатіоном. Динаміку зменшення концентрації НАДФН<sub>2</sub> реєстрували на протязі 5 хв. при  $\lambda$  340 нм [7].

### Результати дослідження та їх обговорення

При проведенні дослідження було встановлено, що процедура введення щурам внутрішньошлунково ФР викликає в них стан, подібний до хронічного стресу. В результаті цього кількість кінцевого продукту ПОЛ — малонового діальдегіду в печінці щурів збільшувалася в 1,7 рази порівняно з інтактними тваринами, що свідчить про значну інтенсифікацію вільно-радикального процесу. Всі три штами спіруліни достовірно зменшували дію хронічного стресу: дикий тип і штаму спіруліни 198В — в 1,3 і в 1,65 рази відповідно, штаму 27G — в 1,5 рази (рис. 1). Найбільш уповільнює процес вільно-радикального окислювання біомаса штаму спіруліни 198В та і, таким чином, має найбільшу антиоксидантну дію.

Спіруліна містить речовини антиоксидантного ряду (бета-каротин, фікобіліпротеїни, глутатіон, глутамінову кислоту, селен, супероксиддисмутази) і завдяки оптимальному співвідношенню ненасичених і насичених жирних кислот забезпечує високу антиоксидантну й мембранопротекторну активність [9]. 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: сірковміщуючих амінокислот, фенілаланіну, а також піг-

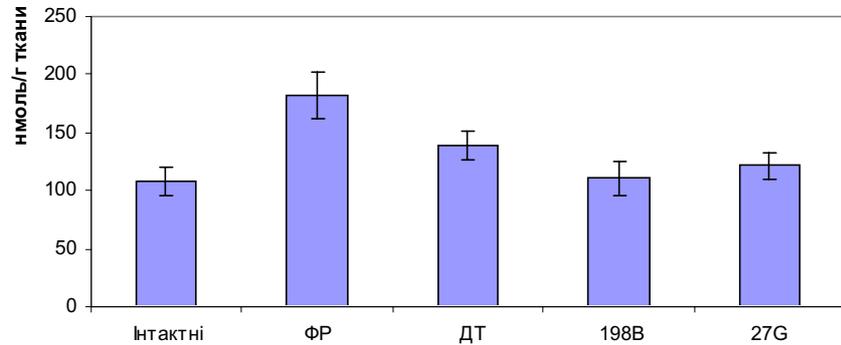


Рис. 1. Вміст малонового діальдегіду в печінці щурів на фоні хронічного стресу та прийому біомаси штамів спіруліни

ментів — *c*-фікоціаніну, алофікоціаніну і хлорофілу *a*, а штам 198В — ще й підвищеним вмістом каротиноїдів [10].

Дослідження активності глутатіонредуктази печінки тварин, які перебували в стані хронічного стресу після процедури введення ФР показало (рис. 2), що активність цього ферменту знижувалась в 1,35 рази порівняно 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 1,12, в 1,24, та в 1,34 рази відповідно. В тих групах, де найбільш зростала активність глутатіонредуктази — знижувався рівень вільних радикалів.

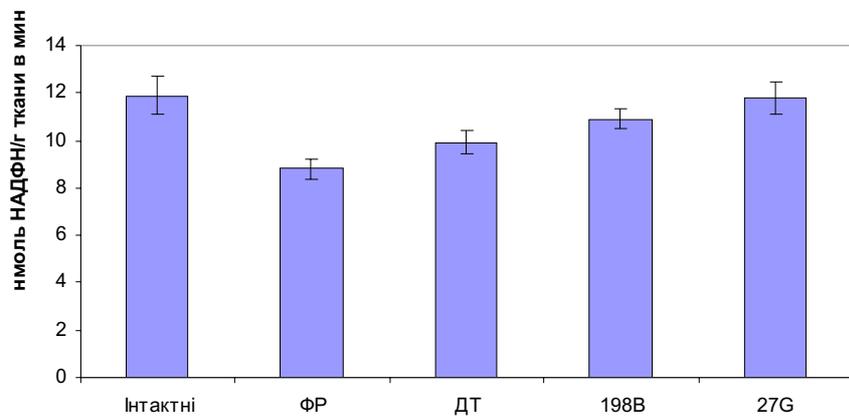


Рис. 2. Активність глутатіонредуктази в печінці щурів на фоні хронічного стресу та прийому біомаси штамів спіруліни

При дослідженні впливу хронічного стресу та дії біомаси вказаних штамів спіруліни на вміст малонового діальдегіду в нирках щурів встановлено (рис. 3), що швидкість вільно-радикального окислювання зростає у другій групі тварин в 1,44 рази. В той же час біомаса спіруліни пригнічує зростання показника кількості вільних радикалів: так, біомаса штамів ДТ та 27G зменшує вміст одного з кінцевих продуктів вільно-радикального окислювання — малонового діальдегі-

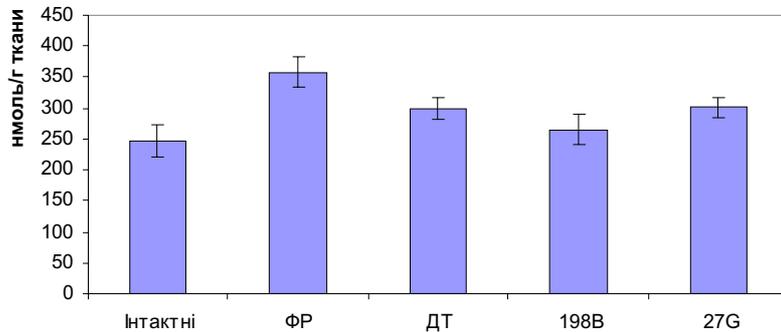


Рис. 3. Вміст малонового діальдегіду в нирках щурів на фоні хронічного стресу та прийому біомаси штамів спіруліни

ду — в 1,2 рази, тоді як біомаса штаму 198В — в 1,35 рази. Відомо, що штам спіруліни 198В містить в своєму складі  $\beta$ -каротини, що, ймовірно, впливає на результати дослідження.

При вивченні рівня активності глутатіонредуктази в нирках щурів на фоні хронічного стресу та під впливом біомаси штамів спіруліни встановлено (рис. 4), що у другій групі тварин хронічний стрес викликає зменшення активності цього антиоксидантного ферменту в 1,4 рази, тоді як всі три штами спіруліни достовірно підвищують активність ГР. Найбільш ефективна активація антиоксидантного ферменту спостерігається під впливом біомаси штаму 27G, при цьому рівень глутатіонредуктази підвищується практично до контрольного показника.

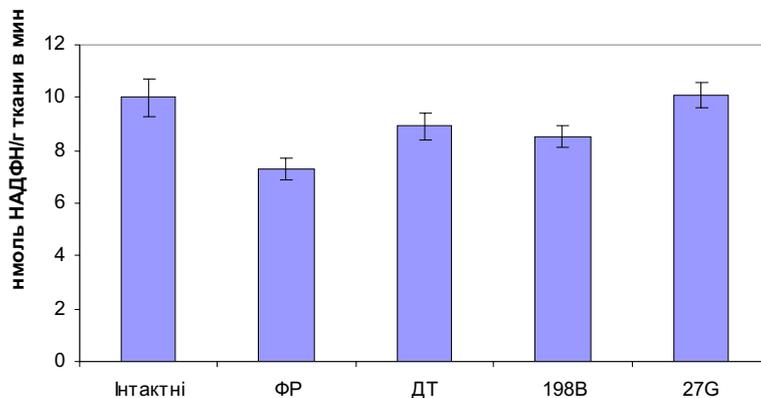


Рис. 4. Активність глутатіонредуктази в нирках щурів на фоні хронічного стресу та прийому біомаси штамів спіруліни

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. Процедура внутривенного введения шурам ФР за допомогою зонду викликає у них:
  - а) посилення процесу утворення вільних радикалів;
  - б) пригнічує активність глутатіонредуктази.
2. Додавання до раціону шурів біомаси всіх штамів спіруліни виявляє їх антиоксидантні властивості:
  - а) пригнічення процесу вільно-радикального окислювання;
  - б) активацію глутатіонредуктази.
3. Найбільш виражену антиоксидантну дію виявлено у мутантних штамів 198В та 27G.

### Література

1. Барбой В. А. Механизмы стресса и перекисное окисление липидов // Успехи соврем. биол. — 1991. — Т. 111. — Вып. 6. — С. 923—932.
2. Лоеко Ю. Н. и соавт. Биологически активные полисахариды морских цветковых растений // Раст. рес. — 1991. — 27, № 3. — С. 150—157.
3. Сиренко Л. А., Козицкая В. Н. Биологически активные вещества водорослей и качество воды. — К.: Наукова думка, 1988. — 253 с.
4. Апрышко Г. Н., Нехорошев М. В. Противоопухолевые препараты из морских организмов // Медицина и здравоохранение. — 1986. — № 2. — С. 17—23.
5. 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.) Geitl // Альгология. — 1998. — Т. 8, № 1. — С. 75—81.
6. Pinero Estrado J. E., Bermejo Bescos P., Villar del Frasco A. M. Antioxidant activity of different fractions of *Spirulina platensis* protein extract // Farmaco. — 2001. — Vol. 56 (5—7). — P. 497—500.
7. Методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен) / Учеб. пособие под ред. М. И. Прохоровой. — Ленинград: Изд-во Ленинградского ун-та, 1982. — С. 181—183.
8. Стальная Д. И., Гаршивили Т. Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты // В кн.: Современные методы в биохимии. — М.: Медицина, 1977. — С. 68.
9. Majit K., Dua S., Ahluwalia A. S. Biochemical studies on spirulina proteins // Spirulina ETNA Nat. symp. MCRC. — Madras, India, 1992. — P. 78—84.
10. Каракас С. Г., Карпов Л. М., Драгоева Е. Г., Лавренко Т. И., Сагарин В. А., Марченко В. С. Биохимический состав биомассы штаммов *Arthrospira (Spirulina) platensis* // Микробиология і біотехнологія. — 2008. — № (2). — С. 58—63.

### О. Н. Ершова

Одесский национальный университет имени И. И. Мечникова,  
кафедра физиологии человека и животных,  
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65026, Украина

### АНТИОКСИДАНТНОЕ ДЕЙСТВИЕ БИОМАССЫ ШТАММОВ СПИРУЛИНЫ НА ФОНЕ ХРОНИЧЕСКОГО СТРЕССА У КРЫС

#### Резюме

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 — глутати-

онредуктазы в печени и почках крыс. Установлено, что процедура внутривентриального введения крысам физиологического раствора вызывает усиление перекисного окисления липидов и подавляет активность глутатионредуктазы. Внутривентриальное введение крысам по такой же схеме штаммов спирулины снижает интенсивность перекисного окисления липидов, усиливает активность глутатионредуктазы, что свидетельствует об адаптационных и антиоксидантных возможностях спирулины для организма.

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

**O. N. Yershova**

Odesa National Mechnykov University,  
Department of man's and animal's physiology,  
Dvoryanska St., 2, Odesa, 65026, Ukraine

#### **ANTIOXIDATIVE ACTIVITY OF BIOMASS SPIRULINA STRAINS ON THE BACKGROUND OF CHRONICAL STRESS IN RATS**

##### **Summary**

There's analyzed the influence of biomass of *Spirulina platensis* cultures (wild type, strains 198B and 27G) on the background of chronical stress on the content of lipid peroxidation products and on the activity of antioxidative protection enzyme — glutathionreductase in liver and kidneys of rats. It is fixed that the procedure of in-stomachal injection of physiological solution leads to the lipid peroxidation-strengthening and suppresses the activity of glutathionreductase. In-stomachal injection of different spirulina strains decreases lipid peroxidation-activity, increases glutathionreductase activity, that testifies to adaptive and antioxidative abilities of spirulina for an organism.

**Key words:** chronical stress, spirulina, lipid peroxidation, glutathionreductase, rats.

---