

ПОРІВНЯЛЬНА ДІЯ СЕЛЕНІЗОВАНОЇ БІОМАСИ ДРІЖДЖІВ *PHAFFIA RHODOZYMA* ТА СЕЛЕНІТУ НАТРІЮ НА ОКРЕМІ ПОКАЗНИКИ МЕТАБОЛІЗМУ ЩУРІВ ЗА УМОВ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ

М. В. Камінська, Н. І. Борецька, Г. І. Нечай, С. В. Гураль, Г. В. Колісник

Інститут біології тварин НААН України

Наведено порівняльні дані про вплив селенізованої біомаси каротиносинтезувальних дріжджів *Phaffia rhodozyma* та селеніту натрію на вміст продуктів перекисного окиснення ліпідів, активності ферментів антиоксидантного захисту та амінотрансфераз у крові та печінці щурів за умов змодельованого тетрахлорметаном оксидативного стресу. Встановлено позитивний ефект при застосуванні біомаси дріжджів: зниження активності аланінамінотрансферази у плазмі крові щурів на 47 % та аспаратамінотрансферази на 9 %, зменшення вмісту дієнових кон'югатів у 3,6 раза та ТБК-активних продуктів у печінці щурів на 18 % порівняно з групою стрес-контролю. При застосуванні селеніту натрію активність АлАТ у плазмі крові зросла на 51 %, однак зменшився вміст дієнових кон'югатів та ТБК-активних продуктів у печінці інтоксикованих щурів. Введення в раціон інтоксикованих тетрахлорметаном щурів біомаси дріжджів *P. rhodozyma*, з вмістом селену 2 мкг/г сухої маси проявляє кращу захисну дію від наслідків оксидативного стресу, ніж селеніт натрію.

Ключові слова: СЕЛЕН, ДРІЖДЖІ, СЕЛЕНІТ НАТРІЮ, ОКСИДАТИВНИЙ СТРЕС, ЩУРИ

Погіршення стану навколишнього середовища та техногенне забруднення приводить до виникнення стресових умов для живих організмів. Під впливом шкідливих чинників (важкі метали, токсичні речовини) в організмі виникає оксидативний стрес, зумовлений дисбалансом антиоксидантної системи захисту. При цьому посилюються процеси перекисного окиснення ліпідів та порушується метаболізм [1]. Для запобігання та корекції таких порушень застосовують антиоксиданти: синтетичні і природні. Використання синтетичних антиоксидантів обмежується побічними ефектами та низьким коефіцієнтом засвоєння [2]. Тому пошуки природних сполук для захисту організму тварин від оксидативного стресу є важливим завданням сучасної науки.

Одним із мікроелементів із антиоксидантними властивостями є селен. Він проявляє захисну дію саме в цитозолі клітин, а не у мембранах як, наприклад, каротиноїди. У тваринництві використовують в основному неорганічні солі селену, зокрема селеніт натрію. Однак відомо, що органічні форми селену засвоюються та акумулюються у клітинах краще порівняно з неорганічними [3], що дозволяє покращити здоров'я тварин та підвищити їх продуктивність.

Із літератури відомо, що клітини мікроорганізмів, зокрема дріжджів, здатні засвоювати неорганічний селен із середовища та перетворювати його в органічні форми (селенметіонін, селенцистеїн) [4]. Співробітниками лабораторії біотехнології мікроорганізмів Інституту біології тварин НААН України селекціоновано селеновмісні штами дріжджів *Phaffia rhodozyma*, які, крім спектру каротиноїдів, нагромаджують в клітинах органічний селен. При внесенні біомаси цих штамів дріжджів у раціон тварин очікується синергічна дія каротиноїдів та селену для захисту організму від оксидативного стресу.

Мета роботи — порівняти захисну дію селеновмісної біомаси каротиносинтезувальних дріжджів *P. rhodozyma* та селеніту натрію на стан системи антиоксидантного захисту щурів при змодельованому тетрахлорметаном оксидативному стресі.

Матеріали і методи

Дослід проведено на щурах масою тіла 180–220 г, яких утримували в стандартних умовах віварію. Тварини були поділені на 6 груп (по 4 тварини): 1 — контрольна група (стандартний комбікорм, інтактні тварини); 2 — щури, яким вводили тетрахлорметан (ТХМ) при згодовуванні стандартного раціону; 3, 4 — тварини, яким згодовували селеновмісну біомасу дріжджів *P. rhodozyma* (1 % до корму, вміст селену 2 мкг/г сухої біомаси); 5, 6 — щури, яким згодовували селеніт натрію у кількості еквівалентній до вмісту селену у раціоні щурів 3-ої групи. Тваринам 2, 4, і 6-ої груп на 12-й день досліді вводили ТХМ два рази через день в дозі 0,2 мл/100 г маси тіла у вигляді 50 % олійного розчину. Забій тварин проводили через 48 год після останнього введення токсиканту.

Для досліджень відбирали кров та тканину печінки, у яких визначали вміст ТБК-активних продуктів [5], дієнових кон'югатів [6], активність каталази [7], глутатіонпероксидази [8] та амінотрансфераз [6]. Статистичну обробку результатів проводили, використовуючи критерій Стьюдента за допомогою програми Microsoft Excel.

Результати й обговорення

З метою встановлення гепатотоксичної дії ТХМ в умовах проведеного досліді визначали активність маркерних ферментів цитолізу гепатоцитів аспартатамінотрансферази (АсАТ) та аланінамінотрансферази (АлАТ) у сироватці крові дослідних тварин (табл. 1). Встановлено, що при отруєнні тварин ТХМ у сироватці крові активність АсАТ зростає у 5,7 раза, активність АлАТ — у 4,6 раза, а значення коефіцієнта де Рітиса (АсАТ/АлАТ) за цих умов знижується з 1,23 до 0,99.

Таблиця 1

Активність АсАТ та АлАТ у сироватці крові уражених тетрахлорметаном щурів, (мкмоль•год.⁻¹мл⁻¹, M±m, n=3)

Групи тварин	АлАТ	АсАТ	АсАТ /АлАТ
1 — контрольна (інтактні тварини)	0,113±0,006	0,140±0,007	1,23
2 — +ТХМ (стрес-контроль)	0,648±0,012*	0,642±0,012*	0,99
3 — <i>P. rhodozyma</i> селеновмісна	0,088±0,011	0,125±0,005	1,42
4 — <i>P. rhodozyma</i> селеновмісна +ТХМ	0,343±0,029* ⁺	0,583±0,002* ⁺	1,70
5 — Na ₂ SeO ₃	0,124±0,004	0,166±0,007	1,34
6 — Na ₂ SeO ₃ +ТХМ	0,977±0,016* ⁺	0,651±0,009*	0,67

Примітка: у цій та наступних таблицях * — різниця достовірна порівняно до тварин контрольної групи (p < 0,05–0,001); ⁺ — різниця достовірна відносно тварин другої групи (p < 0,05–0,001)

Одержані результати підтверджують висновок інших авторів про те, що ТХМ проявляє гепатотоксичну дію, проявом якої є підвищення активності амінотрансфераз у сироватці крові [9].

Уведення в раціон щурів селеновмісної біомаси дріжджів *P. rhodozyma* зменшує токсичну дію тетрахлорметану: активність аланінамінотрансферази та аспартатамінотрансферази у сироватці крові знижується відповідно на 47 % та 9 % порівняно з показниками тварин стрес-контролю. Додаток селеніту натрію до корму не проявляє захисної дії при отруєнні щурів: активність АсАТ в сироватці крові у них, так само як у інтоксикованих контрольних тварин, а активність АлАТ на 51 % є вищою, порівняно з тваринами групи стрес-контролю. Коефіцієнт де Рітиса у тварин цієї групи є низьким (0,67), що свідчить про цитоліз клітин печінки. Слід відмітити, що у щурів, яким

згодували селеніт натрію, також виявлено зниження активності АлАТ у клітинах печінки (табл. 2)

Таблиця 2

Активність АсАТ та АлАТ у печінці щурів уражених тетрахлорметаном, (мкмоль•год.⁻¹мл⁻¹, М±m, n=3)

Групи тварин	АлАТ	АсАТ
1 — контрольна (інтактні тварини)	9,25±0,63	6,23±0,07
2 — +ТХМ (стрес-контроль)	7,41±0,79	5,48±0,77
3 — <i>P.rhodozyma</i> селенізована	6,98±0,75	6,71±0,86
4 — <i>P.rhodozyma</i> селенізована +ТХМ	7,08±0,60	5,88±0,70
5 — Na ₂ SeO ₃	6,40±0,67	5,55±0,58
6 — Na ₂ SeO ₃ +ТХМ	4,68±0,82*	6,39±0,10*

Згодовування щурам селенізованої біомаси дріжджів (3-я група) приводить до зменшення у тканинах печінки вмісту дієнових кон'югатів у 3,6 раза, а ТБК-активних продуктів — на 18,0 %, порівняно до їх вмісту у тварин контрольної групи. Добавка до раціону щурів селеніту натрію (5-а група) також приводить до зниженням у тканинах печінки концентрації дієнових кон'югатів у 4,6 раза, ТБК-активних продуктів — у 1,4 раза.

Таблиця 3

Вплив біомаси дріжджів *P. rhodozyma* та селеніту натрію на вміст продуктів перексидного окиснення ліпідів у печінці щурів (М±m, n=4)

Групи тварин	Дієнові кон'югати, мкмоль • кг ⁻¹	ТБК-активні продукти, мкмоль • г ⁻¹
1 — контрольна (інтактні тварини)	83,4±7,9	19,64±0,18
2 — +ТХМ (стрес-контроль)	126,3±6,1*	29,71±0,35*
3 — <i>P.rhodozyma</i> селенізована	23,3±3,3*	16,11±0,53*
4 — <i>P.rhodozyma</i> селенізована +ТХМ	26,4±3,1**	19,11±0,98*
5 — Na ₂ SeO ₃	18,2±1,5*	13,81±0,35*
6 — Na ₂ SeO ₃ +ТХМ	64,2±3,3*	16,81±0,47**

Отруєння щурів ТХМ викликає активізацію процесів перекисного окиснення ліпідів у тканинах печінки щурів, про що свідчить підвищення вмісту первинних та вторинних продуктів ПОЛ (табл. 3). Зокрема, у інтоксикованих щурів 2-ої групи вміст дієнових кон'югатів і ТБК-активних продуктів у тканинах печінки зростає на 51,4 % і 51,3 %, відповідно.

При оксидативному стресі згодовування ураженим щурам селеновмісної біомаси дріжджів *P.rhodozyma* (4-а група) приводить до зниження у печінці рівня дієнових кон'югатів у 3,6 раза, а ТБК-активних продуктів — на 18 % порівняно з стрес-контролем. При інтоксикації щурів, яким згодовували селеніт натрію (6-а група), вміст дієнових кон'югатів у печінці знижується у 2,0 раза, а вміст ТБК-активних продуктів — в 1,8 раза порівняно з щурами групи стрес-контролю.

Для нормального функціонування і життєдіяльності організму вільнорадикальні реакції повинні підтримуватися на певному постійному рівні внаслідок злагодженої дії ензимів антиоксидантної системи. Тому зміни активності ферментів-антиоксидантів характеризують глибину тканинного пошкодження та порушення метаболізму, зумовлених оксидативним стресом. При ураженні щурів ТХМ активність каталази у печінці суттєво не змінюється, тоді як активність глутатіонпероксидази знижується на 37,3 % (табл. 4).

Вплив біомаси дріжджів *P. rhodozyma* та селеніту натрію на активність каталази та глутатіонпероксидази у печінці щурів ($M \pm m$, $n=4$)

Групи тварин	Каталаза, ммоль H_2O_2 /мг білка/с	Глутатіонпероксидаза, нмоль ГSH \cdot хв $^{-1}$ •мг $^{-1}$ білка
1 — контрольна (інтактні тварини)	22,34 \pm 0,62	351 \pm 12,7
2 — +ТХМ (стрес-контроль)	20,87 \pm 0,58	220 \pm 14,1*
3 — <i>P. rhodozyma</i> селенізована	14,40 \pm 0,11*	303 \pm 12,3
4 — <i>P. rhodozyma</i> селенізована+ТХМ	17,87 \pm 0,97**	301 \pm 14,7**
5 — Na ₂ SeO ₃	16,11 \pm 0,39*	365 \pm 13,7
6 — Na ₂ SeO ₃ +ТХМ	20,37 \pm 0,94	383 \pm 19,1*

Згодовування інтоксикованим тваринам селеновмісної біомаси дріжджів *P. rhodozyma* (4-а група) приводило до зниження у печінці активності каталази на 20 %, а глутатіонпероксидази — на 14 % порівняно з тваринами контрольної групи. Слід відмітити, що зниження активності цих ферментів відбувалося на тлі зменшення вмісту дієнових кон'югатів та ТБК-активних сполук.

Уведення у раціон інтоксикованих щурів селеніту натрію (6-а група) також проявляє захисну дію: на тлі зниження первинних і вторинних продуктів ПОЛ активність глутатіонпероксидази зростає на 74 %, порівняно з групою стрес контролю.

Таким чином, порівняльний аналіз показників перекисного окиснення ліпідів, активності АлАТ, АсАТ та ферментів системи антиоксидантного захисту свідчить, що згодовування біомаси дріжджів *P. rhodozyma*, яка містила 2 мкг селену/г сухої маси має вищий захисний ефект при оксидативному стресі, ніж селеніт натрію. Можливо, це викликано присутністю в біомасі не тільки органічних форм селену, але й каротиноїдів.

Висновки

Уведення в раціон інтоксикованих тетрахлорметаном щурів біомаси дріжджів *P. rhodozyma* з вмістом селену 2 мкг/г сухої маси проявляє кращу захисну дію від наслідків оксидативного стресу, ніж селеніт натрію.

Перспективи подальших досліджень. Використання біомаси дріжджів, що містить органічні форми селену та каротиноїди для запобігання наслідкам оксидативного стресу є актуальним питанням сучасного тваринництва. Тому подальші роботи будуть спрямовані на дослідження порівняльної дії селеновмісної та неселеновмісної біомаси дріжджів *P. rhodozyma* на організм тварин.

M. V. Kaminska, N. I. Boretska, H. I. Nechay, S. V. Hural, H. V. Kolisnyk

COMPARISON EFFECT OF SELENIUM-CONTAINING YEASTS *PHAFFIA RHODOZYMA* BIOMASS AND SODIUM SELENITE ON SOME METABOLISMS CHARACTERISTICS OF RATS AT OXIDATIVE STRESS

S u m m a r y

Comparative information about influence of selen-containing biomass of karotin-synthesizing yeasts *Phaffia rhodozyma* and sodium selenite on content of lipid peroxidation products, activity of antioxidant defense enzymes and aminotransferases in blood and liver of rats at oxidative stress modelled by tetra chloromethane is presented in this article.

A positive effect is set at the use of biomass of yeasts: decline of activity of alaninaminotransferazy in plasma of blood of rats on 47 % and aspartataminotransferazy on 9 %, umenshenie maintenances of dienovykh kon'yugatov in 3,6 time and TБК-active products in

the liver of krysna 18 % as compared to the group of stress-control. At the use of selenite of sodium activity of ALAT in plasma of blood was increased on 51 %, however much maintenance of dienyvykh kon'yugatov and TBK-active products went down in the liver of intoksicirovannykh rats. Introduction to the ration of intoksicirovannykh tetrakhlormetnom rats of biomass of yeasts of *P. rhodozyma* with maintenance of selenium 2 the mcg/gramme of dry mass is shown by the best protective effect from the consequences of oxidative stress, what selenite of sodium.

М. В. Каминская, Н. И. Борецкая, Г. И. Нечай, С. В. Гураль, Г. В. Колиснык

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ДЕЙСТВИЕ СЕЛЕНИЗИРОВАННОЙ БИОМАССЫ ДРОЖЖЕЙ *PHAFFIA RHODOZYMA* И СЕЛЕНИТА НАТРИЯ НА НЕКОТОРЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ МЕТАБОЛИЗМА КРЫС ПРИ ОКСИДАТИВНОМ СТРЕССЕ

А н н о т а ц и я

Представлены сравнительные данные о влиянии селенизированной биомассы каротиносинтезирующих дрожжей *Phaffia rhodozyma* и селенита натрия на содержание продуктов перекисного окисления липидов, активности ферментов антиоксидантной защиты и аминотрансфераз в крови и печени крыс при смоделированном тетрахлорметаном оксидативном стрессе. Установлено положительный эффект при использовании биомассы дрожжей: снижение активности аланинаминотрансферазы в плазме крови крыс на 47 % и аспартатаминотрансферазы на 9 %, уменьшение содержания диеновых конъюгатов в 3,6 раза и ТБК-активных продуктов в печени крыс на 18 % по сравнению с группой стресс-контроля. При использовании селенита натрия активность АлАТ в плазме крови увеличилась на 51 %, однако снизилось содержание диеновых конъюгатов и ТБК-активных продуктов в печени интоксцированных крыс. Введение в рацион интоксцированных тетрахлорметном крыс биомассы дрожжей *P. rhodozyma* с содержанием селена 2 мкг/г сухой массы проявляет лучший защитный эффект от последствий оксидативного стресса, чем селенит натрия.

1. Колісник М. І. Активні форми кисню та їх роль у метаболізмі клітин / М. І. Колісник, Г. В. Колісник, Є. Нідзюлка та ін. // Біологія тварин. — 2009. — Т. 11, № 1–2. — С. 59–70.

2. Лапшин С. А. Новое в минеральном питании сельскохозяйственных животных / С. А. Лапшин. — М. : Росагропромиздат, 1988. — С. 114–116.

3. Щелкунов Л. Ф. Микроэлемент селен — токсикант или антиоксидант? / Л. Ф. Щелкунов, М. С. Дудкин // Современные проблемы токсикологии. — 2002. — № 1. — С. 14–21.

4. Стенчук М. М. Селен і дріжджі. Генетичні механізми толерантності дріжджів до сполук селену та їхніх аналогів / М. М. Стенчук, Л. Б. Чабан, М. В. Гончар // Біополімери і клітина. — 2006. — Т. 22, № 1. — С. 3–17.

5. Луцк В. І. Показники оксидативного стресу. Тіобарбітураактивні продукти і карбонільні групи білків / В. І. Луцк, Т. В. Багнюкова, О. В. Луцк // Укр.біохім.журн. — 2004. — Т. 76, № 6. — С. 136–141.

6. Фізіолого-біохімічні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині : довідник / відп. ред. В. В. Влізло та інші. — Львів : ВКП «ВМС», 2004. — 399 с.

7. Королюк М. А. Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова, В. Е. Токарев // Лаб. дело. — 1988. — № 1. — С. 16–18.

8. Моин В. М. Простой и специфический метод определения активности глутатионпероксидазы в эритроцитах / В. М. Моин // Лаб. дело. — 1986. — № 12. — С. 724–727.

9. Williams A. T. Carbon tetrachloride hepatotoxicity: An example of free radical-mediated injury / A. T. Williams, R. F. Burke // Semin. Liver. Dis. — 1990. — V. 10. — P. 279–284.

Рецензент: головний науковий співробітник лабораторії живлення ВРХ, доктор біологічних наук, професор Янович В. Г.