

ДІЯ β -КАРОТИНУ ТА КАРОТИНСИНТЕЗУЮЧИХ ДРІЖДЖІВ *Phaffia rhodozyma* НА ОКСИДАТИВНИЙ СТРЕС У ЩУРІВ, ІНТОКСИКОВАНИХ ТЕТРАХЛОРМЕТАНОМ

М. І. СИМОНОВА, Н. І. БОРЕЦЬКА, М. В. КАМІНСЬКА, Г. І. НЕЧАЙ,
Г. В. КОЛІСНИК, В. В. ВЛІЗЛО

Інститут біології тварин НААН України, Львів;
e-mail: hv_kolisnyk@ukr.net

Встановлено, що введення β -каротину або біомаси каротинсинтезуючих дріжджів *P. rhodozyma* у раціон щурів, інтоксикованих тетрахлорметаном, знижує активність амінотрансфераз у сироватці крові, а також гальмує розвиток оксидативного стресу: зменшує вміст продуктів пероксидного окислення ліпідів та карбонільних груп протеїнів, підвищує активність супероксиддисмутази, каталази, глутатіонпероксидази та сумарну антиоксидантну активність у печінці, головному мозку та серці тварин. Порівняльний аналіз коригувальної здатності досліджуваних добавок за умов додавання до корму отруєних щурів свідчить про вищий захисний ефект біомаси дріжджів *P. rhodozyma* порівняно з β -каротином.

Ключові слова: β -каротин, дріжджі *Phaffia rhodozyma*, оксидативний стрес, тетрахлорметан.

У разі нормального перебігу аеробного метаболізму у клітинах відбуваються окисно-відновні реакції генерації активних форм кисню (АФК), нестабільних метаболітів, які виявляють широкий спектр фізіологічної дії. За нормальних умов концентрація АФК у тканинах є невисокою, оскільки вони знешкоджуються системою антиоксидантного захисту, що забезпечує збалансований перебіг окислювальних процесів [1].

Відомо, що за дії шкідливих чинників (токсичні речовини, важкі метали, іонізуюче та інші види випромінювання) окислювальні процеси в організмі стають більш інтенсивними, порушується збалансованість антиоксидантної та прооксидантної систем, що спричиняє розвиток оксидативного стресу [2]. Посилення вільнорадикальних процесів є однією із патогенетичних ланок радіаційних пошкоджень, онкозахворювань, патологій серцево-судинної та бронхо-легеневої систем, алергічних та нейродегенеративних захворювань, хімічних інтоксикацій. Перебіг цих захворювань зазвичай супроводжується зниженням активності системи антиоксидантного захисту та вираженим синдромом ліпопероксидації [3].

З метою індукції оксидативного стресу в експериментальних дослідженнях використовують різні ксенобіотики, зокрема: паракват, менадін, тетрахлорметан (ТХМ). Механізм токсичного впливу ТХМ на живі організми добре вивчений. Поряд з іншими хлоралка-

нами, ТХМ, потрапляючи в організм людини або теплокровних тварин, ушкоджує мембрани клітин багатьох органів, зокрема печінки, міокарда, головного мозку, нирок [4]. Інтоксикація ТХМ супроводжується активацією вільнорадикального окислення, виснаженням системи антиоксидантного захисту, нагромадженням продуктів ліпопероксидації, гіперпродукцією прозапальних цитокінів, підвищенням концентрації кальцію у цитозолі, дисфункцією мітохондрій і ендоплазматичного ретикулулу [5].

В умовах недостатньої активності ендогенної антиоксидантної системи (АОС) ефективним способом захисту клітин від пошкоджувальної дії вільнорадикального окислення є введення екзогенних антиоксидантів, які попереджають негативні зміни в організмі. Це зумовлює необхідність пошуку препаратів з антиоксидантними властивостями, які послаблюють токсичну дію вільних радикалів. До сполук з антиоксидантними і антирадикальними властивостями належать каротиноїди, які є важливим компонентом неензимної ланки системи антиоксидантного захисту. Незважаючи на велику кількість даних літератури щодо біологічного впливу каротиноїдів на організм тварин, результати досліджень їхніх антиоксидантних властивостей є досить суперечливими, тому що вони можуть також проявляти і прооксидантну дію [6, 7].

Відомо, що високу антиоксидантну дію виявляє каротиноїд астаксантин (3,3'-дигідрокси- β - β -каротин-4,4'-діон), який міститься в лососевих рибах, крабах, омарах. Важливо, що навіть високі концентрації цього каротиноїду не виявляють прооксидантної активності. Джерелом астаксантину можуть бути дріжджі *Phaffia rhodozyma* [8], проте «дикі» штами цих дріжджів не використовують, оскільки вони накопичують порівняно невисокі концентрації каротиноїдів. Нами проведено селекцію цих дріжджів і виділено високопродуктивний штам, який синтезує 20 мг каротиноїдів на грам сухої маси (у 5 раз більше, ніж «дикий» штам) та встановлено антиоксидантні властивості його біомаси [9, 10].

Можливість використання біомаси селекціонованого штаму дріжджів *P. rhodozyma* для корекції порушень вільнорадикальних процесів у тварин не з'ясована. Тому метою роботи було дослідити вплив β -каротину біомаси каротинсинтезуючих дріжджів *P. rhodozyma* на вміст продуктів вільнорадикального окислення ліпідів і протеїнів та стан системи антиоксидантного захисту в організмі щурів в умовах розвитку оксидативного стресу, індукованого введенням ТХМ.

Матеріали і методи

Для досліджень використовували самців білих щурів лінії Вістар із початковою масою тіла 120–130 г, яких було поділено на 4 групи (по 4 тварини у кожній): 1 – інтактні щурі; 2, 3 і 4 групи – тварини з оксидативним стресом, індукованим введенням ТХМ. Всі групи щурів утримували на стандартному раціоні, крім того тваринам 3-ї групи додавали до кормів біомасу дріжджів *P. rhodozyma* (2% від маси корму); щурам 4-ї групи додавали до кормів β -каротин у дозі 40 мг/100 г комбікорму (кількість еквівалентна вмісту каротиноїдів у біомасі дріжджів, які додавали до раціону щурів 3-ї групи). У дослідженнях використовували β -каротин фірми Sigm (США) та біомасу селекціонованого нами та запатентованого штаму дріжджів *P. rhodozyma* ІМВ У-5026. ТХМ вводили внутрішньоочередно, починаючи з 14-ої доби досліду (через добу, двічі на день) у дозі 0,2 мл/100 г маси тіла у 50%-му олійному розчині. Тварин забивали під легким ефірним наркозом через 48 год після останнього введення токсиканту. Для аналізу відбирали зразки тканин печінки, головного мозку, серця та крові. Дослідження проведені відповідно до Європейської конвенції про захист хребетних тварин, яких використовують для експериментальних і наукових цілей (Страсбург, 1986 р.).

Інтенсивність процесів ПОЛ оцінювали за такими показниками: вмістом дієнових кон'югатів [11], гідропероксидів ліпідів [12], тіобарбітурактивних (ТБК-активних) продуктів [13]. Ступінь окисної модифікації протеїнів визначали за кількістю динітрофенілгідрозонів, утворених за взаємодії карбонільних груп протеїнів з 2,4-динітрофенілгідразином [13]. Активність супероксиддисмутази (СОД, КФ 1.15.1.1) визначали за методом, який ґрунтується на відновленні нітротетразолію супероксидними радикалами [14], активність каталази (КФ 1.11.1.6) – за зменшенням інтенсивності забарвлення утвореного комплексу H_2O_2 з солями молібдену [15], активність глутатіонпероксидази (ГПО, КФ 1.11.1.9) – за методом Моїна [16]. У плазмі крові досліджували активність аланінамінотрансферази (АлАТ КФ 2.6.1.2) та аспартатамінотрансферази (АсАТ, КФ 2.6.1.1), використовуючи стандартні набори реактивів (SIMKO Ltd, Україна). Загальну антиоксидантну активність визначали в модельній системі з ліноленою кислотою як субстрат окислення [17]. Концентрацію протеїну досліджували спектрофотометрично за методом Лоурі [18]. Вміст відновленого глутатіону (ВГ) визначали за розвитком кольорової реакції внаслідок взаємодії SH-груп з реактивом Еллмана [19], а концентрацію вітамінів А і Е – методом високоефективної рідинної хроматографії на хроматографі Міліхром-4 (Научприбор, Росія) [20]. Результати обробляли статистично за загальноприйнятими методиками варіаційної статистики [21]. Для визначення вірогідних відмінностей між середніми величинами використовували критерій Стьюдента.

Результати та обговорення

Одержані нами експериментальні дані підтверджують висновок інших авторів [4] про те, що ТХМ в організмі тварин зумовлює оксидативний стрес. Свідченням цього є підвищення вмісту первинних та вторинних продуктів пероксидного окислення ліпідів та окисної модифікації протеїнів. Зокрема, у печінці, головному мозку та серці інтоксикованих ТХМ тварин виявлено вірогідне підвищення вмісту гідропероксидів ліпідів, дієнових кон'югатів, ТБК-активних сполук та карбонільних груп протеїнів (табл. 1).

Основою пошкоджувальної дії ТХМ є здатність його молекули трансформуватися (за участю цитохром *P*-450-залежних монооксигеназ) з утворенням радикалів $CCl_3\cdot$ та $CCl_3O_2\cdot$, які ініціюють у клітині окисну модифікацію ліпідів та протеїнів, що спричинює функціо-

Таблиця 1. Вміст продуктів пероксидного окислення ліпідів та протеїнів у щурів, інтоксикованих тетрахлорметаном, ($M \pm m$, $n = 4$)

Групи тварин	Печінка	Головний мозок	Серце
<i>Дієнові кон'югати</i> , нмоль · г ⁻¹			
1 – контрольна	89,9 ± 3,1	83,4 ± 2,6	113,0 ± 8,8
2 – тетрахлорметан	114,0 ± 1,8*	141,8 ± 13,2*	158,4 ± 10,2*
3 – <i>P. rhodozyma</i> + тетрахлорметан	71,1 ± 6,2* ⁺	93,0 ± 10,5 ⁺	128,2 ± 6,9 ⁺
4 – β-каротин+ тетрахлорметан	92,2 ± 3,3 ⁺	117,9 ± 6,7* ⁺	80,3 ± 5,4* ⁺
<i>Гідропероксили ліпідів</i> , од. E ₄₈₀ · г ⁻¹			
1 – контрольна	16,3 ± 1,6	13,3 ± 1,2	11,0 ± 1,5
2 – тетрахлорметан	21,6 ± 1,9*	19,6 ± 1,9*	20,2 ± 1,8*
3 – <i>P. rhodozyma</i> + тетрахлорметан	14,2 ± 0,9 ⁺	13,7 ± 1,3 ⁺	13,3 ± 1,6 ⁺
4 – β-каротин + тетрахлорметан	21,0 ± 1,5*	12,7 ± 1,8 ⁺	12,7 ± 0,7 ⁺
<i>ТБК-активні продукти</i> , нмоль · г ⁻¹			
1 – контрольна	18,4 ± 1,7	26,7 ± 2,0	23,9 ± 1,7
2 – тетрахлорметан	36,2 ± 2,4*	52,0 ± 2,6*	32,1 ± 1,4 *
3 – <i>P. rhodozyma</i> + тетрахлорметан	24,6 ± 1,0* ⁺	30,9 ± 2,7 ⁺	21,4 ± 0,5 ⁺
4 – β-каротин + тетрахлорметан	21,5 ± 2,5 ⁺	43,1 ± 1,6* ⁺	25,9 ± 2,1 ⁺
<i>Карбонільні групи протеїнів</i> , нмоль · мг ⁻¹ протеїну			
1 – контрольна	5,2 ± 0,2	6,8 ± 0,1	2,5 ± 0,1
2 – тетрахлорметан	13,5 ± 0,4*	14,4 ± 0,3*	5,6 ± 0,2*
3 – <i>P. rhodozyma</i> +тетрахлорметан	7,2 ± 0,2* ⁺	8,5 ± 0,1* ⁺	2,3 ± 0,2 ⁺
4 – β-каротин+ тетрахлорметан	10,1 ± 0,2* ⁺	11,2 ± 0,2* ⁺	2,7 ± 0,2 ⁺

У цій та наступних таблицях: *різниця вірогідна відносно тварин контрольної групи ($P < 0,05$); ⁺різниця вірогідна відносно тварин другої групи ($P < 0,05$)

нальні та морфологічні зміни у мембранах клітин. Утворені радикали порушують нормальне функціонування дихального ланцюга у мітохондріях, що призводить до утворення АФК, які посилюють дію метаболітів ТХМ [4, 22]. У свою чергу, інтенсифікація окислювальних процесів, порушення збалансованості антиоксидантної та прооксидантної систем призводить до розвитку оксидативного стресу.

Введення у раціон каротиновмісних добавок знижує вміст продуктів пероксидного окислення ліпідів в організмі інтоксикованих щурів. В умовах згодовування інтоксикованим ТХМ шурам біомаси каротинсинтезуючих дріжджів вміст дієнових кон'югатів зменшується порівняно з тваринами стрес-контролю у печінці на 37%, у головному мозку – на 34%, серці – на 19%, а у разі додавання до раціону β-каротину – на 19, 17 та 49% відповідно. Вміст ТБК-активних сполук у печінці, головному мозку та серці тварин 3-ї групи знижується (порівняно з 2-ою групою) на 32,2; 40,5 та

33,4%, а у тварин 4-ої групи – на 40,6; 17,1 та 19,3% відповідно.

Індикатором пошкодження клітин за вільнорадикального окислення є окисна модифікація протеїнів (ОМП), внаслідок якої утворюються карбонільні групи в залишках амінокислот. Вважають [23], що ОМП відіграє ключову роль у молекулярних механізмах оксидативного стресу і є пусковим механізмом у процесі окислення та деструкції інших молекул, наприклад, ліпідів та нуклеїнових кислот. Дослідження окисної модифікації протеїнів в організмі щурів показує, що у разі отруєння ТХМ вміст карбонільних груп протеїнів у печінці, головному мозку та серці тварин зростає у 2,6, 2,1 та 2,3 раза відповідно (табл. 1). У щурів інтоксикованих ТХМ, яких утримували на раціоні з добавкою біомаси дріжджів *P. rhodozyma* або β-каротину, рівень окисно модифікованих форм протеїнів був вірогідно нижчим у тканинах печінки на 47,1 і 25,2%, у головному мозку – на 40,8 і 22,2% та у серці на

58,9 і 51,8% відповідно порівняно з тваринами 2-ї групи.

Порівняльний аналіз захисної дії каротиновмісних добавок від токсичного впливу ТХМ на процеси ПОЛ засвідчив, що у щурів, яких утримували на раціоні з додаванням біомаси дріжджів, порівняно до тварин, раціон яких містив β -каротин, рівень дієнових кон'югатів у печінці є нижчим на 23%, у головному мозку – на 21%, гідропероксидів ліпідів у печінці – на 32%, і ТБК-активних продуктів у головному мозку – на 28%. Також встановлено, що у щурів, в раціон яких додавали біомасу дріжджів, концентрація карбонільних груп протеїнів у гомогенатах печінки та головного мозку нижче на 28,7 і 24,1% відповідно ніж у тварин, до раціону яких додавали β -каротин.

Одержані результати свідчать, що введення в раціон біомаси каротинсинтезуючих дріжджів або β -каротину захищає від окисної модифікації молекули ліпідів та протеїнів в організмі інтоксикованих ТХМ щурів, причому біомаса дріжджів *P. rhodozyma* виявляє більш захисну дію, ніж β -каротин.

В умовах порушення прооксидантно-антиоксидантної рівноваги ступінь вияву руйнівної дії вільних радикалів на тканини залежить від потенційних можливостей організму мобілізувати антиоксидантний захист, а також злагодженої дії компонентів антиоксидантної системи, зокрема її ензимної та неензимної

ланок. Найпотужнішим природним антиоксидантом і ензимом першої ланки антиоксидантного захисту є СОД. Показники активності цього ензиму характеризують порушення метаболізму та глибину тканинного ураження, зумовлених оксидативним стресом [24]. У разі інтоксикації щурів ТХМ активність СОД у печінці, головному мозку та серці знижується на 45, 59 і 43% відповідно (табл. 2).

Крім того, у тварин 3-ї групи не виявлено зниження активності СОД в головному мозку та серці: рівень цього показника суттєво не відрізняється від контрольних значень. У щурів 4-ої групи активність цього ензиму у печінці, головному мозку та серці підвищується на 45, 44 та 30% відповідно (порівняно з 2-ою групою), проте вона істотно нижча, ніж у тварин контрольної групи.

Розщеплення продукту супероксиддисмутазної реакції – пероксиду водню – каталізують каталаза та глутатіонпероксидаза. У разі інтоксикації щурів ТХМ визначено зниження активності каталази у печінці у 2,0 рази (табл. 2). За таких умов у гомогенатах головного мозку та серця спостерігається лише тенденція до зниження активності цього ензиму. У тварин 4-ї групи активність каталази вище у 1,8 раза порівняно з тваринами 2-ї групи, проте рівня контрольних тварин не досягає, тоді як у тварин 3-ї групи активність каталази у

Таблиця 2. Вплив біомаси дріжджів *P. rhodozyma* та β -каротину на активність ензимів-антиоксидантів у щурів за дії тетрахлорметану, ($M \pm m$, $n = 4$)

Групи тварин	Печінка	Головний мозок	Серце
<i>Супероксиддисмутаза</i> , ум. од. \cdot хв ⁻¹ \cdot мг ⁻¹ протеїну			
1 – контрольна	4,7 \pm 0,2	0,60 \pm 0,02	5,6 \pm 0,2
2 – тетрахлорметан	2,6 \pm 0,1*	0,41 \pm 0,03*	2,5 \pm 0,1*
3 – <i>P. rhodozym</i> +тетрахлорметан	4,2 \pm 0,1* ⁺	0,62 \pm 0,01 ⁺	5,8 \pm 0,1 ⁺
4 – β -каротин+ тетрахлорметан	3,7 \pm 0,1* ⁺	0,50 \pm 0,04* ⁺	3,2 \pm 0,1* ⁺
<i>Каталаза</i> , мкмоль Н ₂ О ₂ \cdot хв ⁻¹ \cdot мг ⁻¹ протеїну			
1 – контрольна	120 \pm 2	4,31 \pm 0,46	15,3 \pm 1,6
2 – тетрахлорметан	61 \pm 3*	3,20 \pm 0,32	13,3 \pm 0,9
3 – <i>P. rhodozyma</i> +тетрахлорметан	133 \pm 3* ⁺	4,11 \pm 0,58	19,0 \pm 1,1 ⁺
4 – β -каротин+тетрахлорметан	110 \pm 4* ⁺	3,80 \pm 0,47	13,2 \pm 1,4
<i>Глутатіонпероксидаза</i> , нмоль ВГ \cdot хв ⁻¹ \cdot мг ⁻¹ протеїну			
1 – контрольна	366 \pm 13	101,5 \pm 2,3	108,5 \pm 3,5
2 – тетрахлорметан	204 \pm 16*	74,5 \pm 3,5*	101,6 \pm 3,6
3 – <i>P. rhodozyma</i> +тетрахлорметан	297 \pm 9* ⁺	125,3 \pm 2,5* ⁺	116,3 \pm 4,6 ⁺
4 – β -каротин+ тетрахлорметан	291 \pm 18* ⁺	86,5 \pm 3,8* ⁺	100,7 \pm 3,4

печінці та серці вище від контрольних тварин відповідно на 10,8 та 24,2%.

ГПО бере участь у знешкодженні як H_2O_2 , так і органічних гідропероксидів. Відновлення пероксидів припиняє вільнорадикальні процеси і попереджає появу токсичних вторинних метаболітів. Інтوكсикація піддослідних тварин ТХМ приводить до зниження активності цього ензиму в печінці на 79,4%, а в головному мозку – на 36,2%. Не виявлено вірогідного впливу ТХМ на активність ГПО у серці шурів (табл. 2). Введення ТХМ тваринам, яких годували кормом із додаванням біомаси дріжджів або β -каротину підвищує активність цього ензиму в печінці на 45,6 та 42,6% відповідно, проте у тварин контрольної групи вона нижче. Аналогічну картину спостерігали і при дослідженні ГПО головного мозку тварин 4-ї групи. У мозку тварин 3-ї групи активність цього ензиму вище на 23,4% (порівняно з контрольною групою) та на 68,2% (порівняно з 2-ю групою шурів). Слід зазначити, що активність ГПО в головному мозку і каталази у печінці шурів, яким згодували біомасу дріжджів, вірогідно вища від інтактних тварин, що має, очевидно, компенсаторний характер і може свідчити про підвищену адаптаційну здатність організму тварин цієї групи до дії ксенобіотика.

У забезпеченні захисту організму від дії реакційноздатних кисневих метаболітів важливу роль відіграють неензимні антиоксиданти. Результати досліджень показують (табл. 3), що інтоксикація шурів ТХМ не впливає на концентрацію ВГ у головному мозку шурів, але знижує рівень цього показника у печінці на 35,3% та серці – на 16,5%. У зв'язку з тим, що активність ГПО у цих тварин також зменшується (табл. 2), причиною зниження вмісту ВГ може бути кон'югація його з метаболітами ксенобіотика, а також інгібування синтезу глутатіону в печінці, оскільки відомо, що біля 90% цієї сполуки, циркулюючої в організмі, синтезується саме в печінці [25]. Утримання шурів, інтоксикованих ТХМ, на раціоні з каротиновмісними добавками запобігає зниженню концентрації ВГ.

Компонентами неензимної ланки системи антиоксидантного захисту є також вітаміни А і Е. Введення ТХМ шурам спричиняє зниження в печінці вмісту вітаміну А на 28,8%, а вітаміну Е – на 28,6%. Згодування шурам біомаси дріжджів *P. rhodozyma* або β -каротину запобігає зниженню рівня цих вітамінів в печінці у разі токсичної дії ТХМ. У шурів, інтоксикованих ТХМ, яким згодували біомасу дріжджів або β -каротин, концентрація вітаміну А в печінці є вищою відповідно на 22,6 та 34,2% порівняно

до стрес-контролю і вірогідно не відрізняється від такої в інтактних тварин. Концентрація вітаміну Е в печінці шурів 3-ї групи, істотно не відрізняється від такої у контрольній групі і є вищою на 34,5%, ніж у тварин 2-ї групи. В той же час у шурів 4-ої групи, вміст вітаміну Е на 27,2% вище порівняно з інтоксикованими тваринами 2-ї групи. Одержані нами результати узгоджуються з даними інших авторів [26] про те, що каротиноїди беруть участь у регенерації окисленої форми вітаміну Е.

Загальний рівень пероксидного окислення біомолекул визначається співвідношенням процесів пероксидації та станом системи антиоксидантного захисту. У систему антиоксидантного захисту входять компоненти з різним механізмом інгібування вільнорадикального окислення. Оцінити загальну активність антиоксидантної системи шляхом визначення активності окремих її складових практично неможливо через синергізм у разі взаємодії різних ланок. У зв'язку з цим, поряд із визначенням окремих компонентів АОС, важливо оцінити сумарну антиоксидантну активність тканин різних органів, тобто здатність організму протистояти активації ПОЛ. Одержані результати показують, що загальна антиоксидантна активність в організмі шурів за введення їм ТХМ знижується у печінці на 24,5%, у головному мозку на – 19,9%, у серці на – 28,9% (табл. 3). В інтоксикованих ТХМ тварин, яким утримували на раціоні з добавкою біомаси каротинсинтезуючих дріжджів або β -каротину, негативний вплив ТХМ зменшується. Слід зазначити, що найкращу коригуючу дію каротиноїдів виявлено у тканинах серця: за дії ТХМ зниження сумарної антиоксидантної активності становить 28,9%, у разі згодування біомаси каротинсинтезуючих дріжджів – на 4,8%, а додавання β -каротину – на 4,1%. Аналогічні показники при дослідженні головного мозку становили 19,9; 7,1 та 10,4% відповідно.

Активация вільнорадикальних процесів під дією ТХМ супроводжується патологічними змінами у клітинах печінки, проявом яких є підвищення активності амінотрансфераз у сироватці крові. Утримання шурів на раціоні з добавкою біомаси каротинсинтезуючих дріжджів або β -каротину зменшує токсичний вплив ТХМ. Так, введення шурам ТХМ підвищує у сироватці крові активність АсАТ у 3,8 раза, активність АлАТ – у 7,4 раза. Активність АсАТ та АлАТ у сироватці крові шурів 3-ї групи знижується порівняно з тваринами 2-ї групи (стрес-контроль) на 68 та 76% відповідно і знаходиться у межах фізіологічних коливань. У разі згодування шурам β -каротину, він

Таблиця 3. Вміст відновленого глутатіону, вітамінів А та Е і сумарної антиоксидантної активності в печінці щурів, ($M \pm m$, $n = 4$)

Групи тварин	Відновлений глутатіон, мкмоль · г ⁻¹	Вітамін А, мкг · г ⁻¹	Вітамін Е, мкг · г ⁻¹	Сумарна антиоксидантна активність, %
1 – контрольна	6,8 ± 0,2	20,5 ± 1,9	7,7 ± 0,6	72,8 ± 0,9
2 – тетрахлорметан	4,4 ± 0,2*	14,6 ± 1,3*	5,5 ± 0,5*	48,3 ± 3,1*
3 – <i>P. rhodozoma</i> + тетрахлорметан	7,3 ± 0,1 ⁺	17,9 ± 1,5	7,4 ± 0,5 ⁺	67,8 ± 0,9* ⁺
4 – β-каротин + тетрахлорметан	6,9 ± 0,1 ⁺	19,6 ± 0,3 ⁺	7,0 ± 0,1 ⁺	63,1 ± 1,0* ⁺

Таблиця 4. Активність аспартатамінотрансферази (АсАТ) та аланінамінотрансферази (АлАТ) у сироватці крові інтоксикованих тетрахлорметаном щурів, (мккат · л⁻¹, $M \pm m$, $n = 4$)

Групи тварин	АсАТ	АлАТ
1 – контрольна	0,15 ± 0,01	0,12 ± 0,01
2 – тетрахлорметан	0,59 ± 0,01*	0,86 ± 0,01*
3 – <i>P. rhodozoma</i> + тетрахлорметан	0,19 ± 0,01* ⁺	0,21 ± 0,01* ⁺
4 – β-каротин + тетрахлорметан	0,26 ± 0,01* ⁺	0,41 ± 0,01* ⁺

також виявляє коригуючий вплив у разі ушкодження ТХМ, однак активність досліджуваних ензимів у тварин даної групи є вищою за фізіологічну норму (табл. 4).

Антиоксидантна дія β-каротину зумовлена наявністю в молекулі поліенового ланцюга та делокалізованої π-електронної структури. Властивості каротиноїдів, як антиоксидантів, проявляються в низці складних ефектів на різних рівнях організації: від мембранних утворень до організму в цілому [7].

Коригуюча дія біомаси дріжджів на вільнорадикальні процеси окислення, очевидно, зумовлена комплексом факторів, зокрема і наявністю каротиноїду астаксантину, який виявляє значно вищу антиоксидантну дію, ніж β-каротин [8]. Вміст каротиноїдів у біомасі дріжджів, яку використовували як добавку до раціонів щурів, досягав 20 мг/г сухої біомаси, а вміст астаксантину становив 13 мг/г сухої біомаси.

На відміну від каротинів оксикаротиноїди мають полярні групи і можуть знаходитися на межі водної та ліпідної фаз, завдяки чому вони можуть діяти як у ліпідній, так і у водній фазах. Також було показано, що оксикаротиноїди стійкіші до руйнівної дії вільних радикалів порівняно з іншими каротиноїдами. Клітини дріжджів *P. rhodozoma* окрім каротиноїдів можуть містити інші біологічно активні речовини, які виявляють захисну дію на організм щурів у разі інтоксикації їх ТХМ. Відомо, що

біомаса дріжджів *P. rhodozoma* містить сильний природний антиоксидант фафіол (phaffiaol), який за хімічною будовою є 2,4-диметокси-6-гептадецилфенолом. Антиоксидантна активність фафіола у модельних дослідженнях з еритроцитарними мембранами була такою самою, як і у α-токоферолу [27].

Отже, одержані результати дають можливість дійти висновку, що досліджувані добавки каротиноїдів гальмують розвиток оксидативного стресу в умовах інтоксикації щурів ТХМ.

ДЕЙСТВИЕ β-КАРОТИНА И КАРОТИНОСИНТЕЗИРУЮЩИХ ДРОЖЖЕЙ *Phaffia rhodozoma* НА ОКСИДАТИВНЫЙ СТРЕСС У КРЫС, ИНТОКСИЦИРОВАННЫХ ТЕТРАХЛОРМЕТАНОМ

М. И. Симонова, Н. И. Борецкая,
М. В. Каминская, Г. И. Нечай,
А. В. Колисник, В. В. Влизло

Институт биологии животных
НААН Украины, Львов;
e-mail: hv_kolisnyk@ukr.net

Установлено, что введение β-каротина или биомассы каротиносинтезирующих дрожжей *P. rhodozoma* в рацион крыс, интоксигированных тетрахлорметаном, уменьшает активность аминотрансфераз в сыворотке крови, а так-

же тормозит развитие оксидативного стресса: снижает содержание продуктов пероксидного окисления липидов и карбонильных групп протеинов в тканях печени, головного мозга и сердца. Активность супероксиддисмутазы, каталазы и глутатионпероксидазы в гомогенатах печени экспериментальных животных в 1,6, 2,2 и 1,5 раза выше по сравнению с контрольной группой.

Ключевые слова: β -каротин, дрожжи *Phaffia rhodozyma*, оксидативный стресс, тетрахлорметан.

THE INFLUENCE OF β -CAROTENE AND CAROTENE PRODUCING YEAST *Phaffia rhodozyma* ON OXIDATIVE STRESS IN RATS TREATED WITH TETRACHLOROMETHANE

M. I. Simonova, N. I. Boretska, M. V. Kaminska, H. I. Nechay, A. V. Kolisnyk, V. V. Vlizlo

Institute of animal biology NAASU, Lviv
e-mail: hv_kolisnyk@ukr.net

S u m m a r y

Supplementation of rats' diet with β -carotene or biomass of carotene producing yeast *Phaffia rhodozyma* caused a decrease of aminotransferases in the blood serum as well as a decrease of lipid peroxidation products and protein carbonil groups in the liver, brain and myocardium tissues of animals treated with tetrachloromethane. When compared to the control group the activity of superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase in the liver of carotene fed rats were respectively 1.6, 2.2, and 1.5-fold higher. Thus, these supplements to standard diet slow down development of tetrachlorometane mediated oxidative stress in rats.

Key words: β -carotene, yeast *Phaffia rhodozyma*, oxidative stress, tetrachloromethane.

1. Турнаев К. Т. // Биохимия. – 2002. – 67, вып. 3. – С. 339–352.
2. Дубинина Е. Е. // Вопр. мед. хим. – 2001. – 47, № 6. – С. 561–581.
3. Єлисеєва О. П., Тимочко М. Ф., Абрагамович О. О. та ін. // Укр. мед. часопис. – 2003. – № 3. – С. 92–99.
4. Губський Ю. И. Коррекция химического поражения печени. – К.: Здоровье, 1999. – 430 с.
5. Jahn F., Reuter A., Karge E. et al. // Exp. Toxic. Pathol. – 1993. – 45, N 1. – P. 101–107.
6. Поляков Н. Э., Лешина Т. В. // Усп. химии. – 2006. – 75, № 12. – С. 1175–1192.
7. Burton G. W. // J. Nutr. – 1989. – 119, N 1. – P. 109–111.
8. Johnson E., Lewis M. // J. Gen. Microbiol. – 1979. – 115, N 2. – P. 173–183.
9. Колісник Г. В., Камінська М. В., Колісник М. І. та ін. // Ветеринарна біотехнологія. – 2008. – № 13 (1). – С. 129 – 137.
10. Колісник М. І. // Вісник Львів. ун-ту. – 2008. – вип. 46. – С. 65 – 70.
11. Современные методы в биохимии: моногр. / За ред. В. Н. Ореховича. – М.: Медицина, 1977. – С.63–64.
12. А. с. 1084681 СССР, МКИ G №33/48 Способ определения гидроперекисей липидов в биологических тканях / Мирончик В. В. Оpub. 07.04.84, Бюл. № 13.
13. Луцак В. І., Багнюкова Т. В., Луцак О. В. // Укр. біохім. журн. – 2004. – 76, № 6. – С. 136–141.
14. Чевари С., Андял Т., Штиренгер Д. // Лаб. дело. – 1991. – № 10. – С. 9–13.
15. Королюк М. А., Иванова Л. И., Майорова И. Г. // Там само. – 1988. – № 1. – С. 16–18.
16. Моин В. М. // Там само. – 1986. – № 12. – С. 724–727.
17. Промыслов М. Ш., Демчук М. Л. // Вопр. мед. химии. – 1990. – № 4. – С. 90–92.
18. Lowry O. H., Rosebrough M. J., Farr A. L., Randall R. J. // Biol. Chem. – 1951. – 193, N 1. – P. 265–275.
19. Thomas D. S., Berdenia L. M., Sidney R. // J. Lab. Clin. Med. – 1960. – 56, N 7. – P. 157–161.
20. Скурихин В. Н. // Бюлл. ВНИИ физиол., биохим. и пит. с.-х. животных. – 1991. – Вып. 2. – С. 79–81.
21. Лакин Г. Ф. Биометрия. – М.: Высшая школа, 1990. – 352 с.
22. Губський Ю. І., Левицький Е. Л., Горюшко Г. Г. та ін. // Укр. біохім. журн. – 2001. – 73, № 5. – С. 100–107.
23. Каримов И. З. // Лаб. диагн. – 2005. – № 1. – С. 7–13.
24. Белова Т. И., Судаков К. В. // Вест. АМН СССР. – 1990. – № 2. – С. 11–13.
25. Кулинский В. И., Колисниченко Л. С. // Усп. биол. химии. – 1990. – 31. – С. 157–180.
26. Haila K. Effects of carotenoids and carotenoid-tocopherol interaction on lipid oxidation in vitro / Dissertation. – 1999. – Univ. of Helsinki, Finland. Electronic versions available at: <http://ethesis.helsinki.fi/julkaisut/maa/skemi/vk/haila/>
27. Jinno S., Hata K., Shimidzu N. et al. // J. Antibiot. – 1998. – 73, N 5. – P.508–511.

Отримано 19.03.2010