

Г. Б. Вінярська¹, П. Г. Лихацький², О. І. Боднар¹, Л. С. Фіра², В. В. Грубінко¹
ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ ПЕДАГОГІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ В. ГНАТЮКА¹
ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І. Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО²

ВПЛИВ СЕЛЕН-ЦИНК-ЛІПІДНОЇ СУБСТАНЦІЇ ІЗ *CHLORELLA VULGARIS* ВІЕЈ. НА ОКСИДАТИВНИЙ ТА ЕНЕРГЕТИЧНИЙ СТАТУС ЩУРІВ

Шляхом інкубації одноклітинної водорості *Chlorella vulgaris* в аквакультурі з натрій селенітом та цинку сульфатом отримано і виділено стабільні селен-ліпідну та селен-цинк-ліпідну субстанції і вивчено їх вплив на оксидативний та енергетичний статус здорових щурів в експерименті. При введенні субстанцій у дозі 0,4 мкг селену, 2,5 мкг цинку і 0,5 мг ліпідів на 1 мл 1 % водно-крохмальної суспензії в організмі здорових щурів пригнічувалися прооксидантні процеси, зростала активність сукцинатдегідрогенази і цитохромоксидази, активізувалися антиоксидантний статус, глутаматдегідрогеназний шлях утворення глутамату, що сприяло утворенню та активному функціонуванню компонентів антиоксидантної системи – каталази, церулоплазміну, відновленого глутатіону в печінці й сироватці крові експериментальних тварин.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: селен-цинк-ліпідна субстанція, *Chlorella vulgaris* Віеј., оксидативні процеси, антиоксидантний статус, енергетичний обмін, щури.

ВСТУП. Одним із найбільш перспективних способів досягнення збалансованості харчування та профілактики порушень обміну речовин є використання біологічно активних добавок, в яких мінеральні речовини мають природне походження і перебувають у зв'язаній формі в природному комплексі з білками, вуглеводами та ліпідами. Значний інтерес становлять комплекси селену і цинку, які надходять у харчові ланцюги людини і тварин через рослини і відіграють значну роль у метаболізмі, що порушується при їх дефіциті.

Селен та цинк є важливими для обміну речовин, бо беруть участь у клітинному захисті від вільнорадикальних реакцій і тому корисні для запобігання значній кількості хвороб та їх лікування [15]. Роль цих елементів зумовлена їх присутністю в активному центрі деяких ферментів (наприклад, глутатіонпероксидази, йодтиронін-5-дейодинази й ін.) і каталітичною дією сполук селену та іонів цинку на реакції проміжного обміну й інгібування токсичної дії важких металів.

Щодо цинко- та селеновмісних препаратів, то споживання селеновмісних продуктів не може повністю задовольнити потреби людини в селені, як і багатьох інших мікроелементах, особливо в їх комплексі. Багато сучасних до-

бавок, однак, є синтетичними аналогами вітамінів і мінеральних речовин, вони не зв'язані в біологічні комплекси і можуть мати іншу структуру, ніж натуральні нутрієнти. Традиційно використовували нині селен-металові препарати ("Біоактив Селен+цинк", "Инулин с селеном", "ЛАТЛ с селеном", "Максифам", "Персифен", "Сефацель", "Селен с цинком Актив" та ін.) є фізичними сумішами або продуктами хімічного синтезу неорганічних сполук селену та солей есенціальних металів, завдяки чому вони часто мають незбалансований склад, можуть мати знижену ефективність засвоєння та, ймовірно, викликати алергічні реакції.

Останнім часом як джерела селену і цинку використовують одноклітинні фотосинтезувальні водорості [12], які є джерелом біологічно активних речовин, утворених за рахунок внутрішньоклітинного біосинтезу, і можуть поглинати й накопичувати екзогенні мікроелементи, включаючи їх до складу насамперед пігментів, білків і ліпідів [8]. Досить добре зарекомендували себе, наприклад, препарати з хлорели *Chlorella vulgaris*, яка є джерелом не тільки біологічно доступного хлорофілу, низки вітамінів, амінокислот тощо, а й жирних кислот, що мають антиоксидантний [21] чи антисклеротичний ефект [16, 22].

Серед селеновмісних препаратів водоростевого походження добре відомий препарат

© Г. Б. Вінярська, П. Г. Лихацький, О. І. Боднар, Л. С. Фіра, В. В. Грубінко, 2015.

“Селен-Спіруліна”, який являє собою висушені й подрібнені клітини цієї водорості, характеризується нестабільним вмістом селену та іонів металів, а оскільки він не очищений, то містить білки, вторинні метаболіти, що володіють алергенним ефектом (наприклад, окремі лізофосфоліпіди і феофітини), які можуть утворюватися за нестабільності умов культивування водоростей. У попередніх дослідженнях було встановлено оптимальні умови накопичення селену і цинку клітинами хлорели в аквакультури з біологічно адекватним для отримання біодобавок вмістом селену, цинку та складом ліпідів [10].

У зв'язку із зазначеним, метою цього дослідження було отримати із *Chlorella vulgaris* в аквакультури очищену селен-цинк-ліпідну субстанцію та вивчити її вплив на оксидативний і енергетичний статус здорових щурів в експерименті.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Дослідження проводили на мікропопуляціях альгологічно чистої культури *Chlorella vulgaris* Biej. ССАР-211/11в, яку вирощували в умовах накопичувальної культури на середовищі Фітцджеральда в модифікації Цендера і Горхема № 11 при температурі 22–25 °С та освітленні 2500 лк 16/8 год [7]. В експерименті, згідно з попередніми результатами [10], до культури водоростей додавали водний розчин натрій селеніту в розрахунку на Se^{4+} – 10,0 мг/дм³ та водний розчин $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ з кількістю Zn^{2+} – 5,0 мг/дм³. Біомасу живих клітин відбирали на 7-му добу культивування. Контролем була культура, яку вирощували в середовищі без селеніту та солі цинку.

Вміст селену в клітинах хлорели, які отримували шляхом центрифугування при 3000 об./хв протягом 10 хв, промивали 3 рази 0,005 М трис-НCl, далі осад озолювали нітратною кислотою (HNO_3) в герметичних бюксах при $t=120$ °С протягом 2 год, визначали спектрофотометрично з о'-фенілєндіаміном при довжині хвилі 335 нм [1].

Вміст іонів цинку в клітинах водоростей визначали атомно-адсорбційним методом на спектрофотометрі Selmi C-115 М.

Ліпіди з біомаси водоростей екстрагували хлороформ-метаноловою сумішшю у співвідношенні 2:1 за методом Фолча в модифікації [19]: до однієї масової частки вологої біомаси додавали 20 масових часток екстрагуючої суміші й залишали на 12 год. Неліпідні домішки з екстракту видаляли шляхом відмивання 1 % розчином KCl. Загальну кількість ліпідів визначали ваговим методом після відгонки екстрагуючої суміші [2]. Кількість селену та цинку в ліпідному комплексі визначали після їх озолювання нітратною

кислотою в герметичних бюксах при $t=120$ °С протягом 2 год.

Постановка експерименту. Наважку виділених із хлорели ліофілізованих ліпідного, селен-ліпідного чи селен-цинк-ліпідного комплексів, що містили 2,8 мг селену/г ліпідів, 4,2 мг цинку/г ліпідів, розчиняли в 1 % водному розчині крохмалю, 1 мл якого у підсумку містив 0,4 мкг селену, 2,5 мкг цинку та 0,45 мг ліпідів.

Досліди проводили на білих безпородних щурах-самцях масою 160–180 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію. Їх було поділено на чотири групи. До 1-ї ввійшли інтактні тварини (контроль, вводили щоденно одноразово 1 мл фізрозчину). Щурам 2-ї групи внутрішньошлунково через добу протягом 14 днів вводили ліпідну суспензію з хлорели на крохмальному розчині, що містила 0,4–0,5 мг ліпідів на 1 мл суспензії, тваринам 3-ї групи – 1 мл ліпідної суспензії на 1 % крохмальному розчині, що містила 0,4 мкг селену та 0,5 мг ліпідів, а щури 4-ї групи отримували разом із суспензією 0,4 мкг селену та 2,5 мкг цинку і 0,5 мг ліпідів на 1 мл суспензії, що співвідноситься з щоденними фізіологічними нормами споживання цих мікроелементів [26].

На 14-ту добу від початку експерименту проводили забій тварин шляхом етаназії під тіопенталом натрію.

Досліджували сироватку крові та печінку тварин. Із серця щурів забирали кров, яку центрифугували при 3000 об./хв протягом 30 хв. Отриману сироватку крові (надосадову рідину) використовували для проведення досліджень. Відібрану печінку (250 мг) застосовували для отримання гомогенату методом диференційного гомогенізування, яке проводили після попередньої перфузії з 2,5 мл фізіологічного розчину.

Активність вільнорадикальних процесів в організмі щурів оцінювали за вмістом кислотних тіобарбітур-активних продуктів (ТБК-АП) [4] і продуктів окиснювальної модифікації білків [9] у сироватці крові та гомогенаті печінки. Ступінь ендогенної інтоксикації визначали за вмістом молекул середньої маси (МСМ) у сироватці крові [14]. Метод полягає у виділенні кислоторозчинної фракції молекул середньої маси з наступною детекцією десятикратно розведеної надосадової рідини при довжині хвилі 254 та 280 нм проти дистильованої води на СФ-46.

Стан антиоксидантної системи вивчали за активністю каталази, вмістом церулоплазміну та відновленого глутатіону. Принцип методу визначення активності каталази (КФ 1.11.1.6) ґрунтується на здатності пероксиду водню за присутності ензиму утворювати з амоній

молібдатом стійкий забарвлений комплекс жовтого кольору [6]. Вміст церулоплазміну визначали за методом [3]. Принцип методу базується на здатності *l*-фенілендіаміну за присутності церулоплазміну окиснюватись з утворенням забарвлених сполук рожевого кольору.

Для визначення вмісту відновленого глутатіону використовували метод [5], принцип якого полягає у взаємодії 5,5-дитіобіс (2-нітробензойної) кислоти (реактив Елмана) з вільними SH-групами відновленого глутатіону з утворенням тіо-нітрофенільного аніона жовтого кольору, кількість якого прямо пропорційна вмісту SH-груп.

У печінці визначали активність деяких ферментів енергетичного метаболізму: сукцинатдегідрогенази (СДГ, КФ 1.3.99.1) – за окисненням сукцинату до фумарату фериціанідом калію, що реєстрували спектрофотометрично при довжині хвилі 420 нм [5]; цитохромоксидази (ЦО, КФ 1.9.3.1) – за конденсацією α -нафтолу та *l*-фенілендіамінгідрохлориду з утворенням фенолу (540 нм) [27]; глутаматдегідрогенази (ГДГ, КФ 1.4.1.2) – за швидкістю окиснення НАДН або НАДФН при 340 нм [13].

Кількість білків визначали за Lowry та ін. [23].

Одержані результати оброблено з використанням методів варіаційної статистики за допомогою програми Statistica 6,0.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Результати наших попередніх досліджень показали, що, порівняно з білками і вуглеводами, саме ліпіди акумулюють найбільшу кількість селену та цинку, оскільки вони у водоростей відіграють важливу роль у процесах росту, розмноження і фотосинтетичній діяльності, а також виконують енергетичну функцію [10]. Як свідчать результати цього дослідження, протягом 7 діб інкубації водоростей із селенітом та іонами цинку спостерігали значне накопичення селену і цинку клітинами *Ch. vulgaris* (табл. 1).

За дії селеніту вміст селену збільшився на 112,1 %, а за спільної дії його з іонами Zn^{2+} – на 131,3 % щодо контролю. Хлорела також активно накопичує цинк (майже у 9 разів проти контролю), який є одним з основних мікроелементів, що виконує в організмі регуляторні функції у

багатьох ланках метаболізму, оскільки здатний зв'язуватися майже з 300 різними біомолекулами [29]. Вміст селену в ліпідах значно збільшується при спільному впливі селеніту і Zn^{2+} порівняно з дією селеніту окремо. Це може бути пов'язано з біологічною потребою водорості в цих мікроелементах, а також із фізіологічною роллю селену в ліпідах як антиоксиданта. Відносно селену і цинку як вкрай необхідних для метаболізму хлорели мікроелементів, яка розмножується дуже швидко, в її клітині добре сформовані та розвинуті фізіолого-біохімічні механізми поглинання і депонування при їх надмірному вмісті у середовищі культивування [17].

Хроматографічний аналіз селеновмісних ліпідів з одноклітинних зелених водоростей *Chlorella vulgaris* [10], *Dunaliella primolecta* та *Porphydium cruentum* [28], які зростали за високої концентрації Se (IV), показав, що селен присутній в усіх фракціях ліпідів, однак механізм включення елемента в усі класи ліпідів поки що не зрозумілий. Однак відмітимо, що включені в ліпіди селен і цинк зв'язуються з ними міцно, оскільки у результаті процедури виділення в їх складі залишається достатньо велика кількість даних мікроелементів. Можливо, цей зв'язок не тільки є результатом адсорбції мікроелементів, а й залучає їх до складу молекул ліпідів, насамперед фосфоліпідів, за місцем подвійного зв'язку в ненасичених жирних кислотах за допомогою ковалентного чи координаційного хімічного зв'язку [25], що дозволяє вважати виділений комплекс збалансованим за складом та фізіологічно адекватним.

Дослідження впливу екстракту ліпідів, селен-ліпідного та селен-цинк-ліпідного комплексів із хлорели на окисдатований статус щурів показало (табл. 2), що всі використані нами чинники пригнічували активність окиснювальних процесів у сироватці крові піддослідних тварин.

Під час вивчення процесів ліпопероксидації було відмічено зниження вмісту ТБК-АП у сироватці крові щурів при застосуванні селен-ліпідного комплексу на 19 % порівняно з контролем, після використання селен-цинк-ліпідного комплексу він зменшився на 23 %.

Очевидно, обидва мікроелементи, які є в складі комплексу, активно включаються в

Таблиця 1 – Вміст селену та цинку в ліпідному комплексі з хлорели ($M \pm m$; $n=5$)

Вміст	Контроль	Дія Se (IV)	Відхилення від контролю, %	Дія Se (IV)+ Zn^{2+}	Відхилення від контролю, %
Селену, мг/г сухої маси ліпідів	34,73 \pm 1,55	73,66 \pm 4,31*	+112,1	80,33 \pm 2,98*	+131,3
Цинку, мг/г сухої маси ліпідів	423,33 \pm 24,45	423,33 \pm 24,45	–	4202,14 \pm 254,07*	+892,6

Примітка. * – відмінності вірогідні ($p < 0,05$).

Таблиця 2 – Показники окиснювальних процесів в організмі щурів після застосування селен-ліпідного та селен-цинкового комплексів ($M \pm m$; $n=24$)

Показник	Контроль	Ліпідний комплекс	Селен-ліпідний комплекс	Селен-цинк-ліпідний комплекс
Сироватка крові				
ТБК-АП, мкмоль/л	18,99±1,63	19,28±1,12	15,44±0,76	14,57±0,32*
2,4-ДНФГ ₁ , мкмоль/г білка	0,061±0,007	0,036±0,004*	0,041±0,002*	0,052±0,003
2,4-ДНФГ ₂ , мкмоль/г білка	0,029±0,002	0,025±0,003	0,026±0,001	0,029±0,002
Печінка				
ТБК-АП, мкмоль/кг	84,40±5,83	92,95±5,43	88,41±7,98	91,88±8,22
2,4-ДНФГ ₁ , мкмоль/г білка	0,086±0,004	0,055±0,004*	0,053±0,002*	0,053±0,002*
2,4-ДНФГ ₂ , мкмоль/г білка	0,060±0,004	0,058±0,004	0,050±0,001*	0,054±0,003

Примітка. Тут і в наступних таблицях: * – вірогідні зміни порівняно з контрольною групою тварин ($p < 0,05$).

активні центри ферментів антиоксидантного захисту, що і сприяє більш вираженому пригніченню активності процесів ПОЛ. У печінці спостерігали протилежні зміни активності процесів ліпопероксидації. Відмічено незначне зростання вмісту ТБК-АП при застосуванні всіх досліджуваних комплексів, хоча відмінності показників у групах не були вірогідними.

Дослідження вмісту продуктів окисної модифікації білків показало, що введення в організм ліпідного та селен-ліпідного комплексів викликало вірогідне зменшення у сироватці крові вмісту 2,4-ДНФГ основного характеру. При вивченні продуктів окисної модифікації білків нейтрального характеру в сироватці крові спостерігали тенденцію до зниження їх вмісту в усіх дослідних групах щурів порівняно з контрольними. У печінці тварин після застосування трьох досліджуваних комплексів вміст 2,4-ДНФГ основного характеру вірогідно зменшився.

Отже, ліпідні комплекси, виділені з хлорели та збагачені мікроелементами, проявляють ефективний вплив на окиснювальні процеси в організмі здорових тварин, знижуючи їх активність.

У зв'язку з цим, доцільним було дослідження активності компонентів антиоксидантного захисту організму. Ми встановили, що після застосування всіх досліджуваних комплексів у сироватці крові вірогідно зростали активність каталази, вміст церулоплазміну та відновленого глутатіону.

Аналогічно констатовано, що ці показники суттєво підвищувались і в печінці (табл. 3).

Результати вивчення показників антиоксидантного захисту підтверджують наше припущення про активне включення мікроелементів, які в комплексі з ліпідами легко проникають через плазматичні мембрани клітин, у структуру ензимів та їх системи, що і призводить до підвищення активності останніх та зниження інтенсивності окиснювальних процесів у організмі.

Останнім часом великого значення надають різним пептидам в організмі людини, що відіграють ключову роль у процесах взаємодії зі сполуками ендо- та екзогенного характеру. Так, наприклад, для інактивації ряду ліків необхідна кон'югація з глутатіоном (трипептидом). Відповідно, потенціювання ефектів ліків можна спостерігати при конкуруванні за одні й ті ж ендогенні субстрати – пептиди, ефективно знижуючи їх рівень.

Загальновідомо, що рівень молекул середньої маси варіює залежно від метаболічного стану організму і, певною мірою, є прогностичним критерієм порушення обмінних процесів. Основна частина МСМ – олігопептиди – представлена речовинами пептидної природи, які виконують різні функції, в тому числі й регуляторні [11].

Ми вивчили вміст МСМ у сироватці крові здорових щурів після введення в їх організм

Таблиця 3 – Показники антиоксидантної системи щурів після застосування селен-ліпідного та селен-цинк-ліпідного комплексів ($M \pm m$; $n=24$)

Показник	Контроль	Ліпідний комплекс	Селен-ліпідний комплекс	Селен-цинк-ліпідний комплекс
Сироватка крові				
Каталаза, мкат/л	0,152±0,007	0,175±0,008	0,190±0,009*	0,223±0,005*
Церулоплазмін, г/л	19,70±1,39	24,35±0,69*	25,08±0,77*	27,56±1,10*
Відновлений глутатіон, ммоль/л	0,27±0,01	0,44±0,03*	0,58±0,03*	0,71±0,03*
Печінка				
Каталаза, мкат/кг	0,252±0,002	0,267±0,002*	0,271±0,0007*	0,281±0,001*
Відновлений глутатіон, ммоль/кг	0,63±0,06	0,92±0,02*	0,97±0,03*	1,06±0,02*

ліпідного, селен-ліпідного та селен-цинк-ліпідного комплексів із хлорели (табл. 4). Застосування всіх досліджуваних комплексів призвело до зниження вмісту МСМ. Найбільш ефективним виявився селен-ліпідний комплекс, який викликав зменшення вмісту МСМ₁ у 1,6 раза, вмісту МСМ₂ – у 1,4 раза. Можливо, однією з причин зниження вмісту МСМ у сироватці крові здорових тварин є конкурування ліпідного комплексу з глутатионом, вміст якого активно зростає у піддослідних щурів.

Результати вивчення вмісту МСМ дозволяють припустити можливість застосування використаних нами досліджуваних комплексів за різних патологічних станів організму, що супроводжуються поглибленням ендогенної інтоксикації, маркерами якої є середньомолекулярні пептиди. За умов патології ліпідний комплекс із хлорели, збагачений мікроелементами, очевидно, зможе кон'югуватись із середніми молекулами, чим призведе до дезінтоксикації організму.

Одним із найпоказовіших критеріїв успішності формування адаптаційних стратегій є ефективність функціонування енергетичних систем в організмі. Враховуючи велику кількість ферментів, що беруть участь у генеруванні енергії в клітині, у нашому дослідженні визначено ключовий фермент циклу трикарбонових кислот – сукцинатдегідрогеназу та електронно-транспортного ланцюга – цитохромоксидазу, а також глутаматдегідрогеназу, яка пов'язує енергетичні та біосинтетичні процеси в клітині.

Встановлено, що ліпідний екстракт та його селеновий комплекс не впливали на активність СДГ, а активність ЦО зростала лише за дії ліпідів окремо (табл. 5). При цьому селен-цинк-ліпідний

комплекс збільшував активність СДГ та ЦО на 32,16 і 25,20 % відповідно проти їх значень у контрольній групі щурів.

Зростання активності цитохромоксидази як за дії ліпідів окремо, так і за дії їх комплексу із селеном та цинком може бути пов'язане зі збільшенням енерговитрат на адаптаційні процеси, насамперед біосинтез компонентів антиоксидантної системи, що при дії селен-цинк-ліпідного комплексу активується. Крім того, жирні кислоти [18] та іони металів здатні активізувати її каталітичні властивості на молекулярному рівні [20].

Щодо активності сукцинатдегідрогенази, то вона володіє високим каталітичним потенціалом, який може бути реалізований при різних фізіологічних станах організму. Фермент бере участь у здійсненні регуляції і взаємозв'язку окремих шляхів не тільки окиснювального, але й пластичного обміну [24]. Тому зростання активності сукцинатдегідрогенази узгоджується з підвищенням активності цитохромоксидазної ланки електронно-транспортного ланцюга.

НАДН-глутаматдегідрогеназна активність в усіх варіантах експерименту, особливо за дії селен-ліпідного та селен-цинк-ліпідного комплексів із хлорели, достовірно знижувалася (табл. 5). Натомість активність НАДФН-ГДГ при введенні щурам як ліпідного, так і селен-ліпідного та селен-цинк-ліпідного комплексів достовірно зростала на 15,86, 23,08 і 37,02 % відповідно щодо показника у тварин контрольної групи.

Спрямованість глутаматдегідрогеназної реакції, яка є зворотною, а її напрям визначається наявністю коферменту (НАД-залежна – пряма, НАДФ-залежна – зворотна), зумовлює спря-

Таблиця 4 – Вміст молекул середньої маси у сироватці крові щурів після застосування селен-ліпідного та селен-цинк-ліпідного комплексів ($M \pm m$; $n=24$)

Показник	Контроль	Ліпідний комплекс	Селен-ліпідний комплекс	Селен-цинк-ліпідний комплекс
Сироватка крові				
МСМ ₁	0,77±0,05	0,54±0,04*	0,49±0,07*	0,52±0,03*
МСМ ₂	0,59±0,05	0,55±0,03	0,42±0,03*	0,50±0,03

Таблиця 5 – Активність деяких ферментів енергетичного обміну в печінці щурів після застосування селен-ліпідного та селен-цинк-ліпідного комплексів ($M \pm m$; $n=24$)

Активність	Контроль	Ліпідний комплекс	Селен-ліпідний комплекс	Селен-цинк-ліпідний комплекс
СДГ, нмоль сукцинату/мг білка·хв	45,61±4,32	48,54±5,56	43,87±3,57	60,28±5,77*
ЦО, мкг індофенолу синього/мг білка·хв	61,36±3,67	75,65±4,22*	61,17±2,37	76,82±3,30*
НАДН-ГДГ, мкмоль×10 ⁻³ НАДН/мг білка·хв	1,79±0,09	1,66±0,06	1,07±0,04*	1,21±0,08*
НАДФН-ГДГ, мкмоль×10 ⁻³ НАДФН/мг білка·хв	2,08±0,12	2,41±0,14*	2,56±0,18*	2,85±0,11
НАДН-ГДГ/НАДФН-ГДГ	0,86	0,68	0,42	0,65

мування метаболізму [24]. В прямій реакції відбувається дезамінування глутамату з утворенням 2-оксоглутарату, що виконує енергетичну функцію шляхом подальшого його використання у циклі Кребса або інших метаболічних системах. У зворотній реакції фермент спрямовує метаболізм у бік біосинтезу амінокислот – синтазний шлях.

В усіх випадках спостерігали зменшення показника співвідношення НАДН-ГДГ/НАДФ-ГДГ, що свідчить про активізацію синтазної ланки азотного метаболізму. Амінування кетокислот та утворення глутамату, а з нього інших амінокислот, можуть переважати у зв'язку з посиленням утворенням протеїнових сполук – компонентів антиоксидантної системи – каталази, церулоплазміну, відновленого глутатіону, що виявлено як у печінці, так і в сироватці крові експериментальних тварин.

Отже, проведені дослідження дозволили відзначити позитивний вплив селен-ліпідного і селен-цинк-ліпідного комплексів із хлорели

на метаболічні процеси у здоровому організмі й розкрили перспективу їх використання як антиоксидантів та антигіпоксантів за умов патології.

ВИСНОВКИ. Зі складу хлорели *Chlorella vulgaris* Biej. ССАР-211/11в в умовах аквакультури виділено стабільні селен-ліпідний та селен-цинк-ліпідний комплекси, за введення яких у дозі 0,4 мкг селену, 2,5 мкг цинку і 0,5 мг ліпідів на 1 мл 1 % водно-крохмальної суспензії в організмі здорових щурів пригнічувалися прооксидантні процеси, зростала активність сукцинатдегідрогенази та цитохромоксидази, активізувалися антиоксидантний статус, глутаматдегідрогеназний шлях утворення глутамату, а з нього інших амінокислот, які можуть бути спрямовані на утворення протеїнових сполук – компонентів антиоксидантної системи – каталази, церулоплазміну, відновленого глутатіону, що виявлено як у печінці, так і в сироватці крові експериментальних тварин.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Дедков Ю. М. Селен: биологическая роль, химические свойства и методы определения / Ю. М. Дедков, А. В. Мусатов. – М., 2002. – С. 19–23. – Деп. в ВИНТИ 08.10.02, № 1688–В2002. 5,90.
2. Кейтс М. Техника липидологии. Выделение, анализ и идентификация липидов / М. Кейтс. – М.: Мир, 1975. – 322 с.
3. Колб В. Г. Визначення активності церулоплазміну в крові / В. Г. Колб, В. С. Камишников // Клиническая биохимия. – Минск: Беларусь, 1976. – С. 219–220.
4. Луцка В. І. Показники оксидативного стресу. Тіобарбітурактивні продукти і карбонільні групи білків / В. І. Луцка, Т. В. Багнюкова, О. В. Луцка // Укр. біохім. журн. – 2004. – 76, № 3. – С. 136–141.
5. Методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен): учеб. пособ. / под ред. М. И. Прохоровой. – Л.: Изд-во Ленингр. ун-та, 1982. – 273 с.
6. Метод определения активности каталазы / М. А. Королук, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова, В. Е. Токарев // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16–19.
7. Методы физиолого-биохимического исследования водорослей в гидробиологической практике / под ред. А. В. Топачевского. – К.: Наукова думка, 1975. – 247 с.
8. Минюк Г. С. Влияние селена на жизнедеятельность морских и пресноводных микроводорослей / Г. С. Минюк, И. В. Дробецкая // Экология моря. – 2000. Вып. 54. – С. 26–37.
9. Муравьева Л. Е. Окислительная модификация белков: проблемы и перспективы исследования / Л. Е. Муравьева // Фундаментал. исследования. – 2010. – № 1. – С. 74–78.
10. Накопление селена в липидах *Chlorella vulgaris* Beijer. (CHLOROPHYTA) *in vitro* / Г. Винярская, О. Боднар, А. Станиславчук, В. Грубинко // Actual problems in modern phycolgy: Y International Conference, 3–5 nov. 2014, Chisinau, Moldova / ed by Salaru Vasile [et al.]. – Chişineu: CEP USM, 2014. – P. 153–158.
11. Никольская В. А. Биохимический аспект рассмотрения роли молекул средней массы в организме / В. А. Никольская, Ю. Д. Данильченко, З. Н. Меметова // Ученые записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского. Серия "Биология, химия". – 2013. – 6 (65), № 1. – С. 139–145.
12. Перспективи використання мікроводоростей у біотехнології / О. К. Золоторьова, Є. І. Шнюкова, О. О. Сиваш, Н. Ф. Михайленко. – К.: Альтерпрес, 2008. – 234 с.
13. Софьян А. В. Глутаматдегидрогеназы одноклеточной зеленой водоросли. Кинетические свойства / А. В. Софин, В. Р. Шатилов, В. Л. Кретович // Биохимия. – 1984. – 49, № 2. – С. 334–345.
14. Среднемолекулярные пептиды сыворотки крови крыс при остром повреждении печени и введении йодированного масла / И. М. Туряница, Л. М. Росток, Т. М. Федорович, С. М. Туряница // Укр. биохим. журн. – 1991. – 63, № 2. – С. 102–105.

15. Шестопапов А. Е. Микроэлементные комплексы в клинической медицине [Электронный ресурс] / А. Е. Шестопапов, А. В. Дмитриев. – Режим доступа : [http://medi.ru/doc/321301.htm].
16. Chovančíková M. Effects of high-fat and *Chlorella vulgaris* feeding on changes in lipid metabolism in mice / M. Chovančíková, V. Šimek // *Biologia (Bratislava)*. – 2001. – **56**, № 6. – P. 661–666.
17. Effect of Selenate on Viability and Selenomethionine Accumulation of *Chlorella sorokiniana* Grown in Batch Culture / C. Gojkovic, C. Vílchez, R. Torronteras [et al.] // *The Scientific World Journal*. – Hindawi Publishing Corporation, 2014. – **2014**, Article ID 401265. – P. 1–13.
18. Fatty acids as modulators of cytochrome c oxidase in proteoliposomes / M. Sharpe, I. Perin, J. Wigglesworth, J. Nicholls // *Biochem. P.* – 1996. – **320**. – P. 557–561.
19. Hokin L. E. Studies on the characterization of the sodium-potassium transport adenosine triphosphatase IX on the role of phospholipids in the enzyme / L. E. Hokin, T. D. Hexum // *Arch. Biochem & Biophys.* – 1992. – **151**, № 2 – P. 58–61.
20. Horváth I. Catalysis by Metal Complexes / “Activation and catalytic reactions of saturated hydrocarbons in the presence of metal complexes” / I. Horváth, D. Ittel, N. van Leeuwen ; Ed. B. R. James. – New York, Boston, Dordrecht, London, Moscow : Kluwer Academic Publishers, 2000. – **21**. – 550 p.
21. Kim Y. J. Effect of *Chlorella vulgaris* intake on cadmium detoxification in rats fed cadmium / Y. J. Kim, S. Kwon, M. K. Kim // *Nutr. Res. Pract.* – 2009. – **3**, № 2. – P. 89–94.
22. Lee H. S. Effect of *Chlorella vulgaris* on lipid metabolism in Wistar rats fed high fat diet / H. S. Lee, H. J. Park, M. K. Kim // *Nutr. Res. Pract.* – 2008. – **2**, № 4. – P. 204–210.
23. Protein measurement with the folin phenol reagent / O. H. Lowry, N. I. Rosenbroug, A. L. Farr, R. I. Randall // *J. Biol. Chem.* – 1951. – **193**, № 1. – P. 265–275.
24. Metzler D. E. *Biochemistry: The Chemical Reactions of Living Cells* / D. E. Metzler. – 2nd edition. – New York–London : Academic Press, 2003. – 1973 p.
25. Selenium // *Alternative Medicine Review*. – 2003. – **8**, № 1. – P. 63–71.
26. Selenium, systemic immune response syndrome, sepsis and outcome in critically ill patients / X. Forceville, D. Vitoux, R. Gauzit [et al.] // *Crit. Care Med.* – 1998. – **26**. – P. 536–544.
27. Straus W. Colometric microdetermination of cytochrome c oxidase / W. Straus // *J. Biol. Chem.* – 1954. – **207**, № 2. – P. 733.
28. The binding of selenium to the lipids of two unicellular marine algae / J. M. Gennity, N. R. Bottino, R. A. Zingaro [et al.] // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 1984. – **118**, № 1. – P. 176–182.
29. Vallee B. L. The biochemical basis of zinc physiology / B. L. Vallee, K. H. Falchuk // *Physiol. Rev.* – 1993. – **73**. – P. 79–118.

Г. Б. Винярская¹, П. Г. Лихацкий², О. И. Боднар¹, Л. С. Фира², В. В. Грубинко¹

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ПЕДАГОГИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ В. ГНАТЮКА¹
 ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО²

ВЛИЯНИЕ СЕЛЕН-ЦИНК-ЛИПИДНОЙ СУБСТАНЦИИ ИЗ *CHLORELLA VULGARIS* ВІЕЈ. НА ОКСИДАТИВНЫЙ И ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ СТАТУС КРЫС

Резюме

Путем инкубации одноклеточной водоросли *Chlorella vulgaris* в аквакультуре с натрия селенитом и цинка сульфатом получено и выделено стабильные селен-липидную и селен-цинк-липидную субстанции и изучено их влияние на оксидативный и энергетический статус здоровых крыс в эксперименте. При введении субстанций в дозе 0,4 мкг селена, 2,5 мкг цинка и 0,5 мг липидов на 1 мл 1 % водно-крахмальной суспензии в организме здоровых крыс подавлялись прооксидантные процессы, возрастала активность сукцинатдегидрогеназы и цитохромоксидазы, активизировались антиоксидантный статус, глутаматдегидрогеназный путь образования глутамата, что способствовало образованию и активному функционированию компонентов антиоксидантной системы – каталазы, церулоплазмينا, восстановленного глутатиона в печени и сыворотке крови экспериментальных животных.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: селен-цинк-липидная субстанция, *Chlorella vulgaris* Віеј., оксидативные процессы, антиоксидантный статус, энергетический обмен, крысы.

H. B. Vinyarska¹, P. H. Lykhatskyi², O. I. Bodnar¹, L. S. Fira², V. V. Hrubinko¹
VOLODYMYR HNATIUK TERNOPIL NATIONAL PEDAGOGICAL UNIVERSITY¹
I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY²

EFFECTS OF SELENIUM-ZINC-LIPID SUBSTANCES FROM *CHLORELLA VULGARIS* BIEJ. ON OXIDATIVE AND TNERGY STATUS OF RATS

Summary

There were obtained and allocated stable selen-lipid and selen-zinc-lipid substances in a result of incubation of unicellular algae *Chlorella vulgaris* Biej. In aquaculture with sodium selenite and zinc sulfate their influence on oxidative and energetic status of healthy rat was investigated. There were suppressed prooxidative processes, activated antioxidant status, succinate dehydrogenase and cytochrome oxidase activity and glutamate dehydrogenase way of formation of glutamate were increased when substance at a dose of 0.4 mcg of selenium, 2.5 mcg of zinc and 0.5 mg of lipid per 1 ml of 1 % starch-water suspensions was introduced in organisme of healthy rats. Also it contributed of formation and functioning of the active components of the antioxidant system – catalase, ceruloplasmin, reduction glutathione in a liver and in a blood serum of experimental animals.

KEY WORDS: selenium, zinc-lipid substance, *Chlorella vulgaris* Biej., oxidative processes, antioxidant status, energy metabolism, rats.

Отримано 10.11.15

Адреса для листування: Л. С. Фіра, Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського, м. Волі, 1, Тернопіль, 46001, Україна.