

УДК [616.29+577.121]-092.9

О. І. Станєв<sup>1</sup>,

О. В. Запорожченко<sup>1</sup>, канд. біол. наук, доц.,

Л. М. Карпов<sup>1</sup>, д-р біол. наук, проф.,

С. Г. Коломійчук<sup>2</sup>,

О. О. Кокошкіна<sup>1</sup>

## ДІЯ ХАРЧОВИХ ДОБАВОК ІЗ БІОМАСИ РІЗНИХ ШТАМІВ *SPIRULINA PLATENSIS* НА ВМІСТ МЕТАБОЛІТІВ ЕНЕРГЕТИЧНОГО ОБМІНУ В ОРГАНАХ ЩУРІВ

<sup>1</sup>Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова МОН України,

<sup>2</sup>Інститут очних хвороб та тканинної терапії ім. В. П. Філатова АМН України, Одеса

Проведені дослідження щодо застосування харчових харчових добавок як продуктів здорового харчування показали практичну нешкідливість і високопоживність синьо-зеленої тропічної водорості *Spirulina platensis* [1]. Біохімічний склад останньої вказує на її потенційні можливості як їжі для людини, корму для тварин і джерела натуральних продуктів. Вона широко застосовується в багатьох країнах для зміцнення імунної системи, підвищення життєвого тону; рекомендується вагітним жінкам, матерям, які годують груддю, дітям, жителям районів зі складною екологічною обстановкою та північних регіонів, пенсіонерам, інвалідам, спортсменам [2]. Спіруліна дає гіпоглікемічний ефект, нормалізує рівень цукру та ліпідів у крові [1; 2]. *Spirulina platensis* має антиоксидантну властивість і ефективно використовується проти вільнорадикального окиснення ліпідів [3], а також є активатором імунних механізмів, інгібує ріст ракових клітин і вірусних інфекцій [1; 4].

Відомо, що важливим показником енергетичного стану клітини є загальний вміст нікотинамідних коферментів у ній і співвідношення їх вільних форм в окремих компартментах. Окисно-відновний статус нікотинамідних коферментів відіграє важливу регуляторну роль у клітинному метаболізмі, оскільки співвідношення НАД / НАДН і НАДФ / НАДФН визначає швидкість і напрям зворотних реакцій оксидоредукції та регулює функціонування загальних метаболічних шляхів у клітині [5]. Отже, від зміни співвідношення НАД / НАДН залежить роль анаеробного шляху окиснення глюкози, де лактат є кінцевим продуктом гліколізу, а також аеробного обміну, в якому лактат після перетворення на піруват окиснюється у циклі трикарбонових кислот [6]. Від зміни співвідношення НАДФ / НАДФН залежить інтенсивність ліпогенезу, за якого малат декарбоксилюється до пірувату й утворюється НАДФН. В організмі тварин піруват є одним із центральних метаболітів, що беруть участь у багатьох ферментативних процесах.

Таким чином, метою наших досліджень є вивчення можливості застосування різних штамів *Spirulina platensis* як харчової добавки для корекції вмісту субстратів НАД-залежних дегідрогеназних систем і співвідношень нікотинамідних коферментів у щурів. Такий вибір був обумовлений тим, що ми отримали для роботи нові перспективні штами *Spirulina platensis* із підвищеним вмістом незамінних амінокислот (метіонін, цистеїн тощо) та рослинних пігментів (с-фікоціанін).

### Матеріали та методи дослідження

Дослідження виконано на білих щурах (самцях) лінії Вістар масою 180–200 г, які були поділені на 5 груп, по 5 у кожній. Перша група тварин (інтактні) була контрольною (контроль-1). Тваринам другої групи порівняння (контроль-2) вводили внутрішньощлунково (в/ш) 1 мл фізіологічного розчину (ФР). Іншим трьома групам вводили внутрішньощлунково суспензію клітин різних штамів спіруліни у фізіологічному розчині по 1 мл, у розрахунок 250 мг сирової маси на 1 кг маси щурів щодня протягом 2 тиж. Вивчали дію дикого типу *Sp. platensis* (група 3) та штамів 198-В (група 4) і 27-Г (група 5) (останні два отримані в лабораторії фізіологічно активних речовин ОНУ ім. І. І. Мечникова). Для дослідів тварин брали через 2 тиж після початку перорального введення спіруліни.

В основу визначення лактату і малату був покладений метод Хохорста, а в основу визначення пірувату — метод Цока і Лампрехта [7].

Принцип методу полягає у визначенні екстинкції досліджуваного розчину, яка змінюється в процесі реакцій між лактатом і НАД, піруватом і НАДН у присутності препаратів ферменту лактатдегідрогенази (ЛДГ) (К.Ф. 1.1.1.27); малатом і НАД у присутності ферменту малатдегідрогенази (МДГ) (1.1.1.37). У першій і третій реакціях за рахунок ферментативного окиснювання лактату і малату, відбувається відновлення НАД, що має максимум поглинання при  $\lambda = 340$  нм. У

реакції з піруватом відбувається його відновлення за рахунок окиснення НАДН, зменшення якого реєструється спектрофотометрично при  $\lambda=340$  нм. Відношення вільних НАД / НАДН визначали за формулою [8]:

$$\text{НАД} / \text{НАДН} = K^{-1}_{\text{лдр}} \cdot \frac{[\text{піруват}]}{[\text{лактат}]},$$

де  $K^{-1}_{\text{лдр}} = 1,11 \cdot 10^{-4}$  — константа рівноваги лактатдегідрогеназної реакції.

Відношення вільних НАДФ / НАДФН визначали за формулою [8]:

$$\text{НАДФ} / \text{НАДФН} = K^{-1}_{\text{мдг}} \cdot \frac{[\text{піруват}][\text{CO}_2]}{[\text{малат}]},$$

де  $K^{-1}_{\text{мдг}} = 3,44 \cdot 10^{-2}$ ;  $[\text{CO}_2] = 1,16$  мМ.

Результати оцінювали за загальноприйнятим t-критерієм Стьюдента [9].

### Результати дослідження та їх обговорення

Результати визначення вмісту лактату, малату, пірувату, співвідношень лактат / піруват, малат / піруват, а також співвідношення цитоплазматичних нефосфорилуваних і фосфорилуваних окиснених нікотинамідних коферментів до відновлених подані в табл. 1 і 2.

З'ясувалося, що в групі, якій вводили перорально фізіологічний розчин, відбувалися незначні зміни вмісту лактату, малату і пірувату в досліджуваних тканинах. Лише в нирках вміст пірувату вірогідно знижувався до 79 % відносно контролю-1.

Встановлено, що застосування штамів спіруліни впливає на вміст лактату, малату, пірувату в органах щурів різною мірою залежно від тканини. У тварин, які отримували дикий тип *Sp. platensis*, спостерігалось вірогідне зниження лактату в нирках до 51 та 64 % щодо контролю-1 і -2, у мозку — до 82 % відносно контролю-1. Вміст пірувату вірогідно знижувався у нирках до 79 % щодо контролю-1. Рівень малату вірогідно підвищувався у печінці до 154 % щодо контролю-1.

У тварин, які отримували штам 198-В, вірогідне зниження лактату спостерігалось у печінці та мозку до 80 і 76 % відносно контролю-1 та у серці — до 77 та 81 % порівняно з контролем-1 і -2. Вміст пірувату знижувався у печінці до 65 % відносно контролю-2, у нирках — до 60 % щодо контролю-1 та підвищувався у мозку до 160 % щодо контролю-2. Рівень малату вірогідно знижувався у печінці до 86 % щодо контролю-1.

У тварин, які отримували штам 27-Г, вірогідне зниження лактату спостерігалось у печінці та

Таблиця 1

Дія біомаси різних штамів *Spirulina platensis* на вміст лактату, пірувату (мкмоль/г тканини) та співвідношення нікотинамідних коферментів в органах щурів, n = 5

Субстрати	Контроль-1 (інтактні)	Контроль-2 (в/ш ФР)	<i>Spirulina platensis</i> (дикий тип) (в/ш)	<i>Sp. platensis</i> 198-В (в/ш)	<i>Sp. platensis</i> 27-Г (в/ш)
Печінка					
Лактат	2,154±0,114	1,813±0,210	1,965±0,033	1,731±0,030*	1,328±0,042*
Піруват	0,220±0,033	0,209±0,019	0,214±0,004	0,136±0,006**	0,262±0,017
Л/П	10,590±1,622	9,225±1,637	9,187±0,304	12,807±0,652	5,123±0,276*
НАД/НАДН	916,081± ±109,337	1137,587± ±238,628	984,812± ±31,500	710,813± ±36,346	1776,662± ±84,694*
Нирки					
Лактат	2,131±0,139	1,700±0,129	1,079±0,035*/**	2,161±0,013	1,742±0,020
Піруват	0,350±0,006	0,276±0,025*	0,276±0,008*	0,210±0,020*	0,206±0,019*
Л/П	6,093±0,368	6,353±0,694	3,908±0,082*/**	10,666±0,970*/**	8,742±0,803*
НАД/НАДН	1502,996± ±100,827	1493,558± ±173,128	2309,534± ±48,243*/**	875,998± ±87,343*/**	1069,435± ±107,748*
Мозок					
Лактат	2,244±0,097	1,912±0,134	1,819±0,014*	1,714±0,073*	1,601±0,045*
Піруват	0,213±0,026	0,153±0,016	0,198±0,021	0,245±0,020**	0,183±0,011
Л/П	11,231±1,524	13,358±2,409	9,595±0,934	7,127±0,512	8,828±0,444
НАД/НАДН	872,478± ±129,801	746,247± ±101,816	979,703± ±106,475	1287,121± ±80,306	1031,031± ±52,242
Серце					
Лактат	2,268±0,124	2,154±0,100	2,301±0,123	1,747±0,044*/**	1,704±0,060*/**
Піруват	0,268±0,035	0,237±0,024	0,205±0,039	0,232±0,029	0,258±0,008
Л/П	9,028±1,243	9,585±1,337	12,833±2,188	7,916±0,781	6,644±0,329
НАД/НАДН	1071,300± ±135,946	1014,465± ±140,309	785,294± ±124,137	1185,785± ±121,725	1369,432± ±68,410

Примітка. У табл. 1 і 2: \* — різниця з контролем-1 вірогідна (P<0,05); \*\* — різниця з контролем-2 вірогідна (P<0,05).

Дія біомаси різних штамів *Spirulina platensis* на вміст малату, пірувату (мкмоль/г тканини) та співвідношення нікотинамідних коферментів в органах щурів, n = 5

Субстрати	Контроль-1 (інтактні)	Контроль-2 (в/ш ФР)	<i>Spirulina platensis</i> (дикий тип) (в/ш)	<i>Sp. platensis</i> 198-B (в/ш)	<i>Sp. platensis</i> 27-G (в/ш)
Печінка					
Малат	0,668±0,019	0,812±0,099	1,028±0,037*	0,574±0,028*	0,762±0,025*
Піруват	0,220±0,033	0,209±0,019	0,214±0,004	0,136±0,006**	0,262±0,017
М/П	3,348±0,592	3,978±0,591	4,801±0,201	4,255±0,289	2,969±0,263
НАДФ/НАДФН	0,011±0,002	0,009±0,001	0,007±0,001	0,008±0,001	0,012±0,001
Нирки					
Малат	0,399±0,045	0,427±0,047	0,462±0,008	0,373±0,011	0,308±0,008
Піруват	0,350±0,006	0,276±0,025*	0,276±0,008*	0,210±0,020*	0,206±0,019*
М/П	1,146±0,133	1,614±0,255	1,678±0,046*	1,827±0,136*	1,545±0,147
НАДФ/НАДФН	0,031±0,003	0,024±0,005	0,020±0,001*	0,019±0,001*	0,023±0,003
Мозок					
Малат	0,438±0,021	0,405±0,048	0,455±0,050	0,406±0,030	0,470±0,029
Піруват	0,213±0,026	0,153±0,016	0,198±0,021	0,245±0,020**	0,183±0,011
М/П	2,199±0,309	2,778±0,440	2,321±0,182	1,708±0,218	2,631±0,296
НАДФ/НАДФН	0,017±0,003	0,014±0,002	0,015±0,001	0,021±0,002	0,014±0,002
Серце					
Малат	0,493±0,019	0,403±0,036	0,433±0,054	0,536±0,043	0,439±0,035
Піруват	0,268±0,035	0,237±0,024	0,205±0,039	0,232±0,029	0,258±0,008
М/П	1,994±0,327	1,807±0,335	2,508±0,664	2,470±0,408	1,714±0,148
НАДФ/НАДФН	0,019±0,003	0,021±0,003	0,017±0,003	0,015±0,002	0,020±0,002

мозку до 62 і 71 % відносно контролю-1 та у серці — до 75 та 79 % порівняно з контролем-1 і -2. Рівень пірувату в нирках знижувався до 59 % щодо контролю-1. Вміст малату підвищивсь у печінці до 114 % відносно контролю-1.

Оцінюючи співвідношення відновлених субстратів до окиснених, з'ясували, що співвідношення лактат / піруват має тенденцію до зниження у групах щурів, які отримували дикий тип *Sp. platensis* (печінка, нирки, мозок), штами 198-B (мозок, серце) та 27-G (печінка, мозок, серце) відносно контролю-1. Виявлене зменшення співвідношення лактату до пірувату свідчить про активацію аеробних процесів у обміні глюкози. Найбільш виражене підвищення співвідношення малату до пірувату виявлено у групах тварин, які отримували дикий тип *Sp. platensis* і штам 198-B (печінка, нирки, серце), штам 27-G (нирки, мозок) відносно контролю-1, що свідчить про зменшення інтенсивності ліпогенезу.

Аналіз співвідношення НАД / НАДН у досліджуваних тканинах виявив підвищення співвідношення цитоплазматичних окиснених нікотинамідних коферментів до відновлених у групах щурів, які отримували дикий тип *Sp. platensis* (печінка, нирки, мозок), штами 198-B (мозок, серце) та 27-G (печінка, мозок, серце) відносно контролю-1. Підвищення окиснювальності НАД у тканинах щурів може свідчити, при нагромадженні НАД, про активацію процесів гліколізу й інгібування глюкогенезу, ліпогенезу. Співвідношення

НАДФ / НАДФН мало тенденцію до зменшення у групах тварин, які отримували дикий тип *Sp. platensis* і штам 198-B (печінка, нирки, серце), штам 27-G (нирки, мозок) відносно контролю-1. Певне значення в збільшенні співвідношення НАДФ / НАДФН має тканинна специфічність, особливо якщо врахувати, що біосинтез НАДФ — це процес, який залежить від рівня АТФ. У тканинах із високим рівнем біосинтезу НАДФ збільшення вмісту НАДФ є обмеженим через конкуренцію цих двох процесів за АТФ у клітині.

Найвираженіший вплив на співвідношення лактату до пірувату давали дикий тип *Sp. platensis* (печінка, нирки, мозок), штами 198-B (мозок, серце) та 27-G (печінка, мозок, серце). На співвідношення малату до пірувату впливали дикий тип *Sp. platensis*, штам 198-B (печінка, нирки, серце) та 27-G (нирки, мозок).

### Висновки

1. Після перорального введення спіруліни в різних тканинах тварин із неоднаковою інтенсивністю змінюється вміст лактату, малату та пірувату. Виявлений перерозподіл метаболітів НАД-, НАДФ-дегідрогеназних систем — лактату, малату і пірувату — зумовлює зниження співвідношення лактат / піруват і підвищення малат / піруват у досліджуваних тканинах.

2. Дикий тип і штами спіруліни спричинили підвищення співвідношення вільних НАД / НАДН

і зменшення НАДФ / НАДФН у цитоплазмі досліджуваних тканин, хоча і різною мірою.

3. Дані свідчать про можливість застосування дикого типу та штамів *Spirulina platensis*, а особливо 198-В як харчової добавки для корекції вмісту субстратів НАД-залежних дегідрогеназних систем, з метою інтенсифікації аеробного обміну та пригнічення гліюкогенезу та ліпогенезу.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Постригач Н. О. Спіруліна як адаптоген // Вестн. фізіотерапії та курортології. — 1998. — № 3. — С. 60-68.
2. Яковлева О. А. Перспективи спіруліни в фармакології майбутнього та біотехнологіях сучасного харчування // Матеріали ІІ Укр. наук. конф. «Актуальні проблеми клінічної фармакології». — Вінниця, 1998. — С. 263-265.
3. Manoj J. A., Weber H. A., Noll F. A. Clinical using of *Spirulina platensis* // France et Belg. — 2000. — N 75. — P. 825.

4. Toshimitsu V. K. Application of Spirulina // Madras, India. 2002. — N 24. — P. 904-909.

5. Великий Н. Н., Пархоменко П. К. Роль окислительно-восстановительного состояния никотинамидных коферментов в регуляции клеточного метаболизма // Витамины. — 1976. — № 9. — С. 3-15.

6. Островский Ю. М., Величко М. Г., Якубчик Т. Н. Пируват и лактат в животном организме. — Минск: Наука и техника, 1984. — 284 с.

7. Bergmeyer H. U. Methoden der enzymatischen Analyse / Herausgegeben von H. U. Bergmeyer. — Berlin, 1970. — S. 1536-1539.

8. Методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен) / Под ред. М. И. Прохоровой. — Л.: Изд-во ЛГУ, 1982. — 272 с.

9. Гланц С. Медико-биологическая статистика. — М.: Практика, 1999. — 459 с.

УДК [616.29+577.121]-092.9

О. І. Станев, О. В. Запорожченко, Л. М. Карпов, С. Г. Коломійчук, О. О. Кокошкіна

#### ДІЯ ХАРЧОВИХ ДОБАВОК ІЗ БІОМАСИ РІЗНИХ ШТАМІВ *SPIRULINA PLATENSIS* НА ВМІСТ МЕТАБОЛІТІВ ЕНЕРГЕТИЧНОГО ОБМІНУ В ОРГАНАХ ЩУРІВ

Визначали вміст лактату, малату та пірувату, співвідношень лактат / піруват, малат / піруват, а також НАД / НАДН і НАДФ / НАДФН в органах щурів за перорального введення різних штамів спіруліни. Встановлено, що вміст лактату, малату та пірувату в досліджуваних органах щурів змінюється різною мірою і в різних напрямках. Співвідношення НАД / НАДН, як правило, підвищується, а НАДФ / НАДФН — зменшується, що вказує на активізацію аеробного обміну вуглеводів і пригнічення ліпогенезу.

**Ключові слова:** спіруліна, лактат, малат, піруват, нікотинамідні коферменти.

UDC [616.29+577.121]-092.9

O. I. Stanyev, O. V. Zaporozhchenko, L. M. Karpov, S. G. Kolomyichuk, O. O. Kokoshkina

#### INFLUENCE OF FOOD ADDITIVE OF BIOMASS DIFFERENT CULTURES OF *SPIRULINA PLATENSIS* ON CONTENT OF METABOLITES ENERGY METABOLISM IN RAT ORGANS

The content of lactate, malate and pyruvate, lactate / pyruvate, malate / pyruvate and NAD / NADH, NADP / NADPH ratios in organs of rats at oral introduction different cultures of spirulina have been determined. It has been revealed that the content of lactate, malate and pyruvate in rat organs changes to different degree and ways. The ratio of NAD / NADH increased as a rule, and the ratio of NADP / NADPH decreased. These changes indicate to carbohydrates aerobic metabolism activation and oppression of lipogenesis.

**Key words:** spirulina, lactate, malate, pyruvate, nicotinamide coenzymes.

УДК 616.024-009.27.612.37

І. В. Смірнов

## ВПЛИВ БАКТЕРІАЛЬНОГО ЛІПОПОЛІСАХАРИДУ НА ГЕНЕРАЛІЗОВАНІ КЛОНІКО-ТОНІЧНІ ТА КЛОНІЧНІ СУДОМИ У ЩУРІВ

Одеський державний медичний університет

Встановлена нейротропна активність факторів імунної природи. Так, зокрема, показано, що інтерферон 2-альфа (препарат «Лаферон») спричинює проепілептогенні впливи [1]. Такий же ефект справляє фактор некрозу пухлин альфа (ФНП-альфа) [10], індукція якого спостерігається за умов застосування бактеріального ліпопо-

лісахариду (ЛПС) [5]. Дія ЛПС може лежати в основі формування судом і підвищеної судомної готовності мозку, що становить суттєвий інтерес і потребує подальшого вивчення [4].

**Метою** даної роботи було дослідження впливу ЛПС на генералізовані судомні реакції, індуковані застосуванням епі-

лептогенів, які мають здатність порушувати ГАМК-ергічне гальмування (натрієва сіль бензилпеніциліну), а також активувати метаболічні глутаматні рецептори (каїнова кислота).

#### Матеріали та методи дослідження

За умов гострого експерименту спостерігали за щурами-сам-