

УДК 577.121.7: (582.263) + 546.23

Г.Б. ВИНЯРСКАЯ, О.И. БОДНАР, А.В. СТАНИСЛАВЧУК, В.В. ГРУБИНКО

Тернопольский нац. педуниверситет им В. Гнатюка,
ул. М. Кривоноса, 2, 46027 Тернополь, Украина
e-mail: viniarska_halia@mail.ru

АНТИОКСИДАНТНАЯ РОЛЬ СЕЛЕНИТА НАТРИЯ У *CHLORELLA VULGARIS* Beij. (*CHLOROPHYTA*)

Установлено, что при действии селенита натрия в концентрации 0,5; 5 и 20 мг/дм³ на *Chlorella vulgaris* в культуре активность супероксиддисмутазы и глутатионпероксидазы увеличивается, а каталазы – угнетается.

Ключевые слова: *Chlorella vulgaris*, селенит, глутатионпероксидаза, каталаза, супероксиддисмутаза.

Введение

Селен является одним из наиболее важных микроэлементов и компонентом антиоксидантной системы всех организмов, и в частности водорослей. Соединения Se⁴⁺ непосредственно участвуют в превращении метионина в цистеин и в синтезе глутатиона, что способствует увеличению антиоксидантного потенциала клеток. Установлено, что –SeH благодаря более низкому потенциалу ионизации и меньшей энергии связи обладает более высокой электронно-донорной активностью, чем группа –SH, поэтому соединения с группой –SeH активнее и эффективнее, чем с тиоловой (Барабой, 2004).

Потребность водорослей в селене зависит от видовых особенностей метаболизма и колеблется от сотых частей микрограмма до десятков миллиграммов. Метаболическая реакция водорослей на содержание в среде этого микроэлемента зависит от химической формы селена, его концентрации и длительности влияния. Известно, что степень ингибирования роста и развития водорослей увеличивается больше под влиянием высоких концентраций селенатов, чем селенитов. Поэтому водоросли для обеспечения процессов своей жизнедеятельности предпочитают поглощать из среды обитания соединения Se⁴⁺ (Боднар, 2013; Wang Dazhi et al., 2003; Zhi-Yong Li et al., 2003).

Цель данной работы – исследование состояния антиоксидантных ферментов у *Ch. vulgaris* при действии селенита натрия в модельном эксперименте.

Материалы и методы

Объектом исследования была *Ch. vulgaris*, которую выращивали в условиях накопительной культуры на среде Фитцджеральда (Сиренко и др., 1975) при освещении лампами дневного света (2500 лк) и температуре 23–25 °С. Селен вносили в виде селенита натрия в концентрации 0,5; 5 и 20 мг/дм³. Контролем служила культура, выращиваемая в среде без селена. Пробы отбирали на 1-е, 3-и, 7-е сутки культивирования.

Активность каталазы (КТ; КФ 1.11.1.6.) регистрировали по способности гидрогенпероксида образовывать с аммониймолибдатом устойчивый окрашенный комплекс (Королюк, 1988) и выражали в каталах.

© Г.Б. Винярская, О.И. Боднар, А.В. Станиславчук, В.В. Грубинко, 2014

Активность супероксиддисмутазы (СОД; КФ 1.15.1.1) определяли по уровню ингибирования ферментом процесса восстановления нитротетразолия синего при наличии NADH и феназинметасульфата (Чевари и др., 1991). Количество фермента, способного ингибировать восстановление нитротетразолия синего на 50 %, принимали за 1 усл. ед. активности.

Активность глутатионпероксидазы (ГПО; КФ 1.11.1.9) определяли по методу Моина (Моин, 1986), регистрируя развитие цветной реакции при взаимодействии SH-групп с реактивом Элмана с образованием окрашенного тионитрофенильного аниона. Активность выражали в мкмоль GSSH (глутатион восстановленный)/100 мг белка.

Полученные данные обрабатывали методами вариационной статистики.

Результаты и обсуждение

Известно, что активность КТ, супероксиддисмутазы и ГПО обуславливает функционирование многих процессов в клетках, в т.ч. поддержание достаточной активности антиоксидантной системы (Диксон, 1982; Барабой, 2004).

Наши эксперименты показали, что активность ферментов антиоксидантной системы в клетках *Ch. vulgaris* в норме была на достаточно высоком уровне, что свидетельствует о значительной физиологической активности водорослей (Давидова та ін., 2009; Wang Dazhi et al., 2003).

Под влиянием селенита натрия (см. таблицу) происходят заметные изменения активности супероксиддисмутазы. При концентрации Se^{4+} 0,5 и 20 мг/дм³ на 1-е сутки эксперимента наблюдали угнетение активности СОД на 15 и 16 % соответственно, тогда как при действии Se^{4+} в концентрации 5 мг/дм³ ее активность увеличивается на 4 % относительно контроля. На 3-и сутки действия Se^{4+} активность СОД относительно контроля увеличилась на 24 % при концентрации Se^{4+} 0,5 мг/дм³, на 20 % – при 5 мг/дм³ и 32 % – при 20 мг/дм³ соответственно. Действие селенита на хлореллу на протяжении 7 суток повышало активность СОД на 58 % при концентрации Se^{4+} 0,5 мг/дм³ и на 29 % – при концентрации Se^{4+} 20 мг/дм³ по сравнению с контролем. Однако при действии 5 мг/дм³ Se^{4+} активность СОД снижалась практически на 60 % по сравнению с контролем.

В то же время в эксперименте активность каталазы селенитом ингибировалась при всех исследуемых концентрациях. Внесение в среду Se^{4+} в концентрации 0,5 мг/дм³ на 1-е и 3-и сутки эксперимента привело к снижению активности КТ на 26 и 17 % соответственно, тогда как на 7-е сутки наблюдали увеличение активности фермента на 40 % относительно контроля. Действие на водоросль Se^{4+} в концентрации 5 мг/дм³ в 1-е сутки эксперимента снижало активность фермента на 13 % относительно контроля. На 3-и и 7-е сутки активность КТ относительно контроля увеличивалась на 41 и 15 % соответственно. При действии максимальной дозы Se^{4+} (20 мг/дм³) активность КТ снижалась на 4 % (1-е сутки), на 26 % (3-и сутки) и на 9 % (7-е сутки) относительно контроля.

Активность ГПО была достаточно высокой при действии низкой концентрации Se^{4+} (0,5 мг/дм³). Так, на 1-е сутки ее активность увеличилась в 5 раз, на 3-и – в 8,5 раза, и на 7-е сутки – в 2 раза относительно контроля. При внесении в среду культивирования Se^{4+} в концентрации 5 мг/дм³ в 1-е сутки

активность фермента снижалась, но в дальнейшем она несколько увеличивалась на 41 % (3-е сутки) и 15 % (7-е сутки) по сравнению с контролем. Внесение Se^{4+} в максимальной концентрации (20 мг/дм³) увеличивало активность ГПО в 2 раза относительно контроля.

Активность ферментов антиоксидантной системы в клетках *Chlorella vulgaris* при действии селенита натрия разной концентрации ($M \pm m, n = 4$)

Фермент	Контроль	1-е сут	Отклонение от контроля, %	3-и сут	Отклонение от контроля, %	7-е сут	Отклонение от контроля, %
0,5 мг/дм ³ Se^{4+}							
СОД, у.ед./мг белка	4,16±0,53	3,55±0,02	85	5,14±0,27	124	6,57±0,34**	158
КТ, мкмоль H_2O_2 /мг белка/мин	0,47±0,09	0,35±0,08*	74	0,39±0,04	83	0,66±0,02	140
ГПО, мкмоль GSSH/100 мг белка/мин	6,77±0,31	34,55±1,76	510	58,39±2,20	862	15,48±0,25	229
5 мг/дм ³ Se^{4+}							
СОД, у.ед./мг белка	2,49±0,17	2,59±0,04	104	5,48±0,37	220	0,99±0,03	40
КТ, мкмоль H_2O_2 /мг белка/мин	0,24±0,02	0,21±0,02	87	0,34±0,06	141	0,28±0,05	115
ГПО, мкмоль GSSH/100 мг белка/мин	6,02±0,15	5,70±0,17	95	6,26±0,16	104	6,19±0,52	103
20 мг/дм ³ Se^{4+}							
СОД, у.ед./мг белка	4,16±0,53	3,51±0,22	84	5,48±0,37	132	5,35±0,47**	129
КТ, мкмоль H_2O_2 /мг белка/мин	0,47±0,09	0,45±0,02*	96	0,35±0,06	74	0,43±0,03	91
ГПО, мкмоль GSSH/100 мг белка/мин	6,77±0,11	11,33±0,12	167	12,63±0,16	187	12,36±0,15	183

* – $P \leq 0,05$; ** – $P \leq 0,001$.

Заключение

Супероксиддисмутаза катализирует диспропорционирование супероксидных анион-радикалов до молекулярного кислорода и пероксида водорода, каталаза разлагает пероксид водорода до молекулярного кислорода, который образуется при дисмутации супероксидного анион-радикала. Глутатионпероксидаза — селенопротеин, поэтому селен необходим для ее функционирования. Антиоксидантные ферменты клетки — СОД и КТ в большинстве случаев действуют одновременно и инактивируют активные формы кислорода, которые

образуются как в процессе нормальной жизнедеятельности клетки, так и при стрессовых и особенно патологических состояниях.

Активность СОД была достаточно высока во всех случаях экспериментального воздействия селенита, тогда как КТ ингибировалась при действии Se^{4+} в концентрациях 0,5 и 20 мг/дм³ и только при 5 мг/дм³ активность фермента увеличивалась. Снижение активности КТ, очевидно, связано с высокой активностью ГПО, поскольку данные ферменты обеспечивают распад H_2O_2 , который образуется при дисмутации супероксидного анион-радикала.

В адаптивной перестройке антиоксидантного статуса клеток хлореллы при действии селенита повышается роль супероксиддисмутазы и глутатионпероксидазы и снижается роль каталазы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Барабой В.А., Шестакова Е.Н. Селен: биологическая роль и антиоксидантная активность // Укр. біохім. журн. – 2004. – 76(1). – С. 23–32.
- Боднар О.І., Винярска Г.Б., Станіславчук Г.В., Грубінко В.В. Особливості накопичення сполук селену та їх біологічна роль у водоростей // Наук. зап. ТНПУ ім. В. Гнатюка. Сер. Біол. – 2013. – Вип. 2(55). – С. 94–107.
- Давидова О.Є., Вещицкий В.А., Яворівський П.П. Фізіолого-біохімічні та стреспротекторні функції селену в рослинах // Физиол. и биохим. культ. раст. – 2009. – 41(2). – С. 109–122.
- Диксон М. Ферменты: В 3-х т. / М. Диксон, Э. Уэбб. – М.: Мир, 1982. – Т. 1. – 392 с.
- Королюк М.А. Метод определения активности каталазы // Лаб. дело. – 1988. – (1). – С. 16–19.
- Моин В.М. Простой и специфический метод определения активности глутатионпероксидазы в эритроцитах // Там же. – 1986. – (12). – С. 724–727.
- Сиренко Л.А., Сакевич А.И., Осипов Л.Ф. и др. Методы физиолого-биохимического исследования водорослей в гидробиологической практике / Под ред. А.В. Топачевского. – Киев: Наук. думка, 1975. – 247 с.
- Чевари С., Анделян Т., Штенгер Я. Определение антиоксидантных параметров крови и их диагностическое значение в пожилом возрасте // Лаб. дело. – 1991. – (10). – С. 9–13.
- Wang Dazhi, Cheng Zhaodi, Li Shaojing, Gao Yahui. Toxicity and accumulation of selenite in four microalgae // Chin. J. Oceanol. and Limnol. – 2003. – 21(3). – P. 280–285.
- Zhi-Yong Li, Si-YuanGuo, Lin Li. Bioeffects of selenite on the growth of *Spirulina platensis* and its biotransformation // Biores. Techn. – 2003. – 89. – P. 171–176.

Подписала в печать А.В. Лишук-Курейшевич

G.B. Vinyarskaya, O.I. Bodnar, A.V. Stanislavchuk, V.V. Grubinko

V. Hnatiuk Ternopil National Pedagogical University,

2, M. Krivonis St., 46027 Ternopil, Ukraine

e-mail: v.grubinko2@yahoo.com;

e-mail: viniarska_halia@mail.ru

ANTIOXIDANT ROLE OF SODIUM GYPSUM THE *CHLORELLA VULGARIS* BEIJ. (CHLOROPHYTA)

Under the influence of sodium selenite in concentrations based on Se^{4+} 0.5; 5 and 20 mg/dm³ on *Chlorella vulgaris* culture activities of superoxide dismutase and glutathione peroxidase increased, but that of catalase decreased.

Key words: *Chlorella vulgaris*, selenite, catalase, glutathioneperoxidase, superoxidisedismutase.