

3. Kűes, U. (2015). Fungal enzymes for environmental management. *Current Opinion in Biotechnology*, 33, 268–278. doi: 10.1016/j.copbio.2015.03.006
4. Brijwani, K., Rigdon, A., Vadlani, P. V. (2010). Fungal Laccases: Production, Function, and Applications in Food Processing. *Enzyme Research*, 2010, 1–10. doi: 10.4061/2010/149748
5. Viswanath, B., Rajesh, B., Janardhan, A., Kumar, A. P., Narasimha, G. (2014). Fungal Laccases and Their Applications in Bioremediation. *Enzyme Research*, 2014, 1–21. doi: 10.1155/2014/163242
6. Rodriguez Couto, S., Toca Herrera, J. L. (2006). Industrial and biotechnological applications of laccases: A review. *Biotechnology Advances*, 24 (5), 500–513. doi: 10.1016/j.biotechadv.2006.04.003
7. Moin, S., Omar, M. (2013). Laccase Enzymes: Purification, Structure to Catalysis and Tailoring. *PPL*, 21 (8), 707–713. doi: 10.2174/09298665113209990058
8. Madhavi, V., Lele, S. S. Laccase: properties and applications. (2009). *BioResources*, 4 (4), 1694–1717. Available at: <http://ncsu.edu/bioresources>
9. Shleev, S. V., Morozova, O. V., Nikitina, O. V., Gorshina, E. S., Rusinova, T. V., Serezhenkov, V. A. et. al. (2004). Comparison of physico-chemical characteristics of four laccases from different basidiomycetes. *Biochimie*, 86 (9-10), 693–703. doi: 10.1016/j.biochi.2004.08.005
10. Valle, J. S., Vandenberghe, L. P. S., Santana, T. T., Almeida, P. H., Pereira, A. M., Linde, G. A. et. al. (2014). Optimum conditions for inducing laccase production in *Lentinus crinitus*. *Genetics and Molecular Research*, 13 (4), 8544–8551. doi: 10.4238/2014.october.20.31
11. Khan, M., Motiar, R., Ray, M., Ray, L., Guha, A. K. (2016). Extracellular laccase from *Pleurotus sajor-caju*: Fermentative conditions and influence of nitrogenous sources. *Indian Journal of Biotechnology*, 15, 230–235.
12. El-Fakharany, E. M., Hassan, M. A., Taha, T. H. (2016). Production and Application of Extracellular Laccase Produced by *Fusarium oxysporum* EMT. *International Journal of Agriculture and Biology*, 18 (05), 939–947. doi: 10.17957/ijab/15.0190

Дата надходження рукопису 05.10.2016

Демків Ольга Михайлівна, кандидат біологічних наук, Відділ аналітичної біотехнології, молодший науковий співробітник, Інститут біології клітини НАН України, вул. Драгоманова, 14/16, м. Львів, Україна, 79005

E-mail: demkiv@yahoo.com

Банаш Соломія Ярославівна, Львівський національний університет ім. Івана Франка, вул. Грушевського, 4, м. Львів, Україна, 79005

E-mail: solomia31@gmail.com

Притула Сергій Вікторович, Львівський національний університет ім. Івана Франка, вул. Грушевського, 4, м. Львів, Україна, 79005

E-mail: SergioRapak@ukr.net

Гайда Галина Зуфарівна, кандидат хімічних наук, Відділ аналітичної біотехнології, старший науковий співробітник, Інститут біології клітини НАН України, вул. Драгоманова, 14/16, м. Львів, Україна, 79005

E-mail: galina.gayda@gmail.com

Гончар Михайло Васильович, доктор біологічних наук, професор, завідувач відділу, відділ аналітичної біотехнології, Інститут біології клітини НАН України, вул. Драгоманова, 14/16, м. Львів, Україна, 79005; науковий консультант, Інститут прикладної біотехнології і фундаментальних наук, Жешувський університет, вул. Соколовська, 26, пмт. Кольбушова, Польша, 36-100

E-mail: mykhailo1952@gmail.com

УДК 577.12:57.044

ГЛУТАТІОНОВА СИСТЕМА КЛІТИН СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ШЛУНКА ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ СПОЖИВАННІ ПІДВИЩЕНОЇ КІЛЬКОСТІ NaCl

© М. О. Тимошенко, О. О. Кравченко, Л. М. Гайда

Розглядаються особливості функціонування глутатіонової системи клітин слизової оболонки шлунка при експериментальному споживанні підвищеної кількості NaCl. Результати відображають зміни внутрішньоклітинного окисно-відновного стану, – переважання прооксидантних умов та зниження глутатіонредуктазної активності як в період безпосереднього впливу даного чинника, так і протягом двотижневої його відміни, що вказує на можливий довготривалий вплив на клітинний метаболізм

Ключові слова: глутатіон, глутатіонредуктаза, глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа, слизова оболонка шлунка, хлорид натрію

The glutathione system functioning features in gastric mucosa cells under experimental consumption of increased NaCl amount were considered. The prevalence of oxidative state and decreased glutathione reductase activity were found both during the impact of this factor and its two-week cancellation that might have been indicating a long-term effect on cellular metabolism

Keywords: glutathione, glutathione reductase, glucose-6-phosphate dehydrogenase, gastric mucosa, sodium chloride

1. Вступ

Більшість епідеміологічних досліджень вказують на зв'язок зростання ризику виникнення раку шлунка із споживанням великої кількості солонної їжі або солі [1-3]. Експериментальні дослідження виявили, що хлорид натрію (NaCl) є ефективним агентом, що значно посилює онкогенні ефекти гастроанцерогенів [4], ініціацію та промоцію раку шлунка [5]. На сьогодні запропоновано кілька механізмів, за допомогою яких сіль може збільшити ризик розвитку раку шлунка. Хлорид натрію у високих концентраціях змінює в'язкість слизу, пошкоджує поверхневий епітелій слизової оболонки шлунка, призводить до запалення [2, 4], дифузних ерозій та дегенерації, що може підвищувати епітеліальну проліферацію та частоту ендогенних мутацій [6, 7]. Це, в свою чергу, сприяє як збільшенню ефективної дози харчових канцерогенів на клітини-мішені [8], так і синергічному впливу інфекції *Helicobacter pylori* [9]. Показано також, що хлорид натрію в дієті викликає зростання синтезу ДНК [6] та збільшення числа S-фазних клітин, які є найбільш сприйнятливі до мутагенів та мають потенційну можливість стати сайтами формування пухлин [7].

2. Літературний огляд

Відомо, що рак шлунка розвивається внаслідок сукупної активації онкогенів з інактивацією генів-супресорів пухлинного росту, однак, порушення регуляторних механізмів генів може мати свій внесок в патогенез даного захворювання. Одним з таких механізмів може виступати глутатіонова система.

Оборотне формування змішаних дисульфідів між глутатіоном (GSH) та цистеїновими залишками білків з низькою рКа (S-глутатіонування) є важливим механізмом для динамічної, посттрансляційної регуляції сигнальних і метаболічних шляхів в інтактних клітинних системах. Різноманітні ферменти, фактори транскрипції та росту, сигнальні білки, іонні канали, а також цитокіни піддаються зворотньому глутатіонуванню. Глутатіон відіграє важливу роль в регуляції таких клітинних процесів, як диференціювання клітин, проліферація та апоптоз, в результаті чого, порушення його гомеостазу залучається до етіології та прогресування ряду захворювань людини, в тому числі раку [10].

Головне значення глутатіону полягає в підтриманні та регулюванні тіольного редокс статусу клітин. В нормі внутрішньоклітинний глутатіон в основному (>98 %) існує у відновленій тіольній формі (GSH), інша частина представлена дисульфідом глутатіону (GSSG), а також різноманітними тіоефірами, меркаптидами та іншими тіоефірними формами (глутатіон S-кон'югати). Генерування окисленого глутатіону та глутатіон S-кон'югатів відбувається за умов оксидативного стресу або наявності електрофільних хімічних речовин. Не дивлячись на те, що реакції кон'югації можуть відбуватися спонтанно, їх часто каталізують глутатіон S-трансферази. Так само, антиоксидантні властивості GSH визначаються як його безпосередньою взаємодією з вільними радикалами та гідропероксидами, так і участю в якості субстрату глутатіонпероксидаз [10, 11]. Відновлення GSSG до GSH каталізується глутатіонредуктазою (ГР), яка ви-

користує в якості джерела відновних еквівалентів НАДФН, в свою чергу, утворених ферментами гексозомонофосфатного шунта, головним регулятором якого є глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа (Г6ФД).

Отже, наслідки впливу хлориду натрію на слизову оболонку шлунка (СОШ) стосуються в основному гістологічних показників, тоді як біохімічні показники, а саме глутатіонова система, при такому впливі детально не вивчалися.

3. Мета та задачі досліджень

Мета дослідження – охарактеризувати динаміку змін показників глутатіонової системи в клітинах слизової оболонки шлунка за умов підвищеного споживання хлориду натрію.

Для досягнення поставленої мети були вирішені наступні задачі: визначити в динаміці вміст відновленого та окисленого глутатіону, глутатіонредуктазу та глюкозо-6-фосфатдегідрогеназу активність цитозолу клітин СОШ за умов експериментального вживання підвищеної кількості хлориду натрію.

4. Матеріали і методи

Досліди проводились на білих нелінійних щурах-самцях з початковою масою 100 ± 10 г. Контрольна група тварин утримувалась на стандартному раціоні. Друга група щурів споживала протягом 10-ти тижнів збагачений хлоридом натрію корм (5 % NaCl від сухої маси), а по закінченні 10-го тижня була переведена на стандартний раціон віварію до кінця 12-го тижня. Збір дослідного матеріалу для біохімічних досліджень в цій групі проводили через 4, 6, 8, 10 та 12 тижнів. З шлунків виділяли клітини слизової оболонки для біохімічних досліджень за методикою, яка базується на ферментативній дезагрегації із використанням протеази [12].

Для визначення вмісту глутатіону та активностей ферментів використовували супернатант, який отримували шляхом центрифугування гомогенату клітинної суспензії при $17\ 000$ g протягом 30 хв ($+4$ °C). Вміст GSH та GSSG визначали спектрофлуориметричним методом із використанням ортофталевого альдегіду за різних значень pH середовищ з фіксацією флуоресцентних продуктів при $\lambda_{ex}=350$ нм та $\lambda_{em}=420$ нм. Для визначення GSSG використовували N-етилmaleїмід, що попереджає окислення GSH в GSSG [13, 14]. Активність ГР визначали спектрофотометрично по зменшенню оптичної густини в результаті окиснення НАДФН при $\lambda=340$ нм [15]. Активність Г6ФД визначали за методом [16] по накопиченню НАДФН при довжині хвилі 340 нм. Вимірювання проводили на спектрофотометрі Ultrospec 1100 pro (Amersham Biosciences, США) та спектрофлуориметрі Shimadzu RF-1501 (Shimadzu, Японія). Концентрацію білка визначали методом Бредфорд [17].

Статистичну обробку результатів здійснювали за допомогою програми Statistica 7.0.

5. Результати досліджень та їх обговорення

В групі щурів, що споживала протягом 10-ти тижнів збагачений 5 %-вим вмістом хлориду натрію корм, а по закінченні 10-го тижня була переведена на стандартний раціон віварію в клітинах СОШ виявля-

но зниження вмісту GSH в середньому в 2,4 рази порівняно з контрольною групою (рис. 1), при цьому переведення на звичайний раціон віварію (з 11 тижня до кінця 12 тижня) не призводило до нормалізації даного показника.

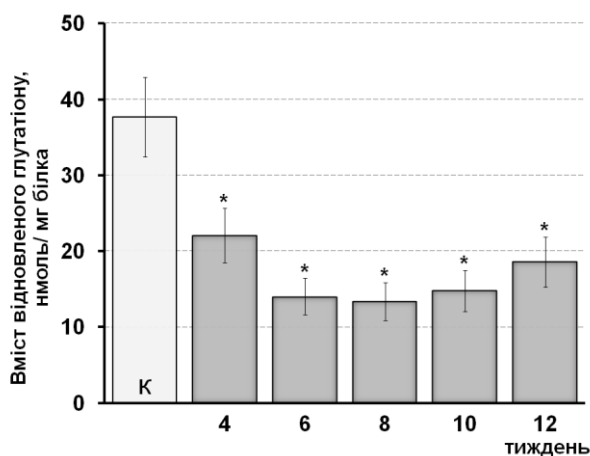


Рис. 1. Вміст відновленого глутатіону за умов 10-ти тижневого споживання 5 % NaCl:

* – $p < 0,05$ (достовірність різниці порівняно з показниками контрольної групи)

Внутрішньоклітинний рівень GSH визначається швидкістю його синтезу з одного боку, та швидкістю його експорту, з іншого, проте, також впливають агенти або умови, які змінюють тіоловий редокс стан та призводять до утворення глутатіонових кон'югатів або комплексів, і які порушують розподіл GSH серед різних внутрішньоклітинних органел [11].

В умовах розвитку окисного стресу GSH захищає білки від необоротного окислення їх SH-групи, а також посилює інактивацію гідропероксидів та інших токсичних продуктів окиснення шляхом відновлення та глутатіонування. Поряд з глутатіоном важливу роль у відновленні дисульфідних зв'язків в білках та підтримці окисно-відновного балансу в клітинах відіграють глутаредоксини, для відновлення яких також необхідний глутатіон. Являючись субстратом глутатіонпероксидази, глутатіон виступає донором атомів водню для відновлення H_2O_2 та ліпідних пероксидів. Серед семи ізоформ глутатіонпероксидази відома селенова гастроінтестинальна глутатіонпероксидаза 2, що здатна відновлювати пероксид водню та гідропероксиди жирних кислот [18]. Відновлення органічних гідропероксидів може здійснюватися не тільки завдяки каталітичній активності глутатіонпероксидази, але і пероксидазною активністю Se-незалежної глутатіон S-трансферази, яка також використовує GSH як косубстрат. Крім цього, глутатіон

як низькомолекулярний тіол може брати участь в неферментативному антиоксидантному захисті, виступаючи ефективним скевенджером вільних радикалів [19]. Наслідком таких відновних процесів та реакцій кон'югації в клітині є генерування GSSG та глутатіонових S-кон'югатів.

Вміст GSSG на кінець 4 та 6 тижнів зростав в 1,3 та 1,5 раз, відповідно; надалі, позакінченні 8, 10 та 12 тижнів, спостерігалось зниження його вмісту до контрольних значень (рис. 2).

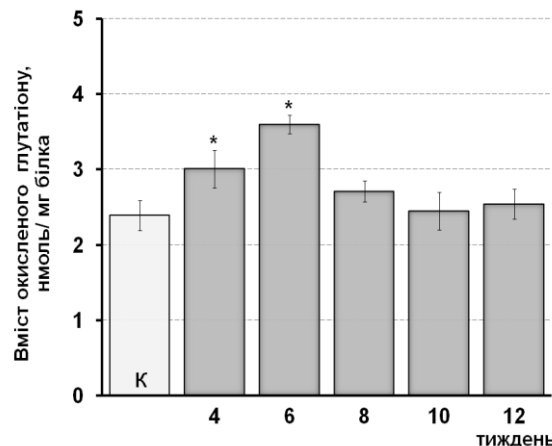


Рис. 2. Вміст окисненого глутатіону за умов 10-ти тижневого споживання 5 % NaCl:

* – $p < 0,05$ (достовірність різниці порівняно з показниками контрольної групи)

Зростання вмісту GSSG є показником переважання окисних умов, однак для адекватної оцінки стану антиоксидантного захисту слід обчислювати коефіцієнт співвідношення кількості відновленого та окисненого глутатіону (GSH/GSSG), як найбільш повноцінний показник функціонального стану антиоксидантного захисту та ймовірних функціональних коливань тіолдисульфідної рівноваги глутатіонової редокс-системи [20]. Підтримка оптимального співвідношення GSH/GSSG в клітині є суттєвою для нормального її функціонування, тоді як нестача GSH піддає її ризику окисного ушкодження [19].

Починаючи з 4 тижня, виявлено зменшення GSH/GSSG порівняно з контролем (табл. 1), що є свідченням прооксидантного стану клітин COII. Порушення даного співвідношення має суттєвий вплив з точки зору редокс-регуляції функціонування білків на процеси сигнальної трансдукції, контролю експресії генів, клітинної проліферації, диференціювання, стан клітинного метаболізму та життєдіяльності клітини в цілому [20].

Таблиця 1
Відношення GSH/GSSG в цитозолі клітин COII за умов 10-ти тижневого споживання 5% NaCl

Контроль	Термін спостереження				
	4 тиж	6 тиж	8 тиж	10 тиж	12 тиж
16,1±2,6	7,3±1,1*	3,9±0,5*	5,0±0,6*	6,1±0,5*	7,4±1,2*

Примітка: * – $p \leq 0,05$ (достовірність різниці в порівнянні з показниками контрольної групи)

Отже, виявлене нами зниження GSH/GSSG може вказувати на порушення клітинного редокс-статусу та ймовірну зміну редокс-залежної регуляції генів, а як відомо, при таких хронічних патологічних процесах, як хронічне запалення, неповноцінне харчування, порушення іннервації, при фізико-хімічних впливах, часто виникають розлади в роботі регуляторних механізмів клітинної проліферації та диференціювання. Це призводить до патологічної регенерації, кишкової метаплазії, яка відноситься до пограничного стану й не рідко є одним з ланцюгів канцерогенезу шлунка [21].

Поповнення вмісту GSH здійснюється не тільки за рахунок його синтезу *de novo*, а й за участі глутатіонредуктази. Як видно з рис. 3 активність ГР на всіх етапах досліджень знижувалась в середньому в 2,1 рази, що співвідноситься зі зниженим вмістом відновленого глутатіону (рис. 1), адже ГР – фермент, що забезпечує відновлення GSSG до GSH в присутності НАДФН.

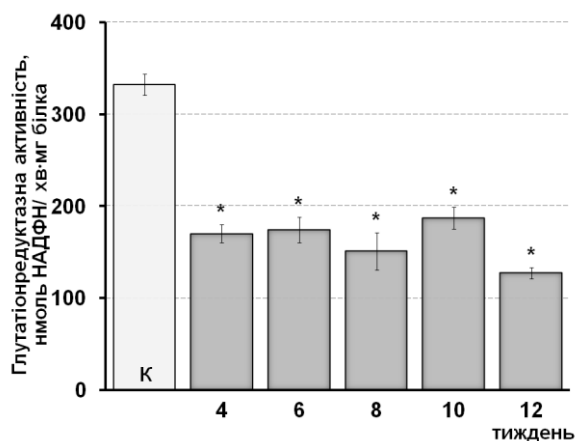


Рис. 3. Глутатіонредуктазна активність за умов 10-ти тижневого споживання 5 % NaCl: * – $p < 0,05$ (достовірність різниці порівняно з показниками контрольної групи)

Для каталітичної активності редуктаз необхідні відновні коферменти НАДФН, основну потребу в яких клітини забезпечують завдяки функціонуванню пентозофосфатного шляху перетворення глюкози, ключовим ферментом якого є глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа.

Г6ФД в клітинах СОШ характеризувалась достовірним зростанням активності на 4, 6 та 10 тижні в 1,7, 3,5 та 4,3 рази, відповідно (рис. 4), що свідчить про відсутність дефіциту відновних еквівалентів для ГР, активність якої в цей час була нижчою за контрольні значення (рис. 3).

Тому, згідно літературних даних, інгібування ГР, як і транспорт GSSG з клітини, могли спричинити глутатіонові кон'югати 4-гідроксиалк-2-еналю [22].

Також відомо, що оптимальне значення рН для ГР для проходження реакції з НАДФН складає 7.0–7.5, а при закисленні середовища швидкість реакції зменшується в 200 разів, причому відновний процес відбувається за рахунок НАДФН [23]. Наслідком пероксидного окиснення ліпідів є поява гідрофільної гідропероксидної групи в поліненасиченій жирній

кислоті, яка є складовим компонентом мембранного фосфоліпиду. Таке порушення гідрофобності фосфоліпидного бішару призводить до різкого збільшення його пасивної проникності для іонів. Можливо, внаслідок цих процесів і відбувається зміна внутрішньоклітинного рН, що і спричинює зміну активності ферментів.

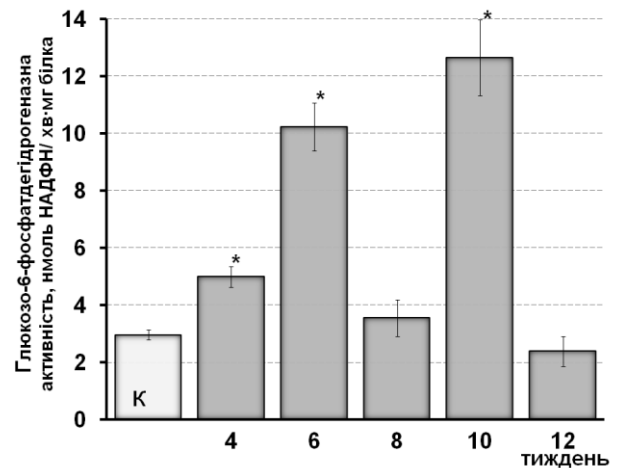


Рис. 4. Глюкозо-6-фосфатдегідрогеназна активність за умов 10-ти тижневого споживання 5 % NaCl: * – $p < 0,05$ (достовірність різниці порівняно з показниками контрольної групи)

Активність Г6ФДГ з продукуванням НАДФН може забезпечувати відновні процеси за участі інших редуктаз, наприклад, тіоредоксинредуктази, що унеможлиблює інгібування глюкозо-6-фосфатдегідрогенази НАДФН-еквівалентом.

6. Висновки

Таким чином, представлені результати відображають зміни окисно-відновного стану клітин на довготривалій вплив хлориду натрію, а саме зниження активності ГР та переважання прооксидантного стану. При чому така картина спостерігалась не тільки в період безпосереднього впливу даного чинника, а й двотижнева його відміна не призводила до нормалізації цих показників. Виявлені зміни з точки зору редокс-регуляції вказують на суттєвий довготривалій вплив підвищеного споживання NaCl на стан клітинного метаболізму в цілому та можливий розлад роботи регуляторних механізмів.

Література

- Palli, D. Epidemiology of gastric cancer: an evaluation of available evidence [Text] / D. Palli // Journal of Gastroenterology. – 2000. – Vol. 35. – P. 84–89.
- Wang, X.-Q. Review of salt consumption and stomach cancer risk: Epidemiological and biological evidence [Text] / X.-Q. Wang, P. D. Terry, H. Yan // World Journal of Gastroenterology. – 2009. – Vol. 15, Issue 18. – P. 2204–2213. doi: 10.3748/wjg.15.2204
- Kim, H. J. Fresh and pickled vegetable consumption and gastric cancer in Japanese and Korean populations: A meta-analysis of observational studies [Text] / H. J. Kim, S. Y. Lim, J. S. Lee, S. Park, A. Shin, B. Y. Choi et. al. // Cancer Science. – 2010. – Vol. 101, Issue 2. – P. 508–516. doi: 10.1111/j.1349-7006.2009.01374.x

4. Takahashi, M. Enhancing effects of dietary salt on both initiation and promotion stages of rat gastric carcinogenesis [Text] / M. Takahashi, R. Hasegawa // Princess Takamatsu Symposia. – 1985. – Vol. 16. – P. 169–182.
5. Takahashi, M. Dose-dependent promoting effects of sodium chloride (NaCl) on rat glandular stomach carcinogenesis initiated with N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine [Text] / M. Takahashi, A. Nishikawa, F. Furukawa, T. Enami, T. Hasegawa, Y. Hayashi // Carcinogenesis. – 1994. – Vol. 15, Issue 7. – P. 1429–1432. doi: 10.1093/carcin/15.7.1429
6. Furihata, C. Cause and effect between concentration-dependent tissue damage and temporary cell proliferation in rat stomach mucosa by NaCl, a stomach tumor promoter [Text] / C. Furihata, H. Ohta, T. Katsuyama // Carcinogenesis. – 1996. – Vol. 17, Issue 7. – P. 401–406. doi: 10.1093/carcin/17.3.401
7. Charnley, G. Flow cytometric analysis of the effect of sodium chloride on gastric cancer risk in the rat [Text] / G. Charnley, S. R. Tannenbaum // Cancer Research. – 1985. – Vol. 45, Issue 11. – P. 5608–5616.
8. Tsugane, S. Diet and the risk of gastric cancer: review of epidemiological evidence [Text] / S. Tsugane, S. Sasazuki // Gastric Cancer. – 2007. – Vol. 10, Issue 2. – P. 75–83. doi: 10.1007/s10120-007-0420-0
9. Nozaki, K. Effect of high salt diet and Helicobacter pylori infection on gastric carcinogenesis [Text] / K. Nozaki, T. Tsukamoto, M. Tatematsu // Nihon Rinsho. – 2003. – Vol. 61. – P. 36–40.
10. Ballatori, N. Glutathione dysregulation and the etiology and progression of human diseases [Text] / N. Ballatori, S. M. Krance, S. Notenboom, S. Shi, K. Tieu, C. L. Hammond // Biological Chemistry. – 2009. – Vol. 390, Issue 3. – P. 191–214. doi: 10.1515/bc.2009.033
11. Hammond, C. L. Novel roles for glutathione in gene expression, cell death, and membrane transport of organic solutes [Text] / C. L. Hammond, T. K. Lee, N. J. Ballatori // Journal of Hepatology. – 2001. – Vol. 34, Issue 6. – P. 946–954. doi: 10.1016/s0168-8278(01)00037-x
12. Таиров, М. М. Клеточная локализация аденيلاتциклаз, стимулируемых гистамином в слизистой оболочке желудка крыс и их роль в регуляции желудочной секреции [Текст] / М. М. Таиров, Р. И. Берсимбаев, С. В. Аргутинская, Р. И. Салганик // Биохимия. – 1983. – Т. 48, № 6. – С. 1035–1041.
13. Hissin, P. J. A fluorometric method for determination of oxidized and reduced glutathione in tissues [Text] / P. J. Hissin, R. Hilf // Analytical Biochemistry. – 1976. – Vol. 74, Issue 1. – P. 214–226. doi: 10.1016/0003-2697(76)90326-2
14. Mokrasch, L. C. Glutathione content of cultured cells and rodent brain regions: a specific fluorometric assay [Text] / L. C. Mokrasch, E. J. Teschke // Analytical Biochemistry. – 1984. – Vol. 140, Issue 2. – P. 506–509. doi: 10.1016/0003-2697(84)90201-x
15. Власова, С. Н. Активность глутатионзависимых ферментов эритроцитов при хронических заболеваниях печени у детей [Текст] / С. Н. Власова, Е. И. Шабунина, И. А. Переслегина // Лабораторное дело. – 1990. – № 8. – С. 19–21.
16. Прохорова, М. И. Методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен) [Текст] / М. И. Прохорова. – Л.: Изд-во Ленинградского университета, 1982. – 272 с.
17. Bradford, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding [Text] / M. M. Bradford // Analytical Biochemistry. – 1976. – Vol. 72, Issue 1-2. – P. 248–254. doi: 10.1016/0003-2697(76)90527-3
18. Зенков, Н. К. Некоторые принципы и механизмы редокс-регуляции [Текст] / Н. К. Зенков, Е. Б. Меньшикова, В. О. Ткачѳ // Кислород и антиоксиданты. – 2009. – № 1. – С. 3–64.
19. Калинина, Е. В. Роль глутатиона, глутатион-трансферазы и глутаредоксина в регуляции редокс-зависимых процессов [Текст] / Е. В. Калинина, Н. Н. Чернов, М. Д. Новичкова // Успехи биологической химии. – 2014. – Т. 54. – С. 299–348.
20. Тапбергенов, С. О. Глутатионовая редокс-система и ферменты антиоксидантной защиты при гипотиреозе и адrenaлэктомии [Текст] / С. О. Тапбергенов, Б. С. Советов, Р. Б. Бекбосынова // Успехи современного естествознания. – 2015. – № 1-2. – С. 192–194.
21. Хомерики, С. Г. Процессы регенерации в слизистой оболочке желудка и канцерогенез [Текст] / С. Г. Хомерики // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2001. – Т. 11, № 2. – С. 17–23.
22. Коржов, В. И. Роль системы глутатиона в процессах детоксикации и антиоксидантной защиты [Текст] / В. И. Коржов, В. Н. Жадан, М. В. Коржов // Журнал АМН Украины. – 2007. – Т. 13, № 1. – С. 3–20.
23. Karoui, H. Characterization of sulfur-centered radical intermediates formed during the oxidation of thiols and sulfite by peroxyinitrite. ESR-spin trapping and oxygen uptake studies [Text] / H. Karoui, N. Hogg, C. Fréjaville, P. Tordo, B. Kalyanaraman // The Journal of Biological Chemistry. – 1996. – Vol. 271, Issue 11. – P. 6000–6009. doi: 10.1074/jbc.271.11.6000

References

1. Palli, D. (2000). Epidemiology of gastric cancer: an evaluation of available evidence. *Journal of Gastroenterology*, 35, 84–89.
2. Wang, X.-Q., Terry, P. D., Yan, H. (2009). Review of salt consumption and stomach cancer risk: Epidemiological and biological evidence. *World Journal of Gastroenterology*, 15 (18), 2204–2213. doi: 10.3748/wjg.15.2204
3. Kim, H. J., Lim, S. Y., Lee, J.-S., Park, S., Shin, A., Choi, B. Y. et al. (2010). Fresh and pickled vegetable consumption and gastric cancer in Japanese and Korean populations: A meta-analysis of observational studies. *Cancer Science*, 101 (2), 508–516. doi: 10.1111/j.1349-7006.2009.01374.x
4. Takahashi, M., Hasegawa, R. (1985). Enhancing effects of dietary salt on both initiation and promotion stages of rat gastric carcinogenesis. *Princess Takamatsu Symposia*, 16, 169–182.
5. Takahashi, M., Nishikawa, A., Furukawa, F., Enami, T., Hasegawa, T., Hayashi, Y. (1994). Dose-dependent promoting effects of sodium chloride (NaCl) on rat glandular stomach carcinogenesis initiated with N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine. *Carcinogenesis*, 15 (7), 1429–1432. doi: 10.1093/carcin/15.7.1429
6. Furihata, C., Ohta, H., Katsuyama, T. (1996). Cause and effect between concentration-dependent tissue damage and temporary cell proliferation in rat stomach mucosa by NaCl, a stomach tumor promoter. *Carcinogenesis*, 17 (3), 401–406. doi: 10.1093/carcin/17.3.401
7. Charnley, G., Tannenbaum, S. R. (1985). Flow cytometric analysis of the effect of sodium chloride on gastric cancer risk in the rat. *Cancer Research*, 45 (11), 5608–5616.
8. Tsugane, S., Sasazuki, S. (2007). Diet and the risk of gastric cancer: review of epidemiological evidence. *Gastric Cancer*, 10 (2), 75–83. doi: 10.1007/s10120-007-0420-0
9. Nozaki, K., Tsukamoto, T., Tatematsu, M. (2003). Effect of high salt diet and Helicobacter pylori infection on gastric carcinogenesis. *Nihon Rinsho*, 61, 36–40.
10. Ballatori, N., Krance, S. M., Notenboom, S., Shi, S., Tieu, K., Hammond, C. L. (2009). Glutathione dysregulation and the etiology and progression of human diseases. *Biological Chemistry*, 390 (3). doi: 10.1515/bc.2009.033
11. Hammond, C. L., Lee, T. K., Ballatori, N. (2001). Novel roles for glutathione in gene expression, cell death, and membrane transport of organic solutes. *Journal*

of Hepatology, 34 (6), 946–954. doi: 10.1016/s0168-8278(01)00037-x

12. Tairov, M. M., Bersimbay, R. I., Argutinsky, S. V., Salganik, R. I. (1983). Cellular localization of stimulated by histamine adenylate cyclases in gastric mucosa of rats and their role in gastric secretion regulation. *Biochemistry*, 48 (6), 1035–1041.

13. Hissin, P. J., Hilf, R. (1976). A fluorometric method for determination of oxidized and reduced glutathione in tissues. *Analytical Biochemistry*, 74 (1), 214–226. doi: 10.1016/0003-2697(76)90326-2

14. Mokrasch, L. C., Teschke, E. J. (1984). Glutathione content of cultured cells and rodent brain regions: A specific fluorometric assay. *Analytical Biochemistry*, 140 (2), 506–509. doi: 10.1016/0003-2697(84)90201-x

15. Vlasova, S. N., Shabunina, E. I., Pereslegina, I. A. (1990). The activity of glutathione-dependent enzymes of erythrocytes under chronic liver diseases in children. *Laboratory business*, 8, 19–21.

16. Prokhorova, M. (1982). *Methods of biochemical studies (lipid and energy metabolism)*. Publisher of Leningrad University, 272.

17. Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Bio-*

chemistry, 72 (1-2), 248–254. doi: 10.1016/0003-2697(76)90527-3

18. Zenkov, N. K., Menshchikova, E. B., Tkachev, V. O. (2009). Some of the principles and mechanisms of redox regulation. *Oxygen and antioxidants*, 1, 3–64.

19. Kalinina, E. V., Chernov, N. N., Novichkova, M. D. (2014). Role of glutathione, glutathione transferase and glutaredoxin in regulation of redox-dependent processes. *Advances of Biological Chemistry*, 54, 299–348.

20. Tapbergenov, S. O., Sovietov, B. S., Bekbosynova, R. B. (2015). Glutathione redox system and antioxidant defense enzymes under hypothyroidism and adrenalectomy. *The success of modern science*, 1-2, 192–194.

21. Khomeriki, S. G. (2001). The regeneration processes in gastric mucosa and carcinogenesis. *Russian Journal of Gastroenterology, Hepatology, Coloproctology*, 11 (2), 17–23.

22. Korzhov, V. I., Zhadan, V. N., Korzhov, M. V. (2007). The role of glutathione system in the process of detoxification and antioxidant protection. *Journal of Medical Sciences of Ukraine*, 13 (1), 3–20.

23. Karoui, H., Hogg, N., Fréjaville, C., Tordo, P., Kalyanaraman, B. (1996). Characterization of Sulfur-centered Radical Intermediates Formed during the Oxidation of Thiols and Sulfite by Peroxynitrite. *Journal of Biological Chemistry*, 271 (11), 6000–6009. doi: 10.1074/jbc.271.11.6000

Рекомендовано до публікації д-р біол. наук Фалалєєва Т. М.

Дата надходження рукопису 11.10.2016

Тимошенко Марія Олександрівна, кандидат біологічних наук, молодший науковий співробітник, Науково-дослідна лабораторія «Фізико-хімічної біології» навчально-наукового центру «Інститут біології та медицини», Київський національний університет імені Тараса Шевченка, вул. Володимирська, 60, м. Київ, Україна, 01601
E-mail: maria.bulavka@gmail.com

Кравченко Ольга Олександрівна, кандидат біологічних наук, асистент, кафедра біохімії навчально-наукового центру «Інститут біології та медицини», Київський національний університет імені Тараса Шевченка, вул. Володимирська, 60, м. Київ, Україна, 01601
E-mail: demidiko@gmail.com

Гайда Людмила Миколаївна, кандидат біологічних наук, молодший науковий співробітник, Науково-дослідна лабораторія «Фізико-хімічної біології» навчально-наукового центру «Інститут біології та медицини», Київський національний університет імені Тараса Шевченка, вул. Володимирська, 60, м. Київ, Україна, 01601
E-mail: ludagaida@gmail.com

УДК 579.26+579.22

АНТИФУНГАЛЬНИЙ ВПЛИВ КУЛЬТУРАЛЬНОЇ РІДИНИ ПРОДУЦЕНТУ МЕЛАНІНУ *PSEUDONADSONIELLA BRUNNEA*

© Т. О. Кондратюк, Т. В. Берегова, Л. І. Остапченко

*Досліджено вплив культуральної рідини продуценту меланіну *Pseudonadsoniella brunnea* (антарктичних дріжджоподібних грибів) щодо грибів *Fusarium oxysporum*. Із використанням методу дифузії в агар (метод лунок) виявлено стійку фунгіцидну дію культуральної рідини *Ps. brunnea* щодо фітопатогенних грибів. Встановлено, що діаметр зон відсутності росту тест-культур грибів, що зазнали фунгіцидного впливу *Ps. brunnea*, подібний до дії біоцидів класу четвертинних амонієвих сполук (бензалконію хлориду)*

Ключові слова: антарктичні мікроорганізми, *Fusarium oxysporum*, антагонізм, фунгіцидна дія

*The influence of culture fluid of melanin producer *Pseudonadsoniella brunnea* (Antarctic yeast-like fungus) on fungi of the genus *Fusarium* is studied. Stable fungicidal effect of culture fluid of *Ps. brunnea* on pathogenic fungi is revealed using agar diffusion method (or hole method). It is determined that the diameter of the zones of growth absence of test cultures of pathogenic fungi, those testified the fungicidal impact of *Ps. brunnea*, is similar to the action of biocides belonging to the class of quaternary ammonium compounds (benzalkonium chloride)*

Keywords: Antarctic microorganisms, *Fusarium oxysporum*, antagonism, fungicidal effect