

# БІОЛОГІЧНІ НАУКИ

УДК 608

## БІОЛОГІЧНЕ ЗНАЧЕННЯ ПОКАЗНИКІВ СИСТЕМИ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ ПРИ ОЦІНЦІ БЕЗПЕЧНОСТІ ВЖИВАННЯ ГЕНЕТИЧНО МОДИФІКОВАНИХ ОРГАНІЗМІВ

**Чорна І.В.**Національний технічний університет  
«Харківський політехнічний інститут»**Дроник Г.В.**

Буковинська державна сільськогосподарська дослідна станція УААН

**Рогозинський М.С.**Чернівецький факультет Національного технічного університету  
«Харківський політехнічний інститут»

В статті узагальнено літературні дані про здійснення біохімічної оцінки безпечності вживання генетично модифікованих організмів, класифікацію та характеристику системи антиоксидантного захисту організму тварин. Важливу роль при оцінці безпечності вживання генетично модифікованих продуктів відіграє система антиоксидантного захисту. Основу системи антиоксидантного захисту становить глутатіонова система, що складається з глутатіону та ферментів, що каталізують реакції відновлення та окиснення. Антиоксидантну систему умовно поділяють на ферментативну та не ферментативну. До ферментативної ланки системи антиоксидантного захисту належать: каталаза, пероксидаза, супероксиддисмутаза, глутатіонпероксидаза, глутатіонредуктаза, глутатіонтрансфераза та інші ферменти. До не ферментативної ланки відносять жиророзчинні (віт. А, Е і К) та водорозчинні вітаміни (віт. С і РР), глутатіон, убіхінон, біогенні аміни, каротиноїди та стерини. Детальніше розглядається ферментативна ланка антиоксидантної системи. Активність антиоксидантних ферментів дуже добре регулюється і залежить від віку тварини, фізіологічного стану, рН середовища, швидкості синтезу антиоксидантних ферментів, наявності коферментів, інгібіторів та активаторів, також на активність ферментів можуть впливати і інші чинники (радіаційне опромінення, ріст пухлини, вплив токсичних речовин та інші патологічні процеси), тому вивчення антиоксидантної системи захисту може служити одним з основних критеріїв оцінки безпечності вживання генномодифікованих рослин.

**Ключові слова:** генетично модифіковані організми, оцінка безпечності, система антиоксидантного захисту, антиоксиданти, глутатіон, глутатіонпероксидаза, глутатіонредуктаза, глутатіонтрансфераза, каталаза, супероксиддисмутаза.

**Постановка проблеми.** У процесі технологічної еволюції нанотехнологій, генної інженерії та біотехнології, ці науки опинилися на найвищому щаблі технологічних досягнень людства. Завдяки застосуванню технологій генної інженерії було здійснено штучне перенесення гена одного організму в ДНК іншого. Вперше перенесення гену було здійснено у 1979 році вченим Кельнського університету, який в геном бактерії кишкової палички вбудував ген, що відповідав за синтез інсуліну людини [1]. В наш час створено багато генетично модифікованих організмів (мікроорганізмів, рослин та тварин), які мають корисні властивості та ознаки для людини. Такі організми набули широкого застосування в сільському господарстві, в тваринництві, медицині та харчовій промисловості. В сільському господарстві широко використовують такі генетично модифіковані рослини: соя, кукурудза, ріпак, картопля, рис та інші. Ці рослини широко використовують в харчовій промисловості в різних країнах світу. Генномодифіковані організми, є стійкими до несприятливих факторів навколишнього середовища, гербіцидів та збудників інфекцій, насіння трансгенних рослин довше зберігаються, швидше проростає, стійке до дії шкід-

ників. Найбільше серед усіх трансгенних рослин (соя, кукурудза та інші) вирощують сорти, які стійкі до гербіциду «Roundup». Основною діючою речовиною гербіциду «Roundup» є речовина гліфосат. Деякі вчені стверджують, що цей гербіцид може накопичуватися в насінні трансгенних рослин [2]. На сьогоднішній час виникають багато запитань щодо безпечності використання трансгенних рослин при виробництві харчових продуктів, для цього потрібно проводити оцінку безпечності вживання кожного сорту трансгенної рослини для здоров'я людини та тварин окремо [2; 3; 4; 5]. Для оцінки безпечності вживання трансгенних рослин розглянемо антиоксидантні ферменти, які відіграють важливу роль при оцінці фізіологічного стану організму при різних патологічних станах та дії токсичних речовин.

**Аналіз останніх досліджень і публікацій.** Проблемою вивчення впливу генетично модифікованої сої на живі організми займалися багато науковців: вивчали вплив гербіциду на мікроорганізми, тварин та рослин [6; 7; 8; 9; 10]. Перевірку трансгенних рослин здійснюється за такою схемою: визначення хімічного складу насіння чи плодів та показники якості отриманої продукції, проведення токсикологічних дослідження

(на вміст гербіцидів, шкідливих, антипоживних та отруйних речовин), стійкість до хвороб цих організмів [1; 2; 3; 4; 5], крім того досліджують також можливість переходу вірусних промоторів у ДНК тварин, людини та мікроорганізмів. В країнах Євросоюзу прийнята загальна схема перевірки генномодифікованих організмів: загальна характеристика організму-донора та організму-реципієнта, оцінку композиційної еквівалентності та харчової якості генномодифікованих організмів, яку проводять на лабораторних тваринах (щурях, мишах, коровах, курчата та інших). Також трансгенні організми перевіряють на безпечність нових білків, що кодуються штучно внесеними генами, такі білки перевіряються також на токсичність та алергенність [4].

Інша схема перевірки генномодифікованих продуктів складається з медико-генетичної, медико-біологічної і технологічної оцінки.

Медико-генетична оцінка здійснюється завдяки використанню полімеразної ланцюгової реакції для визначення промоторів, маркерних генів, термінаторів і їх біохімічну та експресійну стабільності.

Медико-біологічної оцінки включає: перевірку на нейротоксичність, токсичність, мутагенність, канцерогенність, алергенність, вплив на систему імунного захисту та репродуктивну функцію. Оцінку токсичності трансгенних продуктів проводять разом з морфологічними, гематологічними та біохімічними показниками. Визначають такі біохімічні показники: вміст малонового альдегіду та дієнових кон'югатів; активності ферментів 1-ї і 2-ї фази біотрансформації ксенобіотиків (цитохром P<sub>450</sub>, цитохром b<sub>5</sub>, епоксигідролаза, ацетилестераза, глутатіонтрансфераза та глюкуронозилтрансфераза.); концентрацію ферментів лізосом (арилсульфатази А і В, β-глюкуронідаза та β-галактозидаза.); вміст антиоксидантних ферментів (глутатіонредуктаза, глутатіонпероксидаза, глутатіонтрансфераза, каталаза, супероксиддисмутаза) [4; 5].

Технологічна оцінка генетично модифікованих продуктів включає: оцінку технологічних параметрів, фізико-хімічні та органолептичні властивості продукції.

Проаналізувавши публікації останніх років по дослідженню впливу трансгенної сої на організм тварин виявилось, що: вивчалися морфологічні показники свиней та гістологічні зміни їх наднирників, нирок та печінки; вивчався вплив модифікованої сої на статеві гормони та статеву систему свиней, і було виявлено зниження рівня естрогенів в крові, та доведено негативний вплив її на репродуктивну здатність свиней [11; 12], визначався вміст лужної фосфатази у трьох поколіннях, а Алату і Асату у двох поколіннях в сироватці крові щурів, що свідчить про ураження гепатоцитів печінки та про ушкодження печінкових жовчаних шляхів. Визначення показників антиоксидантної системи при вживанні генномодифікованої сої не проводилося, хоча саме дослідження вмісту антиоксидантних ферментів у крові та органах може показати про зміни, які відбуваються в організмі тварин [12].

**Виділення невирішених раніше частин загальної проблеми.** І досі залишаються недостатньо розкриті окремі аспекти даної наукової проблематики, зокрема:

- аналіз яким чином генетично модифіковані організми можуть впливати на фізіологічні та біохімічні процеси в організмі тварин та людини;

- аналіз як саме вживання генномодифікованих рослин може вплинути на ініціацію вільно-радикальних процесів, окиснювальну модифікацію молекул та показники антиоксидантної системи.

**Мета статті** полягає у висвітленні важливого значення показників антиоксидантної системи для оцінки безпечності вживання генетично модифікованих організмів.

**Основні цілі та завдання** даної публікації:

- висвітлити механізми дії токсичних речовин, які можуть міститися у насінні трансгенних рослин (наприклад, при обробці гербіцидами цих рослин) та впливу генномодифікованих рослин;

- проаналізувати вплив активних форм кисню та вільних радикалів на клітинні структури та біомолекули;

- висвітлити вплив окиснювальної модифікації білків на стан антиоксидантної системи організму;

- виокремити ключові ферменти антиоксидантної системи захисту та показати їх важливу роль в обмінних процесах, що можуть служити основними маркерами при оцінці безпечності вживання генномодифікованих рослин.

**Виклад основного матеріалу.** Звернемо увагу на біохімічних показниках зокрема на антиоксидантну систему, які відіграють важливу роль при оцінці фізіологічного стану організму при різних патологічних станах та дії токсичних речовин [13; 14]. В багатьох країнах світу дозволено вирощувати трансгенні рослини стійкі до цього гербіциду (Raoundup-ready). Раніше стверджувалося, що гербіциди з гліфосатом є безпечними, оскільки мішенню його впливу є фермент, який є лише в рослин і відсутній у людей, тварин, комах. Однак дослідження показали високу токсичність гліфосату, також було встановлено що цей гербіцид здатний накопичуватися у насінні рослин. Проведені дослідження встановили, що водна витяжка з ГМ-сої призводить до пригнічення росту рослин. Так витяжка раундапостійкої сої пригнічує в 1,9-2,5 рази інтенсивність росту проростків зерна пшениці, жита і тритикале, порівняно з такою ж витяжкою традиційної сої. Такі дослідження можна провести в будь якій лабораторії [15; 16].

Накопичення у насінні рослин гербіцидів чи синтез токсичних речовин генномодифікованими рослинами, які стійкі до комах-шкідників може мати негативний вплив на організм тварин при споживанні цих трансгенних продуктів. У механізмах дії різних токсичних речовин важливу роль відіграє здатність стимулювати утворення активних форм кисню (АФК), процесів окиснювальної модифікації білків та пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ), цим самим спричиняючи розвиток оксидативного стресу [17].

В аеробних організмах постійно утворюються активні форми кисню (АФК) у відповідь на ендогенні та екзогенні фактори, хоча раніше вважали, що утворення їх в клітині (окиснювальний вибух) є проявом неспецифічного імунного захисту організму при інфекційному ураженні. Вільні радикали при фізіологічній концентрації беруть участь

у передачі сигналу в клітині та захист від мікроорганізмів. Однак при різних стресових та патологічних станах відбувається надмірне утворення вільних радикалів, що призводить до порушення будови клітин та процесів метаболізму. Також збільшення рівня вільних радикалів відбувається при недостатній їх інактивації в організмі. Основним джерелами АФК в організмі є мітохондріальний, мікросомальний, фагоцитарний електронно-транспортні ланцюги окиснення, ксантиноксидаза, моноаміноксидаза взаємодія іонів металів змінної валентності з киснем та відновниками [18].

Активні форми кисню – це супероксидні радикали молекули кисню, пероксид водню ( $H_2O_2$ ), гідроксильні радикали, які утворюються в клітині, що поглинає кисень в ході нормального метаболізму [19].

При різних патологічних станах в організмі починають інтенсивно утворюватися АФК, які ініціюють окиснення білків, нуклеїнових кислот та ліпідів, тим самим викликаючи пошкодження різних клітинних структур. Окиснення молекул ліпідів супроводжується пошкодженням мембранних структур та ліпопротеїнових комплексів, окиснення білків може супроводжуватися різноманітними патологічними змінами. У разі окиснення молекул ферментів може значно змінюватися метаболізм на рівні клітин та тканин за рахунок зміни активності і здатності взаємодіяти із субстратом. Продукти вільнорадикального окиснення впливають на генетичний апарат клітини, тим самим зумовлюючи неконтрольований ріст клітин [20].

Патологічні наслідки виникають при надмірному накопиченні АФК, пероксидів і їх вторинних продуктів, цей стан звичайно називають оксидантним стресом, а фактори і речовини, які сприяють цьому, називають прооксидантами. Фактори, які викликають окиснювальний стрес, можуть бути різні: вплив токсичних та канцерогенних речовин, дія радіації, ріст та розвиток пухлин, та інші захворювання, але всі вони в кінцевому рахунку викликають окиснювальну модифікацію макромолекул (окиснювальна модифікація білків (ОМБ), пероксидне окиснення ліпідів (ПОЛ) та інше. Одним з таких факторів може бути вживання генномодифікованих продуктів, які можуть містити, як гербіцид так і інші токсичні речовини, що здатні спровокувати вільно-радикальні процеси та окиснювальну модифікацію біомолекул.

Окиснювальна модифікація білків пов'язана з пошкодженням як поліпептидного ланцюга, так і окремих амінокислот з утворенням декількох типів радикалів. Процес ОМБ має складний і специфічний характер, який встановлюється амінокислотним складом білків [21].

Внаслідок окисно-відновних реакцій в організмі відбувається генерація активних форм кисню (АФК:  $O_2^{\cdot -}$ ,  $\cdot OH$ ,  $RO_2$ ,  $OH_2$ ,  $H_2O_2$  та ін.), що беруть участь у різних фізіологічних та патологічних процесах. Однією з найактивніших форм кисню є гідроксильний радикал ( $\cdot OH$ ), який викликає пероксидне окиснення ліпідів (ПОЛ), окиснювальну модифікацію білків, пошкодження нуклеїнових кислот і вуглеводів, що у свою чергу, веде до метаболічних порушень і структурних змін у клітинах. Ступінь окиснювальної модифі-

кації білків може бути різним, від пошкодження окремих амінокислот до фрагментації білків, це залежить від інтенсивності генерації АФК.

Окиснювальна модифікація білків за дії АФК відбувається з утворенням додаткових карбонільних груп у бічних ланцюгах амінокислот [22; 23; 24]. Внаслідок дії вільних радикалів у певних ділянках поліпептидного ланцюга можуть виникати нові радикали, які, взаємодіючи з іншими амінокислотними залишками, можуть брати участь в утворенні нових радикальних продуктів. У такий спосіб можуть утворюватися алкіл-пероксильні, алкіл-пероксидні та алкоксильні радикали, які, залежно від оточення, піддаються подальшим перетворенням [25].

При окисненні білків у них утворюються альдегідні та кетонні групи амінокислотних залишків (карбонільні групи), підвищений рівень яких може бути показником вільнорадикального окиснення і окисленого стресу [26].

Ступінь та інтенсивність окиснення біологічних речовин залежить від рівноваги між генерацією АФК й буферною ємністю та активністю антиоксидантної системи захисту. Генерація АФК є природним процесом, який сприяє вилученню біологічних сполук під час регуляції гомеостазу. Останнім часом вважається, що будь-який вплив пероксидів та вільних радикалів призводить перш за все до складних модифікацій у білкових молекулах, ніж у ліпідах, що дозволяє говорити не скільки про негативні речовини, як про регулятори синтетично-катаболічних процесів та вторинні месенджери [27].

Саме окиснювальній модифікації білків відводиться провідна роль у балансі між синтезом та деградацією простих і складних білків, що визначають здатність клітин генерувати та проводити регуляторні імпульси, здійснювати рецепторні, медіаторні та енергетичні функції. Вважають, що саме розлади ОМБ, яка є таким самим природним процесом, як і утворення АФК, є однією з патогенетичних ланок розвитку патологічних станів внаслідок оксидативного стресу. Таким чином, ОМБ відіграє ключову роль у молекулярних механізмах оксидативного стресу, а оксидативний стрес є важливою ланкою багатьох патологічних процесів у організмі при різних захворюваннях [28; 29].

Окиснювальна модифікація білків може сприяти змінам амінокислотних залишків або змінам валентності та координації металів, що призводить до порушення структури білків та полегшення процесів протеолізу. Збільшення концентрації АФК супроводжується блокуванням та розпадом основних ферментів антиоксидантної системи (АОС). При значній інтенсифікації продукції пероксидів та окиснювальній модифікації макромолекул, супроводжується з наступною інактивацією ферментів-антиоксидантів, що призводить до виснаження активності АОС, зниження пулу речовин-антиоксидантів та загибелі клітин внаслідок деполімеризації мембран. Таким чином, інтенсивність ОМБ може бути маркером ступеня пероксидних процесів та фактором, який впливає на стан АОС [30].

Показано, що ОМБ веде до зміни не тільки первинної, але й вторинної та третинної структури. Накопичення окислених білків розглядається

як один із факторів регуляції синтезу білків, активації протеолітичних ферментів, які вибірково руйнують окислені білки. Також ОМБ генерує нові антигени і провокує імунну відповідь. Продукти такої модифікації можуть бути причиною вторинного пошкодження інших біомолекул [31].

В зв'язку з особливостями хімічного складу і структурної організації білків, процес ОМБ має складний і специфічний характер, що спряжено з утворенням великої кількості окислених продуктів радикальної та нерадикальної природи.

ОМБ може бути пов'язана з первинним порушенням чи самого поліпептидного ланцюга, чи окремих амінокислот. Розділити ці процеси можна умовно, так як окислення поліпептидного ланцюга призводить до окислення залишків амінокислот і, навпаки, окислена модифікація окремих амінокислот може супроводжуватися або агрегацією, або фрагментацією білків.

Фактично всі амінокислотні залишки білків здатні до окислення, та в даний час охарактеризовані не всі утворені при цьому продукти окислення. Найчутливіші до окислення сірковмісні (метіонін, цистеїн) і ароматичні (триптофан, тирозин і фенілаланін) амінокислотні залишки білків [30]. Амінокислоти білків також піддаються металокаталітичному окисненню при цьому утворюються карбонільні похідні.

Карбонільні похідні білків – це стабільні продукти, які утворюються за участю амінокислотних залишків проліну, аргініну, лізину, треоніну. Також карбонільні похідні білків можуть утворюватися за участю амінокислотних залишків лізину, цистеїну і гістидину з продуктами пероксидного окислення ліпідів. Причому карбонілювання аргініну і лізину супроводжується втратою одного або більше атомів азоту [32]. Акумуляція карбонільних груп білків може бути раннім показником тканинного пошкодження, викликаного вільними радикалами, а при деяких патологічних станах вони можуть складати 50-70% спільних клітинних білків [33].

Окислення білка може відбуватися за рахунок окислення сульфгідрильних груп (SH-груп) цистеїну, що призводить до утворення дисульфідних зв'язків між його двома молекулами. SH-групи (тіолова група, меркаптогрупа) – це хімічно-активні групи білків, які відіграють важливу роль в процесах клітинного дихання, реакціях окисного фосфорилування, регуляції проницливості мембран, входять до складу активних центрів багатьох ферментів і коферментів (визначають їх каталітичну активність), а також беруть активну участь у підтриманні третинної структури білків. За кількістю SH-груп можна судити про метаболічну активність ферментів. Сульфгідрильні групи білків не тільки здійснюють каталітичну функцію, але й захищають білки від пошкоджуючої дії несприятливих факторів зовнішнього середовища [34].

SH-групи володіють антиоксидантними властивостями, значною реакційною здатністю в окисно-відновних реакціях і їх кількість зменшується при оксидативному стресі, який виникає в результаті порушення балансу між продукцією вільних радикалів і механізмами антиоксидантного контролю. В нормі вміст SH-груп становить 400-600 мкмоль/л [35].

Вільнорадикальне пероксидне окислення (ВРПО) утворює цілий ряд продуктів, що є результатом взаємодії вільних радикалів між собою, так і з макромолекулами. При ВРПО разом з АФК утворюються, також інші активні радикали (кетони, альдегіди, пероксиди та спирти), які здатні ковалентно взаємодіяти з окремими функціональними групами протеїнів, що приводить до їх полімеризації та руйнування амінокислот, особливо ті які містять сульфгідрильні групи (цистеїн, метіонін). Усе це викликає модифікацію протеїнів, що в свою чергу може призвести до зміни ферментативної активності окремих ензимів. Активні радикали можуть призводити до руйнування біоантиокислювачів (убіхінону, вітамінів, стероїдних гормонів) що можуть змінювати склад фосфоліпідів (призводити до появи в їх гідрофобній частині продуктів окислення), що в свою чергу веде до ініціації процесів іонного транспорту, змінювати конформаційні протенів і ліпідний складу клітинних мембран, при цьому змінюються структурні і функціональні властивості мембран. Низько- і високомолекулярні сполуки, які мають тіолові групи, зокрема цистеїн, цистин, глутатіон відносять до водорозчинних біоантиоксидантів. Оскільки основною мішенню для активних форм кисню є протеїни, важливу роль у їх захисті від ендогенних активних форм кисню відіграють цистеїн та відновлений глутатіон. Їхні сульфгідрильні групи легше окислюються ніж SH-групи протеїнів, при цьому захищаючи самі білки від окиснювальної модифікації [36].

SH-групи, розташовані в активних центрах ферментів, активовані в результаті утворення водневих зв'язків з сусідніми функціональними групами, наприклад імідазолом або карбоксілом. Участь протона SH-групи в утворенні водневого зв'язку приводить до збільшення електронної густини біля атома сірки і, отже, до зростання його нуклеофільних властивостей.

Функція SH-групи полягає в утворенні тіоетерного зв'язку з ацильною групою молекули субстрату. SH-групи білка можуть відігравати роль реакційноздатного акцептора при реакціях ферментативного переносу ацильних, амідних, фосфатних та інших залишків. SH-групи окисних ферментів можуть відіграти важливу роль у проміжних перенесеннях електронів від субстратів до акцепторів [35].

Отже, ОМБ має як негативний так і позитивний характер, оскільки призводить до утворення каталітично неактивних або малоактивних ферментів та функціонально неповноцінних білків, а також ОМБ є стимулом до оновлення білків. Крім того, окиснювальна модифікація білків значно збільшує їх доступність до дії протеолітичних ферментів, тому протеолітичні ферменти відіграють важливу роль у деградації окиснювальних білків. Тому саме визначення ОМБ, вміст SH-групи та вміст протеолітичних ферментів у тканинах тварин при вживанні ГМО, може показати інтенсивність вільно радикальних процесів та ступінь окиснення білків. Саме окиснювальна модифікація є маркером інтенсивності пероксидних процесів та фактором, який впливає на стан антиоксидантної системи [30; 36].

Антиоксидантна система захисту (АОЗ) організму тварин здатна контролювати і зупиняє всі

етапи реакцій утворення вільних радикалів, починаючи від їх ініціації і закінчуючи утворенням гідроперекисів та малонового діальдегіду. При дії токсичних та шкідливих речовин на організм, при захворюваннях чи інших патологічних станах підвищується вміст у клітинах ферментів антиоксидантного захисту. Розглянемо основні ферменти АОЗ, які можна використовувати для оцінки безпечності вживання ГМО тваринами.

До антиоксидантної системи належить глутатіонова система, до складу, якої входять глутатіон і ферменти, що каталізують його зворотні реакції окиснення та відновлення (глутатіонпероксидазу, глутатіонредуктазу та глутатіонтрансферазу). До ферментів антиоксидантної системи відносять також каталазу, пероксидазу та супероксиддисмутазу, які каталізують реакції прямого руйнування пероксидних сполук в організмі людини і тварин [37].

Глутатіонова система захищає компоненти клітини від окиснення активними формами кисню та вільними радикалами. Основним антиоксидантом є відновлений глутатіон – низькомолекулярний тіол, що виступає донором водню в окисно-відновних реакціях [37]. У відновленій формі глутатіон хімічно взаємодіє з активними формами кисню, руйнує вільні радикали, видаляє ацилпероксидази з мембран. В якості кофактора він входить до складу ферментів глутатіонової системи, які знешкоджують перекис водню (глутатіонпероксидаза), ліпоперекиси мембран та ксенобіотики (глутатіонтрансфераза), підтримують пул відновленого глутатіону (глутатіонредуктаза), забезпечуючи комплексний антиоксидантний захист [37; 38].

Глутатіон є важливим антиоксидантом в організмі тварин та людини, саме він підтримує функціонально активну конформацію білків, а також захищає сульфгідрильні групи глобіну, мембрани еритроцитів та двовалентне залізо від дії окиснювачів.

Найважливішою функцією глутатіону є його участь в процесах знешкодження токсичних речовин та ксенобіотиків, які потрапляють до організму разом з продуктами харчування, напоями, через шкіру або продуктами дихання. В основному метаболізм шкідливих речовин та ксенобіотиків відбувається в печінці за участю відновленого глутатіону. Глутатіон підвищує стійкість клітин до негативних впливів різних стресових факторів, захищає організм від АФК; відновлює і ізомеризує дисульфідні зв'язки, також виконує ферментативну функцію; впливає на синтез нуклеїнових кислот, спричиняє вплив на проліферацію клітин та підтримує функціональний стан біологічних мембран. Зменшення концентрації глутатіону в еритроцитах та в клітинах тканин, може призвести до активації ПОЛ. Глутатіон є основним компонентом антиоксидантної системи в усіх клітинах та органах, він перетворюється на дисульфід за участю глутатіонпероксидази, а за дії глутатіонредуктази переходить у відновлений глутатіон. Знешкодження токсичних сполук у клітинах печінки відбувається за участю глутатіонтрансферази шляхом перенесення на них атомів сірки [38].

Відновлений глутатіон проявляє лише не детоксикаційні та антиоксидантні властивості, амінокислоти що входять в трипептид бере також участь у білковому та вуглеводному обміні, тим

самим підвищує стійкість організму до гіпоксії, перешкоджає зниженню окисно-відновного потенціалу та покращує обмін речовин.

Однією з основних функцій глутатіонпероксидази (ГП) є знешкодження і інактивація пероксидних радикалів та перекису водню. Зменшення ферментативної активності цього ензиму призводить до розвитку вільнорадикальної патології. Майже у всіх тканинах еукаріот було виявлено глутатіонпероксидазу, найбільше його міститься у матриксі мітохондрій та цитозолі [38; 39]. Цей фермент забезпечує захист клітинних мембран від пошкодження пероксидними радикалами. Глутатіонпероксидаза каталізує розпад  $H_2O_2$  та відновлення гідропероксидів глутатіоном. ГП має високу чутливість до перекису водню, тому цей фермент здатний знешкоджувати  $H_2O_2$  при низьких концентраціях [38; 40].

Глутатіонредуктаза (ГР) складається з двох ідентичних субодиниць, що містяться по чотири структурні домени зв'язаних дисульфідними зв'язками. Глутатіонредуктаза проявляє глутатіонвідновлювальну активність, в меншій мірі здатна проявляє, електронтрансферазну, трансгідрогеназну і діафоразну активності.

Однією з основних функцій глутатіонтрансферази є захист клітин від ксенобіотиків та продуктів перекидного окиснення ліпідів шляхом приєднання до субстрату молекули глутатіону або нуклеофільного заміщення гідрофобних груп. ГТ здатна відновлювати фосфоліпіди, що входять до складу клітинних мембран. Цей фермент бере участь в утворенні і метаболізмі гормонів, та відновлені гідропероксидів жирних кислот і нуклеотидів. Найбільша концентрація ГТ в ЕПР та цитозолі, трохи менше його міститься в мітохондріях та ядрі. Розрізняють глутатіонтрансферази, які взаємодіють з катіонами (у печінці, нирках та кишечнику) і аніонами (головний мозок, легені, селезінка, еритроцити, плацента). Залежно від специфічності субстрату також розрізняють глутатіонтрансферазу, яка взаємодіє з алканами, епоксидами, алкіленами, арилами, алканами, ентеротоксинами.

ГТ є важливими ферментами антиоксидантної і детоксикаційної системи, під час роботи якої утворюється тіоефір метаболіту з відновленим глутатіоном. У більшості випадків ця реакція призводить до інактивації токсичної речовини [40].

Глутатіонредуктаза (ГР) каталізує відновлення окисленої дисульфідної форми (GSSG) глутатіона у відновлену сульфгідрильну (GSH) за рахунок НАДФН+ $H^+$ , що є донором протонів. В основному ГР міститься в цитоплазмі, вона також є в мікросомах, мітохондріях та ядрах. Біологічна функція цього ферменту, полягає в підтримці високого рівня відновленого глутатіону та низького рівня окисненого глутатіону. Окислення GSH в GSSG відбувається при відновленні пероксидів в реакціях за участю глутатіонтрансферази та глутатіонпероксидази та дисульфідів за участю глутатіонтрансферази та інших ферментів. Підвищення концентрації цього ферменту спостерігається при збільшенні поділу клітини та при рості пухлини [40].

Ще одним важливим ферментом антиоксидантної системи являються такі ферменти: супероксиддисмутаза, каталаза, пероксидаза.

Супероксиддисмутаза (СОД) відіграє важливу роль у механізмах антиоксидантного захисту. СОД є внутрішньоклітинним ферментом, який присутній майже в усіх клітинах організму [41]. Основна роль цього ферменту полягає в дисмутації супероксидрадикала  $O_2^-$  у  $O_2$  і  $H_2O_2$ , який потім метаболізується в  $H_2O$  і  $O_2$  каталазою та глутатіонпероксидазою [42]. Супероксиддисмутаза швидко руйнується при потрапленні з клітини в міжклітинну рідину (лімфі, плазмі, синвіальній рідині). Супероксиддисмутаза в крові умовно ділиться на ізоферменти, розрізняють його три форми: Fe-, Zn-Cu- та Mn-залежні СОД. Метали розташовані в активному центрі ферменту та виконують каталітичну функцію, вони послідовно відновлюються і окислюються. СОД – марганець-вмісний фермент, міститься у мітохондріальному матриксі (Mn-СОД), а Cu, Zn-СОД в цитоплазмі, де знешкодженні АФК. Експериментальні дослідження клітинної смерті показали, що пов'язана з апоптозом фрагментація ДНК зменшується під дією Cu, Zn-СОД [43].

Супероксиддисмутаза може виступати прооксидантом та взаємодіяти з перекисом водню, ініціюючи утворення супероксидного аніону і гідроксильного радикалу. Зниження та підвищення активності супероксиддисмутази є наслідком розвитку патологічних процесів в організмі. Зниження вмісту цього ензиму у клітинах призводить до посилення цитотоксичної дії  $H_2O_2$ , що утворюється в результаті дисмутації супероксиду [44; 47].

Супероксиддисмутаза знешкоджує активні форми кисню, які після розпаду утворюють перекис водню та можуть пошкоджувати і сам фермент, тому СОД функціонує разом із каталазою. Каталаза швидко розщеплює  $H_2O_2$  на воду та кисень [45; 47]. У крові ж СОД виступає первинним антиоксидантом і здатний підтримувати та контролювати рівень вільних радикалів.

Каталаза належить до ферментів класу оксиредуктаз, вона бере участь у дезінтоксикації пероксиду водню [45]. До складу молекули каталази входять чотири однакові субодиниці, до складу їхнього активного центру входить гем, який зв'язаний з молекулою НАДФН. До активного центру входить також і тривалентне залізо, яке взаємодіє  $H_2O_2$  залежно від його концентрації. Каталаза міститься переважно в пероксисомах гепатоцитів, хоча її висока концентрація каталази виявлена також в мітохондріях і ЕПР гепатоцитів [45]. Для клітин концентрація  $H_2O_2$  має важливе значення, оскільки він може запуснути каскад реакцій вільнорадикального окиснення поліненасичених жирних кислот ліпідів, через що можуть ушкоджуватись мембрани, порушуватись функціонування клітин та наступати некроз.

**Висновки і пропозиції.** Отже, для оцінки безпечності вживання генетично модифікованих продуктів на організм щурів важливе значення відіграють показники ферментативної активності антиоксидантної системи. Антиоксидантна система є однією з найважливіших захисних систем організму, яка підтримує оптимальний рівень окисно-відновних процесів, крім того вона знешкоджує побічні продукти ПОЛ, ОМБ та активні форми кисню що виникають при різних патологічних станах та дії токсичних речовин. Споживання трансгенних рослин тваринами та людиною, може містити такі небезпеки для організму: синтезом алергенних чи токсичних білків, що кодуєть штучно внесені гени у рослину, можливістю накопичення гербіциду у насінні генномодифікованих рослин та інше. Вплив генетично модифікованих продуктів на тварин та людину залишається до кінця не вивченим, саме тому визначення вмісту антиоксидантних ферментів у крові та органах може служити одним з основних критеріїв безпечності вживання ГМО.

## Список літератури:

1. Гвоздев В.А. Подвижные гены в геномах эукариот: в кн. «Геном, клонирование, происхождение человека» / В.А. Гвоздев, Под ред. Л.И. Корочкина. – 2004. – С. 54-72.
2. Елдышев Ю.Н. Современная биотехнология. Мифы и реальность / Ю.Н. Елдышев, А.Л. Конов. – Москва: 2004. – 196 с.
3. Кузнецов В.В. Генетически модифицированные риски и полученные из них продукты: реальные и потенциальные риски / В.В. Кузнецов, А.М. Куликов // Российский химический журнал. – 2005. – Т. 69, № 4. – С. 70-83.
4. Kimber I., Dearman R.J. Approaches to assessment of the allergenic potential of novel proteins in food from genetically modified crops // *Toxicol. Sci.* – 2002. – 68(1). – P. 2-4.
5. Вудмаска І.В., Параняк Р.П., Янович Д.О. та ін. Оцінка якості та безпечності генетично модифікованих організмів / І.В. Вудмаска, Р.П. Параняк, Д.О. Янович // *Біологія тварин.* – 2007. – Т. 9, № 1-2. – С. 23-29.
6. Ewen S.W. Effect of diets containing genetically modified potatoes expressing *Galanthus nivalis* lectin on rat small intestine. *Lancet.* – 1999. – Vol. 354. – P. 9187-9196.
7. Fedketik K. *Biochemistry and physiology of action of herbicides.* Moscow, 1985. – 223 p.
8. Gillam J. Scientists call for new review of herbicide, cite “flawed” U.S. regulations. Reuters. Retrieved (5 September 2015).
9. Gorbach T.V. Influence of genetically modified soya in the diet of white rats on the metabolism and histology of the liver and kidneys from parents and descendants. *Problems of aging and longevity* / Gorbach T.V., Gubina-Vakulik G.I., Denisenko S.A. – 2016. – Vol. 25, no. 1, pp. 80-86.
10. IARC Monographs Volume 112: evaluation of five organophosphate insecticides and herbicides. International Agency for Research on Cancer, 20 March 2015.
11. Самсонук І.М. Дія трансаміназ і лужної фосфатази сироватки крові щурів трьох поколінь, що харчуються генетично модифікованою соєю. Науковий вісник ЛНУВМБТ імені С.З. Гжицький / Самсонук І.М., Стронський Ю.М. – 2013. – Т. 15, № 3(57), частина 2. С. 279-283.
12. Зінов'єв С.Г. Деякі біохімічні параметри крові свиней, що використовують ГМ-сою в їх дієтах / Зінов'єв С.Г. // *Біологія тварин.* – 2014. – Том 16, № 1. – С. 76-82.
13. Єлісеєва О.П. Стратегія і тактика при антиоксидантному захисті в клініці внутрішніх хвороб / О.П. Єлісеєва, М.Ф. Тимочко, О.О. Абрагамович // *Український медичний часопис.* – 2003. – № 3, 35. – С. 92-98.

14. Нетюхайло Л.Г. Активні форми кисню / Нетюхайло Л.Г., Харченко С.В. // Молодий вчений. – 2014. – № 9(12). – С. 131-135.
15. Кулик М.Ф. Інгібування росту зерна пшениці, тритикале та жита під впливом вилучення води круглою стабільною ГМ-соєю в порівнянні з не-ГМ соєю / Кулик М.Ф., Корнійчук О.В., Бугаєв В.Д., Обертюк Ю.А. // Бюлетень аграрної науки. – 2013. – № 6. – С. 21-21.
16. Кулик Ю.М. Наявність в нащадків щурів неідентифікованого фактору трансгенних соєвих бобів під час його годування протягом кількох поколінь / Кулик Ю.М., Раузкієн В.Т., Обертюк Ю.В., Хіміч О.В. // Бюлетень біологічних та медичних проблем. – 2015. – Т. 1, № 124. – С. 105-109.
17. Особа І.А. Особливості функціонування системи антиоксидантного захисту організму / І.А. Особа // Риборосподарська наука України. – 2009. – № 1. – С. 133-139.
18. Дмитренко Р.Р. Статеві особливості дії переривчастої гіпобаричної гіпоксії на вміст окисно-модифікованих білків у тканинах ясен за умов фотоперіоду різної тривалості / Р.Р. Дмитренко, Г.І. Ходоровський, В.А. Гончаренко // Буковинський медичний вісник. – 2014. – Том 18, № 1(69). – С. 29-32.
19. Ткачук О.В. Роль вільнорадикальних процесів у механізмах пластичності мозку, зумовленої пренатальним стресом / О.В. Ткачук, В.Ф. Мислицький, С.С. Ткачук та ін. // Медична хімія, 2006. – Т. 8, № 3. – С. 89-91.
20. Дубініна Є.Є. Окиснювальна модифікація протеїнів, їх роль при патологічних станах / Є.Є. Дубініна, А.В. Пустигіна // Український біохімічний журнал. – 2008. – Т. 80, № 6. – С. 5-18.
21. Карімов І.З. Зміна окисної модифікації білків сировотки крові та ДНК лейкоцитів при гострих кишкових інфекціях / І.З. Карімов, П.С. Аршинов, Н.Г. Лось-Яценко // Інфекційні хвороби. – 2004. – Т. 12, № 3. – С. 44-48.
22. Зайцева О.В. Модифікація спектрофотометричного методу визначення карбонільних груп протеїнів // Український біохімічний журнал. – 2012. – Т. 84, № 5. – С. 112-117.
23. Денисенко О.І. Окисна модифікація білків як чинник патогенезу алергодерматозів / О.І. Денисенко // Український журнал дерматології, венерології, косметології. – 2004. – Т. 3, № 1. – С. 23-26.
24. Муравлева Л.Е. Окислительная модификация белков: проблемы и перспективы исследования / Л.Е. Муравлева, В.Б. Молотов-Лучанский, Д.А. Ключев и др. // Фундаментальные исследования. – 2010. – № 1. – С. 74-78.
25. Рагино Ю.И. Атеросклероз и окислительные процессы. Новые способы оценки окислительной модификации белков / Ю.И. Рагино, В.А. Баум, Я.В. Полонская и др. // Бюлетень СО РАМН. – 2006. – Т. 122, № 4. – С. 67-73.
26. Куріліна Т.В. Інтенсивність окисної модифікації білків у доношених новонароджених при звичайному ендокринному невиношуванні вагітності у матерів / Т.В. Куріліна // Педіатрія. – 2006. – № 2. – С. 73-76.
27. Маніщенкова Ю. О. Окиснювальна модифікація білків у хворих з коморбідною патологією / Ю.О. Маніщенкова, О.А. Орлова, Л.В. Шкала // Український журнал клінічної та лабораторна медицина. – 2010. – Т. 5, № 1. – С. 126-129.
28. Берник О.О. Пероксидне окиснення білків печінки за умов гіпоацидного стану / О.О. Берник, О.М. Савчук, К.О. Дворченко // Фізика живого. – 2010. – Т. 18, № 3. – С. 89-92.
29. Карімов І.З. Изменение окислительной модификации белков сыворотки крови и состояние ДНК лейкоцитов при острых вирусных гепатитах / И.З. Каримов // Современные инфекции. – 2004. – № 3. – С. 4-9.
30. Сеченова И.М. Влияние терапии β-блокаторами на процессы окисления липидов и белков у больных с хронической сердечной недостаточностью / И.М. Сеченова // Сердечная недостаточность. – 2010. – № 1. – С. 45-51.
31. Паласюк Б.О. Перекисне окиснення ліпідів та окисна модифікація білків в ротовій рідині в дітей середнього шкільного віку з хронічним катаральним гінгівітом // Вісник ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія». – 2011. – Т. 12, № 4. – С. 50-54.
32. Яценко Ю.Б. Окисна модифікація білків легеневого експірату у новонароджених при критичних станах / Ю.Б. Яценко // Современная педиатрия. – 2005. – Т. 9, № 4. – С. 129-131.
33. Яровая А.Г. Роль протеолитических ферментов в контроле различных стадий апоптоза / А.Г. Яровая, Е.А. Нешкова, Е.А. Мартынова и др. // Лаб. медицина. – 2011. – № 11. – С. 39-52.
34. Шостя А.М. Прооксидантно-антиоксидантний гомеостаз в спермії кнурців Миргородської породи у період становлення статевої функції / А.М. Шостя // Науковий вісник ЛНУВМБТ імені С.З. Гжицького. – 2014. – Том 16, № 2(59). – С. 227-234.
35. Лавришин Ю.Ю. Біологічне значення системи антиоксидантного захисту організму тварин / Ю.Ю. Лавришин, І.С. Вархоляк, Т.В. Мартишук // Науковий вісник ЛНУВМБТ імені С.З. Гжицького. – 2016. – Т. 18, № 2(66). – С. 100-111.
36. Данилова А., Запорожченко А. Стан антиоксидантної системи захисту у щурів з експериментальними патологіями при введенні до складу раціону препаратів з пробіотичними мікроорганізмами / А. Данилова, А. Запорожченко // Вісник Львівського університету. Серія біологічна. – 2012. – Випуск 60. – С. 90-97.
37. Чубар О.М. Глутатионова ланка системи антиоксидантного захисту тканин печінки перепелів при хронічному навантаженні нітратом натрію та застосуванні зерна амаранту / О.М. Чубар // Наук. вісник Львів. нац. акад. ветеринар. мед. ім. С.З. Гжицького. – 2006. – Т. 8, № 2(29), ч. 2. – С. 174-179.
38. Кравченко О. Вміст різних форм глутатіону та активність глутатіонредуктази в клітинах слизової оболонки шлунка за умов експериментального гастроанцерогенезу / О. Кравченко, М. Тимошенко, Л. Гайдо // Вісник Київського національного університету імені Т. Шевченка. – 2012. – № 61. – С. 34-37.
39. Макачук В.А., Ушакова Г.О., Кирилова О.О. Системи глутатіону крові щурів та морфологічні зміни підшлункової залози в умовах експериментального гострого та хронічного панкреатиту // Український біохімічний журнал. – 2013. – Т. 85, № 1. – С. 71-78.
40. Тимошенко М. Вміст різних форм глутатіону та активність глутатіонредуктази в клітинах слизової оболонки шлунка за умов експериментального гастроанцерогенезу / М. Тимошенко, Л. Гайда, О. Кравченко, Л. Остапченко // Біологія. – 2012. – № 61. – С. 34-37.
41. Сохор Н.Р., Шкробот С.І., Бударна О.Ю., Мусієнко А.М. Активність різних підтипів супероксиддисмутази у гострому періоді ішемічного інсульту / Н.Р. Сохор, С.І. Шкробот, О.Ю. Бударна, А.М. Мусієнко // Буковинський медичний вісник. – 2014. – Том 18, № 4(72). – С. 147-151.
42. Сохор Н.Р. Активність супероксиддисмутази при різних підтипах ішемічного інсульту у гострому періоді // Здобутки клінічної та експериментальної медицини. – 2014. – № 2. – С. 168-172.
43. Колішецька М.А. Динаміка змін прооксидантної системи та антиоксидантної системи у легенях морських свинок у пізній період формування експериментальної бронхіальної астми // Медицина транспорту України. – 2013. – № 4. – С. 5-9.

44. Горбунова Н.Б., Батай Л.Е., Водчиц А.И., Улащик В.С., Орлович В.А. Изменение активности супероксиддисмутазы и каталазы в крови и иммунокомпетентных органах крыс с системным воспалением под влиянием непрерывного низкоинтенсивного лазерного излучения видимого диапазона спектра // Фотобиология та експериментальна фотомедицина. – 2013. – № 1-2. – С. 64-70.
45. Шамелашвілі К.Л. Супероксиддисмутаза та каталаза крові: активність ферментів в умовах оксидативного стресу / К.Л. Шамелашвілі, І.В. Леус, Т.І. Сергієнко, М.В. Горіла, Н.І. Семенко // Науковий журнал «ScienceRise». – 2015. – № 5(10). – С. 11-15.
46. Салига Н.О. Функціонування антиоксидантної системи щурів за дії L-глутамінової кислоти та цистеїну на фоні експериментального стресу / Н.О. Салига // Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. Серія: біологія. – 2013. – Вип. 17, № 1056. – С. 21-25.
47. Сохор Н.Р. Активність супероксиддисмутази при різних підтипах ішемічного інсульту у гострому періоді // Здобутки клінічної і експериментальної медицини. – 2014. – № 2. – С. 168-172.
48. Мацьопа І.В., Григор'єва Н.П., Мещишин І.Ф. Адаптація антиоксидантної системи нирок щурів до різних світлових режимів за інтоксикації тетрахлорметаном та дії мелатоніну / І.В. Мацьопа, Н.П. Григор'єва, І.Ф. Мещишин // Укр. біохім. ж-л. – 2010. – Т. 82, № 2. – С. 75-84.

**Черная И.В.**

Национальный технический университет  
«Харьковский политехнический институт»

**Дроньк Г.В.**

Буковинская государственная сельскохозяйственная  
опытная станция УААН

**Рогозинский М.С.**

Черновицкий факультет Национального технического университета  
«Харьковский политехнический институт»

## БИОЛОГИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СИСТЕМЫ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ ПРИ ОЦЕНКЕ БЕЗОПАСНОСТИ УПОТРЕБЛЕНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКИ МОДИФИЦИРОВАННЫХ ОРГАНИЗМОВ

**Аннотация**

В статье представлены литературные данные об осуществлении биохимической оценки безопасности применения генетически модифицированных организмов, классификацию и характеристику системы антиоксидантной защиты организма животных. Важную роль при оценке безопасности употребления генетически модифицированных продуктов играет система антиоксидантной защиты. Функциональной основой системы антиоксидантной защиты составляет глутатионовая система, состоящая из глутатиона и ферментов, которые катализируют реакции восстановления и окисления. Антиоксидантную систему условно разделяют на ферментативную и не ферментативную. К ферментативной системы антиоксидантной защиты относятся: каталаза, пероксидаза, супероксиддисмутаза, глутатионпероксидаза, глутатионредуктаза, глутатионтрансферазы и другие ферменты. К не ферментативной системы антиоксидантной защиты относят жирорастворимые (вит. А, Е и К) и водорастворимые витамины (вит. С и РР), глутатион, убихинон, биогенные амины, каротиноиды и стерины. Подробнее рассматривается ферментативная система антиоксидантной защиты. Активность антиоксидантных ферментов очень хорошо регулируется и зависит от возраста животного, физиологического состояния, рН среды, скорости синтеза антиоксидантных ферментов, наличия коферментов, ингибиторов и активаторов, также на активность ферментов могут влиять и другие факторы (радиационное облучение, рост опухоли, воздействие токсических веществ и другие патологические процессы).

**Ключевые слова:** генетически модифицированные организмы, оценка безопасности, система антиоксидантной защиты, антиоксиданты, глутатион, глутатионпероксидаза, глутатионредуктаза, глутатионтрансферазы, каталаза, супероксиддисмутаза.



**Chorna I.V.**

National Technical University «Kharkiv Polytechnic Institute»

**Dronik G.V.**

Bukovyna State Agricultural Experimental Station UAAS

**Rogozinsky M.S.**

Chernivtsi Faculty of the National Technical University

«Kharkiv Polytechnic Institute»

## **BIOLOGICAL VALUES OF ANTIOXIDANT PROTECTION SYSTEM INDICATORS IN ASSESSING THE SAFETY OF THE EXERCISE OF GENETICALLY MODIFIED ORGANISMS**

### **Summary**

The article summarizes the literature data on the implementation of the biochemical assessment the use of genetically modified organisms, the classification and characteristics of the animal's antioxidant protection system. An important role use in assessing of genetically modified products is played by the antioxidant defense system. The basis of the antioxidant defense system is the glutathione system, consisting of glutathione and enzymes that catalyze the recovery and oxidation reactions. The antioxidant system is conventionally divided into enzymatic and non-enzymatic. The enzymatic system of the antioxidant defense system includes: catalase, peroxidase, superoxide dismutase, glutathione peroxidase, glutathione reductase, glutathione transferase and other enzymes. Non-enzymatic link includes fat-soluble (vitamins A, E and K) and water-soluble vitamins (vitamin C and PP), glutathione, ubiquinone, nutrient amines, carotenoids and sterols. The enzymatic link of the antioxidant system is considered in more detail. The activity of antioxidant enzymes is well regulated and depends on the age of the animal, the physiological state, pH of the medium, the rate of synthesis of antioxidant enzymes, the presence of coenzymes, inhibitors and activators, and other factors (radiation exposure, tumor growth, toxicity and other pathological processes).

**Keywords:** genetically modified organisms, safety assessment, antioxidant defense system, antioxidants, glutathione, glutathione peroxidase, glutathione reductase, glutathione transferase, catalase, superoxide dismutase.