

УДК 591.044

В.О. КОВАЛЬ, Б.В. ЯКОВЕНКО

Чернігівський національний педагогічний університет ім. Т.Г. Шевченка
вул. Гетьмана Полуботка, 53, Чернігів 14000, Україна

ПЕРЕТВОРЕННЯ ГЛІЦИНУ В ОРГАНІЗМІ КОРОПА ПРИ ТОКСИЧНОМУ НАВАНТАЖЕННІ ВАЖКИМИ МЕТАЛАМИ

Досліджували перетворення гліцину в організмі коропа лускатого за дії іонів важких металів. Показано, що при токсичному навантаженні в організмі риб після введення $[U-^{14}C]$ -гліцину змінюється вміст кетокислот і зростає активність лактатдегідрогенази та сукцинатдегідрогенази.

Ключові слова: гліцин, важкі метали, кетокислоти, лактатдегідрогеназа, сукцинатдегідрогеназа

Окремі види риб здатні накопичувати в м'язовій тканині певні амінокислоти, які утворюють своєрідне депо азоту для використання його в періоди голодування. Такою амінокислотою у коропа, білого амура і товстолобика є гліцин [7]. Гліцин у різних видів риб бере участь в адаптивних процесах: осморегуляції, підвищує стійкість риб до низьких температур, захищає їх від замерзання [5]. Зміни кількісного складу вільних амінокислот відбуваються при різних видах токсичних впливів: органічних сполук [1], важких металів [2, 3, 6]. В організмі риб існує декілька шляхів використання амінокислот [2, 6, 7]. Проміжними речовинами в даних процесах є α -кетокислоти, які відіграють важливу роль в сполученні ланок обміну речовин загалом. Із амінокислот α -кетокислоти утворюються в результаті окислювального дезамінування і переамінування.

Метою роботи було дослідження перетворення $[U-^{14}C]$ -гліцину в тканинах коропа лускатого при токсичному навантаженні важкими металами.

Матеріали і методи досліджень

Дослідження проводили в лабораторних умовах на дворічках коропа лускатого (*Cyprinus carpio* L.). Риб витримували в умовах стандартного газового і гідрохімічного режимів. Умови інтоксикації моделювали шляхом внесення у водне середовище солей $MnCl_2$, $CuSO_4$, $PbNO_3$, $ZnSO_4$ у концентраціях, що відповідають 2 рибогосподарським ГДК [1]. Період аклімації становив 14 діб. $[U-^{14}C]$ -гліцин вводили в черевну порожнину ін'єкцією в кількості 19,5 кБк на 1г живої маси, витримували 3 години, після чого для дослідження використовували тканини білих м'язів спини, передньої долі печінки і зябра.

Кетокислоти визначали кількісно гідразиновим методом, використовуючи тонкошарову хроматографію на пластинках «Silufol» UV-VIS 254 (Чехія), як описано в роботі І. В. Лисняк [4]. Після висушування їх вносили в середовище, яке містило толуол, і визначали радіоактивність у сцинтиляційному лічильнику ЛКВ (Швеція).

Для дослідження ферментативної активності лактатдегідрогенази і сукцинатдегідрогенази використовували цитоплазматичну і мітохондріальну фракції (відповідно) печінки і білих м'язів. Активність ферментів визначали загальноприйнятими методами [8]. Кількість білків визначали за Лоурі.

Результати досліджень та їх обговорення

Одним із важливих шляхів використання гліцину в організмі риб є участь у синтезі вуглеводів. Метаболічний шлях цього перетворення, описаний в літературі [7], свідчить про те, що гліцин через ряд реакцій (утворення гліюксилату, тартронового напівальдегіду та гліцерату) перетворюється у 3-фосфогліцерат – субстрат гліколізу і глюконеогенезу. Тому одним із завдань нашого дослідження було визначення інтенсивності утворення гліюксилової кислоти в різних тканинах коропа, утвореної з $[U-^{14}C]$ -гліцину. Аналіз результатів показав, що в усіх досліджуваних тканинах знайдена гліюксилова кислота, але в різних кількостях (табл.). Найбільший її вміст є у печінці, дещо менше – в зябрах, найменше – в білих м'язах.

Вплив важких металів на утворення гліоксилової і α -кетоглутарової кислот в організмі коропа після введення $[U^{14}C]$ гліцину у коропа (тис. імп./хв., $M \pm m$, $n=5$)

Умови досліджу	Тканини					
	Печінка	%	М'язи	%	Зябра	%
Гліоксилова кислота						
Контроль	2,02±0,013	100	0,75±0,003	100	0,84±0,006	100
Свинець	1,62±0,008*	80,2	0,24±0,008*	32,0	0,37±0,012*	44,0
Марганець	1,85±0,027	91,6	0,21±0,006*	28,0	0,24±0,070*	28,6
Цинк	0,64±0,013*	31,6	0,38±0,009*	50,7	0,29±0,040*	34,5
Мідь	1,10±0,051*	54,4	0,22±0,005*	29,3	0,125±0,001*	14,9
α -кетоглутарова кислота						
Контроль	0,83±0,0041	100	1,27±0,011	100	1,23±0,053	100
Свинець	0,41±0,012*	49,4	0,26±0,030*	20,4	1,18±0,015	95,9
Марганець	0,189±0,015*	22,7	0,21±0,010*	16,5	1,64±0,030*	133
Цинк	0,177±0,093*	21,3	0,197±0,001*	15,5	1,15±0,017	93,5
Мідь	0,207±0,016*	24,9	0,225±0,005*	17,7	0,285±0,002*	23,2

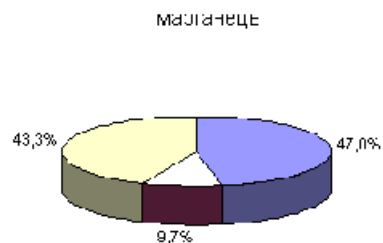
Примітка. * – відмінності показників дослідних і контрольних груп вірогідні, $p < 0,05$

В результаті дії на організм коропа водного середовища, яке містило іони важких металів, змінюється вміст гліоксилової кислоти, утвореної після введення $[U^{14}C]$ -гліцину. Так, іони свинцю пригнічують появу гліоксилової кислоти в печінці на 20%, в м'язах на 68%, в зябрах на 56%. Подібна картина спостерігається при дії марганцю, цинку і міді. Як відомо, марганець вважається біогенним металом і входить до складу багатьох ферментів, тому його іони в печінці змінюють утворення гліоксилової кислоти всього на 8% (1,85±0,027 тис. імп./хв. проти 2,02±0,013 тис. імп./хв.). Цинк, на відміну від марганцю, в печінці коропа найбільше знижує вміст гліоксилової кислоти (0,64±0,027 тис. імп./хв. проти 2,02±0,013 тис. імп./хв.). Це пояснюється тим, що високі концентрації цинку пригнічують активність ряду ферментів, і в печінці риби зростає вміст як суми вільних амінокислот, так і замісних та незамінних їх представників [2]. У м'язах іони цинку мають найменший вплив, що підтверджується літературними даними [6].

Іони міді виявляють найбільший вплив на утворення гліоксилової кислоти після введення $[U^{14}C]$ – гліцину в зябрах та м'язовій тканині. Так, в зябрах цей токсикант знижує включення попередника на 85%.

Про функціональний стан циклу трикарбонових кислот судили на підставі визначення радіоактивності α -кетоглутарату в печінці, зябрах і м'язах коропа (табл. 1). Всі метали, використані в дослідженні, в печінці і білих м'язах зменшують вміст α -кетоглутарату. В зябрах риби спостерігається інша картина: іони свинцю і цинку в концентрації 2 ГДК виявляють лише тенденцію до зменшення α -кетоглутарової кислоти на 4% і 7% відповідно; марганець збільшує вміст кетокислоти на 33%, а іони міді уповільнюють утворення α -кетоглутарової кислоти з $[U^{14}C]$ -гліцину на 77%.

В білих м'язах коропа всі використані іони важких металів пригнічують утворення досліджуваної речовини: свинець – на 80%; марганець – на 84%; цинк – на 85%; мідь – на 82%.



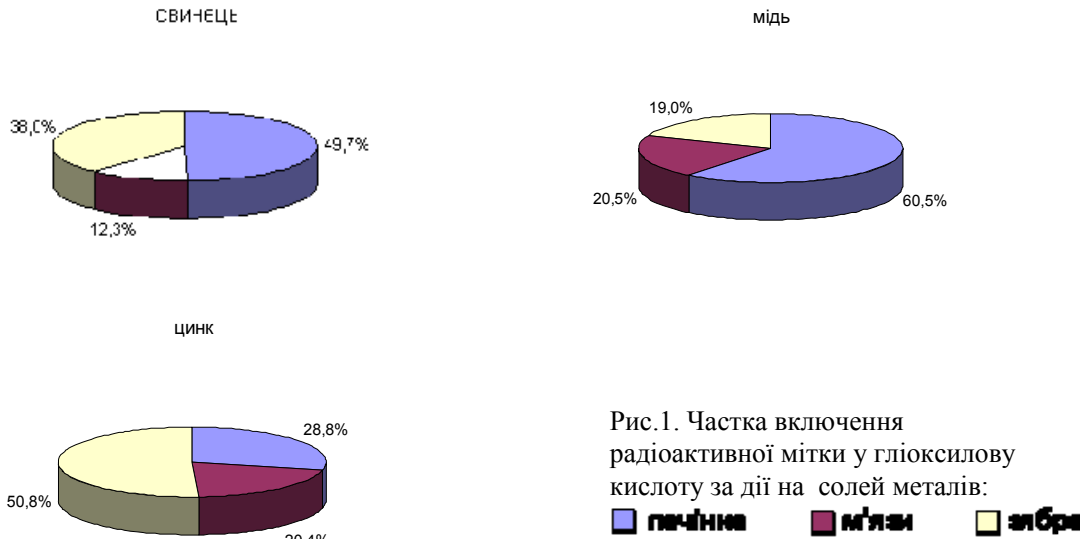


Рис. 1. Частка включення радіоактивної мітки у гліоксильову кислоту за дії на солей металів:
■ печінка ■ м'язи ■ зябра

Якщо кількість $[U-^{14}C]$ -гліцину, який потрапив в організм коропа, прийняти за 100%, то розподіл його в тканина контрольних риб щодо вмісту гліоксильової і α -кетоглутарової кислот склав: печінка – 41%, м'язи – 29%, зябра – 30% (рис. 1). Дія іонів важких металів призводить до змін вмісту цих кислот в тканинах. Так марганець збільшує вміст досліджуваних речовин у зябрах до 43%. В печінці відбувається також їх зростання до 47%. На відміну від вищезазначених тканин м'язова тканина реагує зменшенням вмісту гліоксильової та α -кетоглутарової кислоти до 9,7%. Така закономірність спостерігається при дії всіх використаних в дослідженні металів. Найбільші зміни відбуваються під впливом цинку у зябровому апараті риб (51% проти контролю). Якщо дія марганцю, свинцю і міді збільшує частку радіоактивності в кетокислотах в печінці на 6%, 8% і 18,5% відповідно, то іони цинку пригнічують утворення гліоксильової та α -кетоглутарової кислот в ній на 12%. Це можна пояснити тим, що органом накопичення цинку у риб на відміну від інших металів є м'язи [2].

Для кращого розуміння впливу токсикантів на організм риб вивчали активність ферментів: лактатдегідрогенази (ЛДГ), яка каталізує відновлення пірувату до лактату на останній стадії гліколізу, і сукцинатдегідрогенази (СДГ) – основного регуляторного ферменту циклу Кребса. Для дослідження активності ферментів використовували гомогенати печінки і м'язів, так як печінка є основним органом знешкодження токсичних речовин, а м'язова система відчуває найменший вплив токсикантів.

За впливу іонів важких металів активність лактатдегідрогенази збільшувалася як у білих м'язах, так і в печінці (рис. 2).

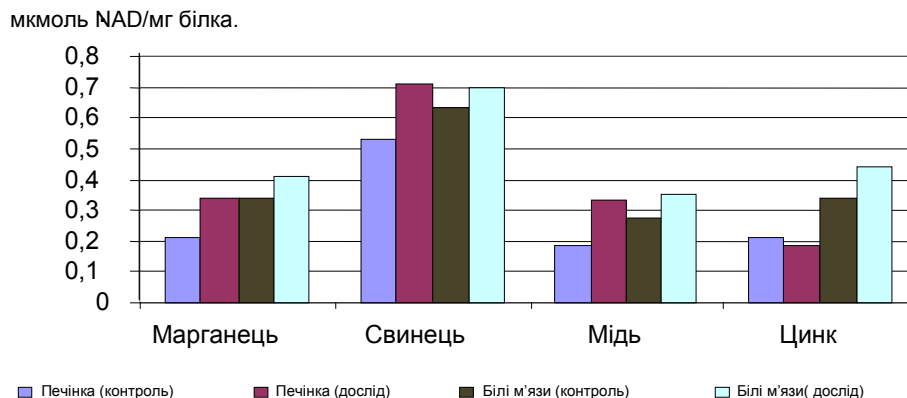


Рис. 2. Активність лактатдегідрогенази в тканинах коропа за дії іонів важких металів

У печінці іони марганцю викликали зростання активності ЛДГ на 162%, іони свинцю – на 133%; міді – на 183%. Лише іони цинку пригнічують ферментативну активність у цій тканині. У м'язах за дії іонів свинцю активність ЛДГ зростає на 111%. На відміну від активності ферменту у печінці, іони цинку у м'язовій тканині викликають зростання дослідженого ферменту на 129%. Отже, дія різних металів викликає зростання активності лактатдегідрогенази, що свідчить про активацію гліколізу.

Дослідженням дії металів сукцинатдегідрогеназу встановлено, що важкі метали в печінці коропа збільшують активність ферменту (рис. 3). Максимальних змін в печінці коропа завдають іонів свинцю – активують СДГ в 1,44 рази. Іони міді збільшують активність досліджуваного ферменту на 140%, а марганцю – на 120%.

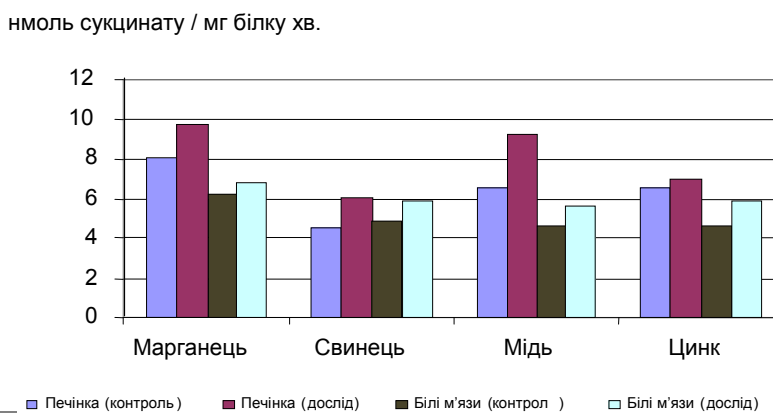


Рис. 3. Активність сукцинатдегідрогенази в тканинах коропа за дії іонів важких металів

У білих м'язах коропа активність сукцинатдегідрогенази також збільшується, однак зміни СДГ в цій тканині менші. Лише іони цинку активують досліджуваний фермент у м'язах більше, ніж у печінці, на 128%.

Висновки

Отже, усі досліджені іони металів впливають на перетворення $[U^{14}C]$ – гліцину у гліоксилову і кетоглутарову кислоти, зменшували загальну частку кетокислот у м'язах та збільшували її як у печінці, так і у зябрах. Крім того солі металів активують ферментну активність основних шляхів енергозабезпечення.

1. *Кривошиша В. В.* Вплив стрес-факторів водного середовища на адаптивні функції нервової системи у риб / Кривошиша В. В. : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. біол. наук. Спец. "Гідробіологія". – Київ, 2001. – 18 с.
2. *Курант В. З.* Роль білкового обміну в адаптації риб до дії іонів важких металів / Курант В. З. : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня докт. біол. наук. Спец. "Іхтіологія". – Київ, 2003. – 43 с.
3. *Курант В. З.* Роль вільних амінокислот в адаптаційно-компенсаторних процесах в організмі риб за дії іонів важких металів / В. З. Курант // Наук. зап. Терноп. нац. пед. ун-ту. Сер. Біологія. – 2001. – № 3 (14). – С. 205–209.
4. *Лисняк И. А.* Определение α -кетокислот при разделении в тонком слое силикагеля / И. А. Лисняк // Укр. биохим. журн. – 1981. – Т. 53, № 1. – С. 111–113.
5. *Сидоров В. С.* Аминокислоты рыб / В. С. Сидоров / Биохимия молодежи пресноводных рыб. – Петрозаводск, 1985. – С. 103–117.
6. *Синюк Ю.В.* Обмін амінокислот і фракційний склад білків у організмі коропа за дії іонів марганцю, цинку, міді та свинцю / Синюк Ю. В. : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. біол. наук. Спец. "Біохімія". – Львів, 2004. – 19 с.
7. *Яковенко Б. В.* Метаболізм гліцину в організмі коропа лускатого / Яковенко Б. В. : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня докт. біол. наук. Спец. "Біохімія". – Львів, 1993. – 37 с.
8. *Biochemica information* .– W.-Germany : BoehringerMannheim GmbH, Biochemica, 1975. – Bd.1. – P. 99–100.

В.А. Коваль, Б.В. Яковенко

Черниговский национальный педагогический университет им. Т.Г. Шевченко, Украина

ПРЕВРАЩЕНИЕ ГЛИЦИНА В ОРГАНИЗМЕ КАРПА ПРИ ТОКСИЧЕСКОЙ НАГРУЗКЕ ТЯЖЕЛЫМИ МЕТАЛЛАМИ

Исследовали превращение глицина в организме карпа чешуйчатого при действии ионов тяжелых металлов. Показано, что при токсической нагрузке в организме рыб после введения $[U^{14}C]$ глицина изменяется содержание кетокислот и увеличивается активность лактатдегидрогеназы и сукцинатдегидрогеназы.

Ключевые слова: карп, глицин, тяжелые металлы, кетокислоты, лактатдегидрогеназа, сукцинатдегидрогеназа

V.A. Koval, B.V. Yakovenko

T.G. Shevchenko Chernihiv National Pedagogical University, Ukraine

TRANSFORMATION GLYCINE IN CARP ORGANISM FOR THE TOXIC LOAD HEAVY METALS

Investigated glycine conversion in the organism of carp flake by heavy metal ions. Shown that toxic load and changing content ketoacids in the organism of carp after the introduction of $[U^{14}C]$ -glycine, increases the activity of lactate dehydrogenase and succinate dehydrogenase.

Keywords: carp, glycine, heavy metals, ketoacid, lactate dehydrogenase, succinate dehydrogenase

Рекомендує до друку

Надійшла 20.02.2011

В.З. Курант