

ВМІСТ ПРОДУКТІВ ПЕРОКСИДНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ ТА АКТИВНІСТЬ АНТИОКСИДАНТНИХ ФЕРМЕНТІВ У ТКАНИНАХ КОРОПА ЗА РІЗНОГО ВМІСТУ СУЛЬФАТУ У ВОДІ

В статті подані результати досліджень про вплив підвищених концентрацій іонів сульфату у воді на вміст продуктів пероксидного окислення ліпідів і поліпептидів білків середньої маси та активність антиоксидантних ферментів в різних тканинах та органах коропа дворічного віку. Встановлена обернена залежність між рівнем сульфату у воді та вмістом продуктів пероксидного окислення ліпідів, а також підвищення активності глутатіонпероксидази, зниження активності супероксиддисмутази і каталази в тканинах та органах коропів дворічного віку.

Ключові слова: короп, сульфат, антиоксидантні ферменти, пероксидне окиснення ліпідів

У низці випадків вода, у якій вирощуються риби, характеризується підвищеним вмістом сполук неорганічної сірки. Це зумовлено окисненням сірки у місцях природних покладів і надходженням у вигляді іонів у водойми [3]. Відновлена форма сірки – сірководень проявляє на риб токсичний вплив. Цим зумовлена науково-практична актуальність дослідження впливу різного рівня аніонів сульфату на обмін речовин і фізіологічні функції в організмі ставкових риб.

Матеріал і методи досліджень

Дослідження проведено на лускатих коропах (*Cyprinus carpio* L.) дворічного віку масою 250–300 грамів. Рибу виловлювали з ставів рибного господарства Тернопільського рибкомбінату (урочище Залісці) траловим методом, перевозили в лабораторію і утримували в стаціонарних акваріумах об'ємом 200 л з постійною аерацією води. Вміст O_2 становив $7,5 \pm 0,5$ мг/дм³; CO_2 – $2,5 \pm 0,3$ мг/дм³; рН $7,8 \pm 0,1$. У кожному акваріумі утримувалось по 5 риб протягом 14-ти діб, що вважається достатнім для формування адаптивних захисних механізмів в організмі риб при дії токсикантів [2, 13]. Риб під час досліду не годували.

Досліджували вплив різної кількості іонів сульфату у воді – $0,1$ мг/дм³; $0,5$; та $1,0$ мг/дм³ відповідно, які створювали розчиненням натрій сульфату «х.ч». За контроль слугували риби, що утримувались у воді без додавання натрій сульфату.

Визначали вміст продуктів пероксидного окислення ліпідів (ПОЛ) (дієнові кон'югати [12], гідропероксиди ліпідів [1], ТБК-продукти [4]), поліпептиди середньої маси (ПСМ) [10], а також активність антиоксидантних ферментів (каталази [5], супероксиддисмутази [14], глутатіонпероксидази [9]) у зябрах, гепатопанкреасі і скелетних м'язах риб. Отримані результати оброблені методами варіаційної статистики.

Результати досліджень та їх обговорення

Механізми впливу аніонів сульфату на активність антиоксидантної системи в організмі коропа включають їх поглинання зябрами із води і транспорт кров'ю у гепатопанкреас та інші тканини, включаючи вплив неорганічних форм сірки на катаболізм сірковмісних сполук (цистин, цистеїн), які впливають на синтез антиоксидантних ферментів і їх простетичні групи [7, 8].

Проведені нами дослідження показали, що при утриманні дворічок коропів протягом 14-ти діб в акваріумі з водою, концентрація іонів сульфату в якій становила відповідно $0,1$ мг/дм³; $0,5$ і $1,0$ мг/дм³ в усіх досліджуваних тканинах (зябра, гепатопанкреас, скелетні м'язи) виявлено вірогідно менший вміст продуктів ПОЛ (гідропероксиди ліпідів, ТБК-продуктів) і ПСМ порівняно з контролем (табл. 1).

Вміст продуктів ПОЛ у досліджуваних тканинах та органах коропів дворічного віку за різного вмісту сульфат-аніону у воді ($M \pm m$, $n=5$)

Групи риб, концентрація SO_4^{2-} у воді		Продукти ПОЛ			
		Дієнові кон'югати, нмоль/г тканини	Гідропероксиди ліпідів, Е 480/г тканини	ТБК-продукти, нмоль/г тканини	ПСМ, ум.од./мг білка
Зябра					
1	контрольна	4,77±0,15	5,83±0,32	15,79±0,60	97,6±3,6
2	0,1 мг/дм ³ SO_4^{2-}	4,57±0,11	4,98±0,26	14,48±0,59	89,4±2,2
3	0,5 мг/дм ³ SO_4^{2-}	3,91±0,11**	3,81±0,11*	11,84±0,52***	87,8±1,4*
4	1,0 мг/дм ³ SO_4^{2-}	3,75±0,23**	3,79±0,15*	10,52±0,38***	83,6±2,5*
Гепатопанкреас					
1	контрольна	8,36±0,67	3,85±0,21	12,88±0,47	103,2±3,0
2	0,1 мг/дм ³ SO_4^{2-}	6,69±0,52	3,32±0,24	11,92±0,51	99,6±3,3
3	0,5 мг/дм ³ SO_4^{2-}	6,24±0,02**	3,22±0,01**	11,34±0,30*	95,4±2,4
4	1,0 мг/дм ³ SO_4^{2-}	5,98±0,14**	2,75±0,03***	9,67±0,48**	90,2±3,2**
Скелетні м'язи					
1	контрольна	2,9±0,15	7,26±0,26	11,09±0,39	207±5,8
2	0,1 мг/дм ³ SO_4^{2-}	2,55±0,13	6,14±0,41*	9,66±0,41**	193,2±6,3
3	0,5 мг/дм ³ SO_4^{2-}	2,52±0,15	5,78±0,30*	7,33±0,45***	189,4±4,2*
4	1,0 мг/дм ³ SO_4^{2-}	2,26±0,13	3,69±0,24***	6,55±0,41***	164,6±5,8**

Примітка. Тут і в наступній таблиці вірогідні різниці, порівняно з контролем:

*- $p < 0,05$; **- $p < 0,01$; ***- $p < 0,001$

Ці різниці можна пояснити більш інтенсивним знешкодженням вільних радикалів, які утворюються в організмі риб в результаті аеробного метаболізму при підвищенні поглинання аніонів сульфату з води, що призводить, з одного боку, до зменшення утворення продуктів ПОЛ, а з іншого – до зменшення утворення ПСМ. Це свідчить про інгібуючий вплив сульфату на ПОЛ в організмі дворічок коропів. Зокрема, встановлено, що додавання натрій сульфату до раціону тварин проявляє заощаджуючий вплив на катаболізм сірковмісних амінокислот, в результаті якого утворюється сульфат, котрий використовується в процесах детоксикації (утворення парних сполук з фенолом і іншими циклічними сполуками), утворенні сульфатних мукополісахаридів і деяких інших сполук [11]. Ці перетворення аніонів сірки в організмі проходять і після видалення товстого кишечника, який заселений мікроорганізмами, котрі здатні використовувати неорганічну сірку в синтезі сірковмісних амінокислот, що свідчить про важливу роль у процесах травлення мікроорганізмів кишечника у риб [6]. Цим можна пояснити виявлене нами підвищення активності глутатіонпероксидази – ключового ферменту антиоксидантної системи в організмі риб, коферментом якого є глутатіон – трипептид, що містить цистеїн. Відновлений глутатіон є донором водню, який глутатіонпероксидаза використовує у реакції розщеплення H_2O_2 [15, 16].

Проведені нами дослідження показали (табл. 2), що при збільшенні концентрації сульфату у воді до 1 мг/дм³ активність глутатіонпероксидази в досліджуваних тканинах і органах дворічок коропів збільшується в 1,5 рази. Ці результати певною мірою дозволяють пояснити виявлений нами найменший вміст продуктів ПОЛ (гідропероксиди ліпідів, ТБК-продукти) в печінці і скелетних м'язах дворічок коропів, які утримувалися у воді з вмістом сульфату 1,0 мг/дм³. Загалом, як показали проведені нами дослідження, має місце обернена залежність між вмістом сульфату у воді і активністю глутатіонпероксидази, у тканинах – пряма залежність.

Активність антиоксидантних ферментів в тканинах та органах дворічок коропів за різного вмісту сульфат-аніону у воді ($M \pm m$, $n=5$)

БІОХІМІЯ

Ферменти	Групи риб, концентрація SO_4^{2-} у воді			
	1 контрольна	2 $0,1 \text{ мг/дм}^3 \text{ SO}_4^{2-}$	3 $0,5 \text{ мг/дм}^3 \text{ SO}_4^{2-}$	4 $1 \text{ мг/дм}^3 \text{ SO}_4^{2-}$
Зябра				
Каталаза, мкмоль H_2O_2 /мг білка/хв	0,29±0,02	0,23±0,02*	0,11±0,01***	0,11±0,01***
Супероксиддисмутаза, у.о./мг білка	6,83±0,20	6,52±0,30*	6,15±0,60*	5,84±0,50*
Глутатіонпероксидаза, мкмоль GSSG/100мг білка/хв	11,15±0,52	13,91±0,61**	15,67±0,72**	16,68±0,75***
Гепатопанкреас				
Каталаза, мкмоль H_2O_2 /мг білка/хв	0,37±0,01	0,28±0,03*	0,17±0,01***	0,09±0,01***
Супероксиддисмутаза, у.о./мг білка	6,89±0,51	5,76±0,20*	4,79±0,27*	4,55±0,50**
Глутатіонпероксидаза, мкмоль GSSG/100мг білка/хв	7,89±0,03	8,67±0,72*	9,86±0,49*	10,96±0,45**
Скелетні м'язи				
Каталаза, мкмоль H_2O_2 /мг білка/хв	0,37±0,02	0,23±0,02**	0,12±0,01***	0,11±0,01***
Супероксиддисмутаза, у.о./мг білка	4,08±0,50	4,07±0,25*	3,26±0,25*	3,35±0,17*
Глутатіонпероксидаза, мкмоль GSSG/100мг білка/хв	9,87±0,62	10,74±0,61*	12,68±0,77*	14,75±0,85***

З інших результатів заслуговує на увагу виявлене нами вірогідне зниження активності іншого антиоксидантного ферменту, який розщеплює в клітині H_2O_2 , – каталази. Її активність в зябрах, гепатопанкреасі і скелетних м'язах дворічок коропів знижується при підвищенні рівня сульфату у воді. При концентрації сульфату у воді $1,0 \text{ мг/дм}^3$ активність каталази у вказаних органах і тканинах дворічок коропів була приблизно в три рази нижчою, ніж у риб контрольної групи. Активність каталази, як показали наші дослідження, в тканинах і органах дворічок коропів дослідних груп більш ніж на порядок нижча, ніж активність глутатіонпероксидази. Разом з тим, одержані нами результати свідчать про зменшення активності супероксиддисмутази в зябрах, гепатопанкреасі і скелетних м'язах дворічок коропів при підвищенні рівня сульфату у воді. Це зниження виражене значно менше, ніж зниження активності каталази, проте воно вірогідне і залежить від рівня сульфату у воді. Припускаємо, що причиною такого ефекту може бути зв'язування аніонами сірки катіонів деяких мікроелементів, зокрема цинку і купруму, які входять до складу супероксиддисмутази. Пояснення причинно-наслідкового значення цього зниження вимагає подальших досліджень.

Загалом одержані результати досліджень свідчать про інгібуючий вплив підвищених концентрацій сульфату у воді на ПОЛ в тканинах і органах коропів, про зв'язок між ним і підвищенням активності глутатіонової ланки ферментної системи антиоксидантного захисту. Ступінь цього впливу значною мірою залежить від рівня сульфату у воді.

Висновки

1. Утримання дворічок коропів у воді з підвищеним вмістом аніонів сульфату призводить до вірогідного зменшення вмісту продуктів ПОЛ і ПСМ у зябрах, гепатопанкреасі і скелетних м'язах коропів дослідних груп порівняно з їх вмістом в цих органах і тканинах дворічок коропів контрольної групи.
2. Активність глутатіонпероксидази у вказаних органах і тканинах дворічок коропів, які утримувалися у воді з підвищеним вмістом аніонів сульфату, була вірогідно вищою, а

активність СОД і КТ – нижчою, ніж в органах і тканинах дворічок коропів контрольної групи.

1. А.с. № 1084681 СССР, МКИ G № 33/48. Способ определения гидроперекисей липидов в биологических тканях / В. В. Мирончик. (СССР). – №3468369/28-13; заявл.08.07.82 ;опубл. 07.04.84, Бюл. № 13.
2. Грубінко В. В. Системна оцінка метаболічних адаптацій у гідробіонтів / В. В. Грубінко // Наук. зап. Терноп. пед ун-ту ім. В. Гнатюка. Сер. Біологія. – 2001. – № 15. – С. 36–39.
3. Гудзь С. Динаміка змін титру сульфатвідновлювальних бактерій та вмісту сульфатів і сірководню у водах кар'єру Яворівського сіркового родовища в процесі його затоплення / С. Гудзь // Вісник Львів. ун-ту. Сер. Біологія. – 2004. – Вип. 37. – С. 185–189.
4. Корабейникова С. Н. Модификация определения ПОЛ в реакции с ТБК / С. Н. Корабейникова // Лаб. дело. – 1989. – № 7. – С. 8–9.
5. Королюк М. А. Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк [и др.] // Лаб. дело. – 1988. – №1. – С. 16–19.
6. Кузьмина В. В. Бактерии желудочно-кишечного тракта и их роль в процессах пищеварения у рыб / В. В. Кузьмина, Е. Г. Скворцов // Успехи совр. биологии. – 2002. – Т. 122, № 6. – С. 569–579.
7. Курант В. З. Влияние цистеина и сульфата натрия на содержание белков и нуклеиновых кислот в тканях карпа / В. З. Курант. – Киев, 1990. – 7 с. – Деп. в ВИНТИИ 04. 06. 90, № 4881.
8. Мерва А. В. Вплив сульфату натрію при додаванні його до раціону коропа на синтез білків у печінці і скелетних м'язах *in vitro* / А. В. Мерва, В. Г. Янович // Науково-технічний бюлетень інституту біології тварин і ДНДКІ ветпрепаратів та кормових добавок. – Львів, 2006. – Вип. 7, № 3-4. – С. 62–64.
9. Моин В. М. Простой и специфический метод определения активности глутатионпероксидазы в эритроцитах / В. М. Моин // Лаб. дело. – 1986. – № 12. – С. 724–727.
10. Николайчик В. В. Способ определения средних молекул / В. В. Николайчик [и др.] // Лаб. дело. – 1991. – № 10. – С. 13–18.
11. Ратич І. Б. Роль сірки в організмі птиці / І. Б. Ратич. – Львів, 1999. – 172 с.
12. Стальная И. Д. Метод определения диеновой конъюгации ненасыщенных высших жирных кислот / И. Д. Стальная // Современные методы в биохимии / под. ред. В. Н. Ореховича. – М. : Медицина, 1977. – С. 63–64.
13. Хлебович В. В. Акклимация животных организмов / В. В. Хлебович. – Л. : Наука, 1981. – 135 с.
14. Чевари С. Определение антиоксидантных параметров крови и их диагностическое значение в пожилом возрасте / С. Чевари, Т. Андлян, Я. Штенгер // Лаб. дело. – 1991. – № 10. – С. 9–13.
15. Videla L. Chemically induced antioxidant-sensitive respiration. Relation to glutathione content and peroxidation in the perfused rat liver / L. Videla // FEBS Lett. – 1984. – № 1. – P. 119–127.
16. Wefers H. Oxidative of glutathione by the superoxide radical to the disulfide and the sulfonate yielding singlet oxygen / H. Wefers, H. Sies // Eur. J. Biochem. – 1983. – Vol. 137, № 1-2. – P. 29–36.

А.В. Станиславчук

Тернопольский национальный педагогический университет им. Владимира Гнатюка, Украина

СОДЕРЖАНИЕ ПРОДУКТОВ ПЕРОКСИДНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И АКТИВНОСТЬ АНТИОКСИДАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ В ТКАНЯХ КАРПА ПРИ РАЗЛИЧНОМ СОДЕРЖАНИИ СУЛЬФАТА В ВОДЕ

Изучена зависимость между содержанием ионов сульфата в воде и активностью ферментов антиоксидантной системы. Установлено, что повышение уровня сульфата в воде приводит к уменьшению содержания продуктов ПОЛ и пептидов средней массы, повышению активности глутатионпероксидазы и понижению активности каталазы и супероксиддисмутазы в тканях и органах карпа двухлетнего возраста.

Ключевые слова: карп, сульфат, антиоксидантные ферменты, продукты пероксидного окисления липидов

A.V. Stanislavchuk

Volodymir Hnatyuk Ternopil National Pedagogical University, Ukraine

THE LEVEL OF LIPID PEROXIDATION PRODUCTS IN ACTIVITY OF ANTIOXIDANT ENZYMES IN CARP TISSUES UNDER THE DIFFERENT LEVEL OF SULPHATE IN WATER

БІОХІМІЯ

Work is devoted research of influence of different concentrations of sulphur in water environment on activiti of the antioxidant system in different fabrics and organs of carps of two-year-old age. The increase of the level of sulphur in water leads to reduction of the content of products of lipid peroxidation and medium albumen molecules, and the increase of activity of glutathione peroxidase and the decrease of activity of catalase and superoxide dismutase in organs and tissues of carps of twoyearold age.

Keywords: carp, sulphate, lipid peroxidation, glutathione peroxidase, catalase, superoxide dismutase

Рекомендує до друку
В.З. Курант

Надійшла 23.02.2011