

# ФІЗІОЛОГІЯ ТА БІОХІМІЯ

Ribogospod. nauka Ukr., 2016; 3(37): 99-110  
DOI: <http://dx.doi.org/10.15407/fsu2016.03.099>  
УДК 639.21/312.017

## ЕФЕКТИВНІСТЬ ЗАСТОСУВАННЯ РОЗТОРОПШІ ПЛЯМИСТОЇ (*SILYBUM MARIANUM*) ДЛЯ КОРЕКТУВАННЯ ІНТЕНСИВНОСТІ ОКИСНИХ ПРОЦЕСІВ У КОРОПА ЗА УМОВ НАВАНТАЖЕННЯ СВИНЦЕМ

Ю. А. Опалинський, [opalynskyy@gmail.com](mailto:opalynskyy@gmail.com), Інститут рибного господарства НААН, м. Київ

О. І. Віщур, [vishchur\\_oleg@ukr.net](mailto:vishchur_oleg@ukr.net), Інститут біології тварин НААН, м. Львів

**Мета.** З'ясування впливу розторопші плямистої на інтенсивність окиснювальних процесів у коропа за умов експериментального токсичного ураження свинцем.

**Методика.** Дослідні роботи проведено в лабораторних умовах. Об'єктом дослідження слугували дволіткі коропів, з яких сформовано 3 групи, по 12–15 риб у кожній. Коропи 1-ї групи (інтактні), яким через зонд вводили 3%-ий крохмальний клейстер, правили за контроль. Коропи 2-ї групи впродовж місяця утримувалися у воді, в яку вносили солі свинцю ( $PbNO_3$ ) у кількості, що в перерахунку на іон металу відповідає 10 ГДК. Коропи 3-ї групи впродовж місяця знаходились у такому ж середовищі розчинених солей свинцю, і їм через зонд вводили 3%-ий крохмальний клейстер з додаванням меленого насіння розторопші плямистої у кількості 80 мг/кг маси тіла.

Досліджено вплив розторопші плямистої (*Silybum marianum*) на процеси перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) та активність ензимів системи антиоксидантного захисту (САЗ) в організмі коропа за умов навантаження свинцем. ТБК-активні продукти оцінювали за вмістом продуктів, які реагують з 2-тіобарбітуровою кислотою (малоновий діальдегід). Рівень окиснювального пошкодження ліпідів оцінювали також за вмістом накопичених гідроперекисів ліпідів. Активність супероксиддисмутази (СОД) визначали в реакції окиснення кварцетину. Активність каталази оцінювали в реакції з молібдатом амонію. Цифрові дані опрацьовували біометричним методом варіаційного непараметричного аналізу за допомогою програми Microsoft Excel пакета табличного редактора Microsoft Office Professional XP та програми Statistica 6.0. Різниці між величинами вважали статистично вірогідними:  $p < 0,05$ ; 0,01 і 0,001.

**Результати.** Токсичне навантаження важкими металами у поєднанні із фізіологічним стресом є найпотужнішими чинниками, що стимулюють перекисне окиснення й оксидативні порушення в організмі. Цей факт ми довели у дослідженні з використанням солей свинцю, вплив яких що підвищував інтенсивність накопичення проміжних і кінцевих продуктів ПОЛ на фоні зниження активності антиоксидантних ензимів. Зокрема, у печінці, нирках та м'язах вміст ТБК-активних продуктів вірогідно зростав відповідно на 26, 24 і 45%, а гідроперекисів ліпідів — на 72, 43 та 124%. При цьому активність СОД у печінці та нирках коропа вірогідно знижувалась відповідно на 21 і 55%. Водночас активність каталази знизилась у печінці риб до  $1,75 \pm 0,16$  мкмоль/хв·мг білка ( $p < 0,05$ ) та у нирках — до  $0,41 \pm 0,04$  мкмоль/хв·мг білка ( $p < 0,05$ ).

Констатовано, що введення розторопші коропам дослідної групи сприяє вірогідному зростанню активності СОД і каталази у досліджуваних тканинах риб, що знижує інтенсивність ПОЛ в їх організмі.

© Ю. А. Опалинський, О. І. Віщур, 2016



**Наукова новизна.** У роботі вперше показано ефективність застосування розторопші плямистої для коректування інтенсивності окисних процесів в організмі коропа за умов експериментального ураження солями свинцю.

**Практична значимість.** Використання в умовах індустріального вирощування коропа розторопші плямистої — ефективного, безпечного та рентабельного способу захисту організму від токсичного впливу техногенних забруднювачів — дозволить нівелювати негативний вплив даних чинників шляхом активації системи антиоксидантного захисту їх організму.

**Ключові слова:** короп, свинець, розторопша, антиоксидантний статус, окисна модифікація ліпідів.

## ПОСТАНОВКА ПРОБЛЕМИ ТА АНАЛІЗ ОСТАННІХ ДОСЛІДЖЕНЬ І ПУБЛІКАЦІЙ

Аквакультура є одним із секторів аграрної сфери, що потребує сучасних досліджень та впровадження безпечних і ефективних технологій вирощування рибної продукції. Збільшення виробництва риби методами, які базуються на екстенсивному використанні природних ресурсів, має певні природні обмеження. У зв'язку з цим, актуальним є використання інтенсивних технологій вирощування риби в умовах індустріальних господарств [1].

Однією із основних причин, що лімітує інтенсивність ведення рибництва, є проблема техногенного забруднення середовища важкими металами, зокрема свинцем. Дослідженнями встановлено, що для одnorічок коропа коефіцієнт біотрансформації (вміст металу в організмі в залежності від його сумарної кількості у кормах і воді) є високим і становить, %: кадмію — 52,4, купруму — 118, п्लомбуму — 119, цинку — 87,6 [2].

Існують закономірності накопичення та розподілу важких металів в органах і тканинах риб. Кількість металів, що надходить з кормами та водою і не затримується в організмі, становить, %: кадмію — 47,6, купруму — 18, п्लомбуму — 19, цинку — 12,4. Причому спостерігається наступна тенденція: купрум і п्लомбум майже не виводяться з організму риб, а навпаки, накопичуються. При цьому елементи, що накопичилися в органах і тканинах риб, частково виділяються назовні з екскрементами і залишаються у донних відкладах, що призводить до порушення існуючого кругообігу хімічних елементів та речовин водного середовища. Основним джерелом надходження важких металів в організм риби є вода, на що припадає 97,0% для кадмію, 99,2% — для купруму, 98,3% — для п्लомбуму і 99,5% — для цинку [2].

Дослідниками доведено, що у коропових риб концентрація п्लомбуму в м'язах, феруму в зябрах, меркурій у м'язах та нирках добре корелює з їх вмістом у воді. Найбільший вміст п्लомбуму виявлено в кістках (1,1–2,1%), печінці (0,4–0,6%), нирках (0,1–0,3%) [3]. Для п्लомбуму було встановлено такий ряд зниження концентрації в тканинах риб: кишковий тракт>кістки і луска>печінка і зябра>м'язи>жир. При цьому не виявлено кореляції між вмістом металу та масою і віком риб [4].

Відомо, що важкі метали, як і низка інших забруднювачів водного середовища, можуть призводити до оксидативного пошкодження клітин гідробіонтів внаслідок стимулювання утворення вільних радикалів і процесів ПОЛ [5–8]. Як наслідок, порушується рівновага між вмістом про- і



антиоксидантів, що призводить до пошкодження життєвих функцій клітин. Очевидно, пошук ефективних, безпечних та рентабельних способів захисту організму від токсичного впливу техногенних забруднювачів, одним з яких є свинець, є важливим завданням науки та рибної промисловості.

У цьому контексті уваги заслуговує розторопша плямиста (*Silybum marianum*), що відома своїми потужними детоксикуючими властивостями, використовується у гуманній та ветеринарній медицині та є ефективним гепатопротектором [9]. Насіння розторопші містить близько 200 різних за дією компонентів. У ньому є значна кількість вітамінів групи В, які необхідні для регулювання обміну ліпідів, живлення серцевого м'яза, нервової системи, шкіри, органів зору, а також жиророзчинних вітамінів — А, F, Е і К. Також у ній міститься до 32% жирної олії і 0,1% ефірної олії; біогенні аміни (гістамін, тирамін); смоли; чинник Т, що підвищує число тромбоцитів у крові. До складу насіння входять макроелементи (мг/г): калій — 9,2; кальцій — 16,6; магній — 4,2; ферум — 0,08, і мікроелементи (мкг/г): марганець — 0,1; мідь — 1,16; цинк — 0,71; хром — 0,15; селен — 22,9; йод — 0,09; бор — 22,4 [10].

У розторопші міститься рідкісна біологічно активна речовина — силімарин, яка включає в себе три ізомери: силібін, силідіанін, силіхрестін у кількості від 2,8 до 3,8% [11].

В останні роки силібін досліджувався *in vitro* та *in vivo*, для оцінювання його гепатопротекторних властивостей. Силібін підвищує концентрацію антиоксидантів і опірність організму під час захворювань, що супроводжуються оксидативними пошкодженнями. Лікування силібініном асоційоване із захистом від токсинів [13].

Силібін є відносно нерозчинним у воді і не абсорбується легко з кишечника. Біодоступність може бути поліпшена комбінуванням екстрактів розторопші з розчинювальними субстанціями. Комплекс з фосфатидилхоліном збільшує оральну біодоступність силібіну. Силібінін є препаратом широкого спектру дії. Найбільш відомим механізмом дії є антиоксидантна активність з нейтралізацією вільних радикалів й інгібування ліпідної пероксидації [13–15].

## **ВИДІЛЕННЯ НЕВИРШЕНИХ РАНІШЕ ЧАСТИН ЗАГАЛЬНОЇ ПРОБЛЕМИ. МЕТА РОБОТИ**

Теперішнього часу доступна обмежена інформація відносно використання розторопші та біологічно активних речовин у її складі як у ветеринарній медицині, так і у рибництві. Тому дослідження з визначення доз, кінетики та ефектів використання розторопші з метою лікування та підвищення життєздатності риб є доцільним та актуальним.

Зважаючи на вищесказане, мета досліджень полягала у з'ясуванні впливу розторопші плямистої на інтенсивність окиснювальних процесів у коропа за умов експериментального токсичного ураження свинцем.

## **МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ**

Дослідні роботи проведено в лабораторних умовах. Об'єктом дослідження слугували дволітки коропа середньою масою 500 г, з яких було сформовано 3



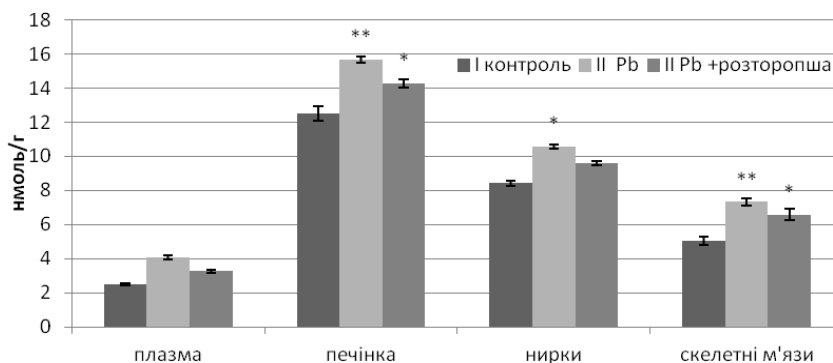
групи по 12–15 особин у кожній групі. Досліджувані групи риб утримувались в лотках, кожен об'ємом 630 л впродовж 30 днів. Коропи 1-ї групи (інтактні), яким через зонд задавали 3%-ий крохмальний клейстер, правили за контроль. Коропи 2-ї групи (дослід 1) впродовж місяця утримувалися у воді, в яку вносили солі свинцю ( $\text{PbNO}_3$ ), у кількості, що в перерахунку на іон металу відповідає 10 ГДК. Коропи 3-ї групи (дослід 2) знаходились в такому ж водному середовищі, що й коропи 1-ї групи, і їм додатково до крохмального клейстеру вводили мелене насіння розторопші плямистої у кількості 80 мг/кг маси тіла.

У кінці досліду від трьох груп риб відібрано біоматеріал для проведення біохімічних досліджень. ТБК-активні продукти оцінювали за вмістом продуктів, які реагують з 2-тіобарбітуровою кислотою (малоновий діальдегід, МДА) та виражали у нмоль/мг білка [16]. Рівень окиснювального пошкодження ліпідів оцінювали також за вмістом накопичених гідроперекисів ліпідів [17]. Активність СОД визначали в реакції окиснення кварцетину та виражали в од. акт./мг білка [18]. Активність каталази оцінювали в реакції з молібдатом амонію і виражали у мкмоль/хв. · мг білка [19].

Цифрові дані опрацьовували біометричним методом варіаційного непараметричного аналізу за допомогою програми *Microsoft Excel* та програми *Statistica 6.0*. Різниці між величинами вважали статистично вірогідними:  $p < 0,05$ ; 0,01 і 0,001.

## РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

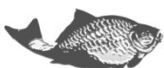
У результаті проведених досліджень встановлено, що за інтоксикації плумбумом в організмі риб відбувається значне посилення оксидативних процесів з підвищенням кількості накопичених кінцевих продуктів пероксидації (рис. 1). У печінці, нирках та м'язах вміст ТБК-активних продуктів вірогідно зростав відповідно на 26, 24 і 45%. Це очевидно пов'язано з тим, що саме у цих тканинах інтенсивність накопичення важких металів найвища [4].



Примітка. Тут і надалі \* —  $p < 0,05$ , \*\* —  $p < 0,01$ , \*\*\* —  $p < 0,001$  — статистично вірогідні різниці між показниками, отриманими в контрольній та дослідних групах риб.

**Рис. 1. Вміст ТБК-активних продуктів у плазмі та у тканинах коропів контрольної та дослідних груп**

Введення розторопші як потужного детоксуючого агента дозволило знизити вміст ТБК-активних продуктів як у плазмі, так і в печінці, нирках та

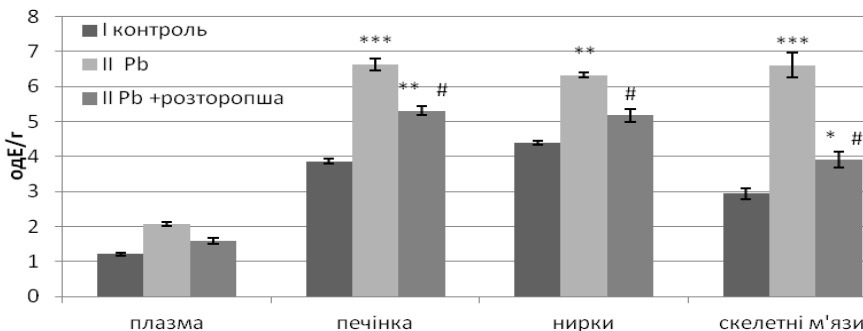


скелетних м'язях коропів (рис. 1). Так, вміст ТБК-активних продуктів мав тенденцію до зниження у печінці на 9%, у скелетних м'язях — на 11% порівняно із показниками у риб другої групи.

Такий ефект розторопші вказує на здатність біологічно активних компонентів у її складі елімінувати активні форми кисню та знижувати інтенсивність їх накопичення. Крім цього, унікальність розторопші полягає ще й у тому, що вона в досить великій кількості концентрує в організмі купрум і селен. Як відомо, купрум входить до активного центру потужного антиоксиданту ензимної ланки СОД, а селен виявляє антиоксидантні властивості.

Аналогічні зміни ми реєстрували і стосовно накопичення гідроперекисів ліпідів. Встановлено вірогідне зростання інтенсивності накопичення гідроперекисів ліпідів при навантаженні свинцем у всіх досліджуваних тканинах, а саме на 72, 43 та 124% ( $p < 0,01$ ) відповідно у печінці, нирках та скелетних м'язях. Уведення розторопші до раціону риб вірогідно зменшило вміст гідроперекисів у печінці від значення  $6,64 \pm 0,07$  нмоль/мл до  $5,31 \pm 0,17$  одЕ/г, у нирках — від  $6,33 \pm 0,06$  до  $5,18 \pm 0,06$  нмоль/мл, та у м'язях — від  $6,61 \pm 0,35$  до  $3,92 \pm 0,26$  одЕ/г (рис. 2).

Ці зміни були виражені більшою мірою у печінці та м'язях, де відбувається активний метаболізм. Комплекс біологічно активних сполук нейтралізує вільні радикали, блокує ПОЛ, внаслідок чого запобігає руйнуванню біомембран гепатоцитів. Надмірне накопичення активних форм кисню і продуктів ПОЛ є одним з провідних патогенетичних механізмів ураження гепатоцитів під час дії токсинів ендо- та екзогенного походження, що призводять у кінцевому результаті до пошкодження біліпідного шару клітинних мембран, руйнування клітини. Силімарин стимулює регенераційні процеси в печінці, оскільки активує РНК-полімеразу. У пошкоджених клітинах печінки флаволігнани розторопші стимулюють біосинтез фосфоліпідів і білків, у результаті чого клітинні мембрани стабілізуються [20].



Примітка. Тут і надалі # —  $p < 0,05$ , ## —  $p < 0,01$ , ### —  $p < 0,001$  — статистично вірогідні різниці між показниками, отриманими у дослідних групах риб.

### Рис. 2. Вміст гідроперекисів ліпідів у плазмі та у тканинах коропів контрольної та дослідних груп

Силімарин впливає на причину патологічних процесів у печінці, а не просто ліквідує симптоми захворювання. Побічні ефекти застосування розторопші слабо виражені. Згідно з фармакологічними дослідженнями, силімарин легко всмоктується, досягаючи максимальної концентрації в крові приблизно через 30–



40 хвилин, при цьому у великій кількості знаходиться в цитоплазмі гепатоцитів, накопичується у печінці. Виділяється з жовчю, меншою мірою з сечею, у кишечнику розщеплюється мікрофлорою. Силімарин реадсорбується і потрапляє в печінку, проходячи так званий кишково-печінковий шлях. Після цього він знову проявляє активність. Токсичність при застосуванні навіть дуже великих доз відсутня [20].

Доведено, що силімарин перешкоджає потраплянню токсинів у клітини печінки, оскільки проявляє мембраностабілізуючу дію [21, 22, 23].

На наступному етапі досліджень ензимної ланки захисту від оксидативних порушень ми з'ясували, що активність СОД у печінці та нирках коропа вірогідно знижувалась після навантаження організму свинцем на 21 і 55% відповідно. Після додавання розторопші активність СОД вірогідно зростала у печінці та нирках коропів дослідних груп, та мала тенденцію до підвищення їх у скелетних м'язах (рис. 3).

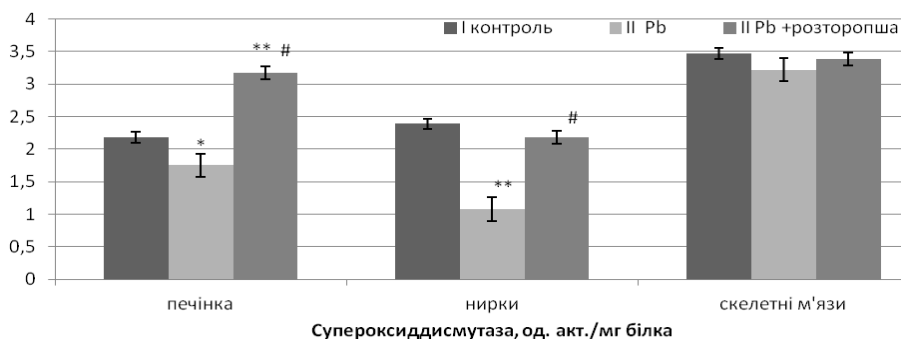
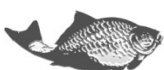


Рис. 3. Активність СОД у тканинах коропів контрольної та дослідних груп

Оксидативний стрес характеризує неспецифічну відповідь організму на несприятливі чинники різної природи. Оксидативний стрес будь-якої природи зумовлює швидку реакцію системи антиоксидантного захисту (АОЗ). З літературних джерел відомо, що серед механізмів регулювання вільнорадикальних та пероксидних процесів ключова роль належить ферментам АОЗ, таким як СОД, каталаза (КАТ), ГР, ГПО тощо [24]. Загальною властивістю всіх ферментних антиоксидантів є наявність у їхньому складі іонів змінної валентності, що, залежно від умов, виступають як окисники або відновники. СОД є внутрішньоклітинним ферментом, який бере участь у реакціях дисмутації супероксидного аніон-радикалу. КАТ каталізує розщеплення пероксиду водню, який утворюється в результаті дії СОД [25]. Підвищення ефективності функціонування системи АОЗ запобігає виникненню негативних наслідків, які викликані інтенсифікацією вільнорадикальних процесів.

Дослідниками встановлено, що в умовах експериментального пошкодження печінки лікарський засіб силімарин разом з фосфатидилхоліном відновлює трансмембранний потенціал і запобігає загибелі гепатоцитів. А також дегідросилібінін проявляє значно більш потужну антиоксидантну дію. Він ліпофільніший, а, отже, має більшу спорідненість до мембран гепатоцитів.



Протизапальна і протиалергічна дія силімарину пов'язана з його здатністю пригнічувати ліпоксигенази (пригнічується утворення лейкотрієнів, гальмується міграція нейтрофілів, пригнічується вивільнення гістаміну з базофільних гранулоцитів). Антифібротичний ефект силімарину — це здатність гальмувати активацію зірчастих клітин печінки, знижувати їх проліферацію і трансформацію у фіброblastи [22–24]. Силімарин також стимулює регенерацію клітин печінки, шляхом посилення синтезу рибосомальної РНК та утворення зрілих рибосом.

Подібні зміни ми зафіксували стосовно активності каталази: так, вона знизилась у печінці риб, що піддавались токсичному навантаженню Pb, до  $1,75 \pm 0,16$  мкмоль/хв·мг білка ( $p < 0,05$ ) та в нирках до  $0,41 \pm 0,04$  мкмоль/хв·мг білка ( $p < 0,05$ ). Додавання розторопші до раціону риб сприяло вірогідному зростанню каталазної активності у досліджуваних тканинах коропів (рис. 4).

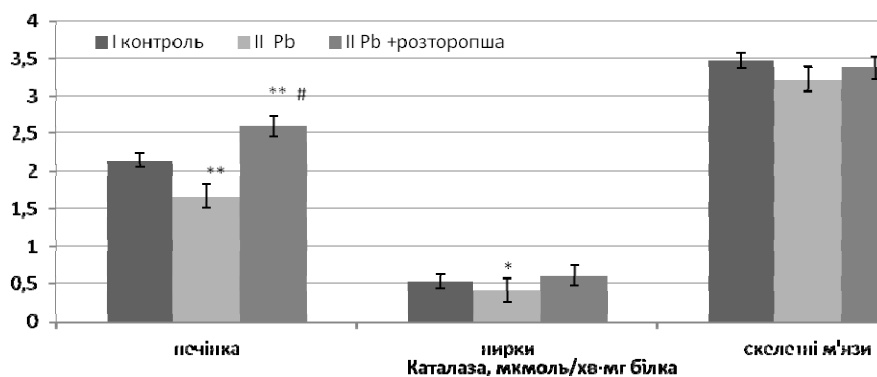


Рис. 4. Активність каталази у тканинах коропів контрольної та дослідних груп

Отримані нами результати узгоджуються з результатами досліджень інших авторів, проведених на продуктивних та лабораторних тваринах. На підставі результатів експериментального дослідження з використанням тетрахлорметану, атофану та тетрацикліну визначено, що додавання до раціону риб розмелених плодів розторопші плямистої за дози 25 мг/кг корму сприяє зменшенню явища цитолізу, концентрації ТБК-активних продуктів, холестерину та нормалізації рівня відновленого глутатіону, до того ж більш активно, ніж фармпрепарату. Це може бути пов'язано з більш широким хімічним складом розмелених плодів розторопші плямистої. Встановлено, що вживання її розмелених плодів за дози 25 мг/кг корму, на тлі поєднаної дії іонізуючого опромінення та ксенобіотику, гальмує процеси пероксидації та відновлює рівень каталази у старих шурів, а також сприяє гіпохолестеринемічній дії в старих та молодих тварин [25, 26]. Розмелені плоди розторопші плямистої за дози 25 мг/кг корму можуть вживатися для профілактики, а також як допоміжний засіб під час лікування станів, пов'язаних з інтоксикацією ксенобіотиками різного хімічного складу, дії іонізуючого опромінення та у випадках поєднаної дії токсикантів та іонізуючого опромінення.

При проведенні досліджень із введення силімарину з розрахунку 85 мг/кг живої маси упродовж 5–24 год. собакам після отруєння *Amanita phalloides* жодна



тварина з дослідних груп не загинула, в той час як у контрольній групі смертність складала 33%. Дослідження печінкових ензимів і дані біопсії печінки продемонстрували гепатопротекторний ефект силімарину [20, 21]. Використання у складі комбікормів для свиней біологічної добавки розторопші плямистої позитивно впливає на організм, особливо органи травлення, і має гепатопротекторну дію [23].

## ВИСНОВКИ ТА ПЕРСПЕКТИВИ ПОДАЛЬШОГО РОЗВИТКУ

Токсичне навантаження важкими металами у поєднанні із фізіологічним стресом є найпотужнішими чинниками, що стимулюють пероксидне окиснення ліпідів та оксидативні порушення в організмі, що доведено дослідженнями з використанням свинцю, який підвищував інтенсивність накопичення проміжних і кінцевих продуктів ПОЛ на фоні зниження активності антиоксидантних ензимів.

Введення розмелених плодів розторопші плямистої до раціону коропів сприяло вірогідному зростанню активності СОД і КАТ у тканинах їх організму, що знижувало інтенсивність пероксидного окиснення ліпідів у їхньому організмі.

Отримані результати у комплексі з даними про вплив компонентів розторопші на показники інших ланок метаболізму можуть слугувати основою для створення та використання у практиці рибництва препаратів з антиоксидантними властивостями на основі розторопші.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Єгоров Б. В. Стан та перспективи розвитку форелівництва у рибоводних господарствах України / Б. В. Єгоров, Л. В. Фігурська // *Зернові продукти і комбікорми*. — 2011. — № 2 (42). — С. 37—40.
2. Тарасенко Л. О. Особливості кумуляції важких металів в організмі риб / Л. О. Тарасенко // *ЛНУВМБТ імені С.З. Гжицького*. — 2014. — Т. 16, № 3(60), ч. 2. — С. 40—48.
3. Tiedemann G. Interaction of cadmium and lead in fish / G. Tiedemann, M. Kublbeck, J. Rosmanith // *Wiss und Umwelt*. — 1984. — № 3В. — Р. 145—154.
4. Eisler R. Handbook of Chemical Risk Assessment : Health Hazards to Humans, Plants, and Animals / R. Eisler. — CRC Press, 2000. — Vol. 1 : Metals. — 41 p.
5. Ліпідний склад деяких тканин коропа за дії іонів кадмію / Ю. І. Сеник, В. О. Хоменчук, Б. З. Ляврін [та ін.] // *Наукові записки Тернопільського національного педагогічного університету*. — 2011. — № 2(47). — С. 216—220. — (Серія : Біологічна).
6. Response of catalase activity to  $Ag^+$ ,  $Cd^{2+}$ ,  $Cr^{6+}$ ,  $Cu^{2+}$  and  $Zn^{2+}$  in five tissues of freshwater fish *Oreochromis niloticus* / G. Atli, O. Alptekin, S. Tüke [et al.] // *Comp. Biochem. Physiol. C. Toxicol. Pharmacol.* — 2006. — Vol. 143, № 2. — P. 218—224.
7. Molecular biomarkers of oxidative stress in aquatic organisms in relation to toxic environmental pollutants / A. Valavanidis, T. Vlahogianni, M. Dassenakis [et al.] // *Ecotoxicol. Environ. Saf.* — 2006. — Vol. 64, № 2. — P. 178—189.
8. Chronic toxicity of verapamil on juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) : effects on morphological indices, hematological parameters and antioxidant responses / Zh Li, J. Velisek, V. Zlabek [et al.] // *J. Hazard. Mater.* — 2011. — Vol. 185, № 2–3. — P. 870—880.
9. Баева В. М. Расторопши семена — Sylibi semen // *Лечение растениями: Основы фитотерапии* : [учеб. пособ. для студ. медиков и практикующих врачей]. — М. : Астрель; АСТ, 2004. — С. 115—116.





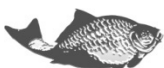
10. Кориляк М. З. Фітотерапевтичні властивості розторопші плямистої та її використання в годівлі тварин / М. З. Кориляк // Рибогосподарська наука України. — 2013. — № 4. — С. 97—105.
11. Кшниткина А. Н. Расторопша пятнистая / А. Н. Кшниткина, В. А. Гущина, Н. Д. Агапкина // Пчеловодство. — 2003. — № 3. — С. 26—27.
12. Гордієнко А. Д. Вплив таблеток силібору, одержаних за новою технологією, на функціональну активність мікросом / А. Д. Гордієнко // Вісник фармації. — 1997. — № 1 (15). — С.109—111.
13. Pradhan S. C. Hepatoprotective herbal drug, silymarin from experimental pharmacology to clinical medicine / S. C. Pradhan, C. Girish // Indian. J. Med. Res. — 2006. — 124 (5). — P. 491—504.
14. Чекман І. С. Клінічна фітотерапія. Природа лікує / Чекман І. С. — К. : Рада, 2000. — 510 с.
15. Clinical applications of *Silybum marianum* in oncology / H. Greenlee, K. Abascal, E. Yarnell [et al.] // Integr. Cancer Ther. — 2007. — Vol. 6(2). — P. 158—165.
16. Коробейников Е. Н. Модификация определения ПОЛ в реакции с ТБК / Е. Н. Коробейников // Лабораторное дело. — 1989. — № 7. — С. 8—9.
17. А. с. 1084681 СССР, МКИ G 01 № 33/48. Способ определения гидроперекисей липидов в биологических тканях / В. В. Мирончик. — № 3468369/28-13 ; заявл. 08.07.82 ; опубл. 07.04.84, Бюл. № 13.
18. Дубинина Е. Е. Активность и коферментный спектр СОД эритроцитов / Е. Е. Дубинина, Л. Я. Сальникова, Л. Ф. Ефимова // Лаб. дело. — 1983. — № 10. — С. 30—33.
19. Королюк М. А. Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк, А. И. Иванова, И. Г. Майорова // Лаб. дело. — 1988. — № 1. — С. 16—19.
20. Vogel G. Protection by silibinin against *Amanita phalloides* intoxication in beagles / G. Vogel, B. Tuchweber, W. Trost [et al.] // Toxicol. Appl. Pharmacol. — 1984. — Vol. 73(3).— P. 355—362.
21. Luper S. A review of plants used in the treatment of liver disease. Part 1 / S. Luper // Altern. Med. Rev. — 1998. — Vol. 3, № 6. — P. 410—421.
22. Колесник М. Д. Застосування розторопші плямистої поросятям / М. Д. Колесник, І. Б. Баньковська // Тваринництво України. — 2008. — № 2. — С. 32—34.
23. Колесник М. Д. Складові ефективності використання розторопші плямистої / М. Д. Колесник, І. Б. Баньковська, О. І. Костенко // Вісник Полтавської державної академії. — 2009. — № 1. — С. 76—77.
24. Halliwell B. Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence? / B. Halliwell // Lancet. — 1994. — Vol. 344(8924). — P. 721—724.
25. Yagi K. Active oxygens, lipid peroxides, and antioxidants / Yagi K. — Japan : Japan Scientific Societies Press, 1993.
26. A review of the main bacterial fish diseases in mariculture systems / E. Alicia, T. Toranzo, O. S. B. Magarin [et al.] // Aquaculture. — 2005. — № 246. — P. 37—61.

## REFERENCES

1. Yehorov, B. V., & Fihurska, L. V. (2011). Stan ta perspektyvy rozvytku forelivnytstva u rybovodnykh hospodarstvakh Ukrainy. *Zernovi produkty i kombikormy*, 2 (42), 37-40.
2. Tarasenko, L. O. (2014). Osoblyvosti kumuliatsii vazhkykh metaliv v orhanizmi ryb. *LNUVMBT imeni S.Z. Gzhytskoho*, 16, 3(60), 2, 40-48.
3. Tiedemann, G., Kublbeck, M., & Rosmanith, J. (1984). Interaction of cadmium and lead in fish. *Wiss und Umwelt*, № 3B, 145-154.
4. Eisler, R. (2000). *Handbook of Chemical Risk Assessment: Health Hazards to Humans, Plants, and Animals. Vol. 1 : Metals*. CRC Press.



5. Senyk, Yu. I., Khomenchuk, V. O., & Liavrin, B. Z. et al. (2011). Lipidnyi sklad deiakykh tkanyv koropa za dii ioniv kadmiu. *Naukovi zapysky Ternopil'skoho natsionalnoho pedahohichnoho universytetu, Seriya : Biolohichna*, 2(47), 216-220.
6. Atli, G., Alptekin, O., Tüke, S., & Canli, M. (2006). Response of catalase activity to  $Ag^+$ ,  $Cd^{2+}$ ,  $Cr^{6+}$ ,  $Cu^{2+}$  and  $Zn^{2+}$  in five tissues of freshwater fish *Oreochromis niloticus*. *Comp. Biochem. Physiol. C. Toxicol. Pharmacol.*, 143, 2, 218-224.
7. Valavanidis, A., Vlahogianni, T., Dassenakis, M., & Scoullou, M. (2006). Molecular biomarkers of oxidative stress in aquatic organisms in relation to toxic environmental pollutants. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 64, 2, 178-189.
8. Velisek, J., & Zlabek, V. et al. (2011). Chronic toxicity of verapamil on juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): effects on morphological indices, hematological parameters and antioxidant responses. *J. Hazard. Mater.*, 185, 2-3, 870-880.
9. Baeva, V. M. (2004). Rastropshi semena — Sylibi semen. *Lechenie rasteniyami: Osnovy fitoterapii: [ucheb. posob. dlya stud. medikov i praktikyushchikh vrachey]*. Moskva : Astrel'; AST, 115-116.
10. Koryliak, M. Z. (2013). Fitoterapevtychni vlastyvoli roztoropshi pliamystoi ta yii vykorystannia v hodivli tvaryn. *Rybohospodarska nauka Ukrainy*, 4, 97-105.
11. Kshnitkina, A. N., Gushchina, V. A., & Agapkina N. D. (2003). Rastropsha pyatnistaya. *Pchelovodstvo*, 3, 26-27.
12. Hordiienko, A. D. (1997). Vplyv tabletok syliboru, oderzhanykh za novoiu tekhnolohiieiu, na funktsionalnu aktyvnist mikrosom. *Visnyk farmatsii*, 1(15), 109-111.
13. Pradhan, S. C., & Girish, C. (2006). Hepatoprotective herbal drug, silymarin from experimental pharmacology to clinical medicine. *Indian. J. Med. Res.*, 124(5), 491-504.
14. Chekman, I. S. (2000). Klinichna fitoterapiia. *Pryroda likuie*. Kyiv : Rada.
15. Greenlee, H., Abascal, K., Yarnell, E., & Ladas, E. (2007). Clinical applications of *Silybum marianum* in oncology. *Integr. Cancer Ther.*, 6(2), 158-165.
16. Korobeynikov, E. N. (1989). Modifikatsiya opredeleniya POL v reaktsii s TBK. *Laboratornoe delo*, 7, 8-9.
17. Mironchik, V. V. (1984). *Sposob opredeleniya gidroperekisey lipidov v biologicheskikh tkanyakh*. Patent of USSR № 3468369/28-13.
18. Dubinina, E. E., Sal'nikova, L. Ya., & Efimova, L. F. (1983). Aktivnost' i kofermentnyi spektr SOD eritrotsitov. *Lab. delo*, 10, 30-33.
19. Korolyuk, M. A., Ivanova, A. I., & Mayorova, I. G. (1988). Metod opredeleniya aktivnosti katalazy. *Lab. delo*, 1, 16-19.
20. Vogel, G., Tuchweber, B., & Trost, W. et al. (1984). Protection by silibinin against *Amanita phalloides* intoxication in beagles. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 73(3), 355-362.
21. Luper, S. (1998). A review of plants used in the treatment of liver disease. Part 1. *Altern. Med. Rev.*, 3, 6, 410-421.
22. Kolesnyk, M. D., & Bankovska, I. B. (2008). Zastosuvannia roztoropshi pliamystoi porosiatam. *Tvarynnytstvo Ukrainy*, 2, 32-34.
23. Kolesnyk, M. D., Bankovska, I. B., & Kostenko, O. I. (2009). Skladovi efektyvnosti vykorystannia roztoropshi pliamystoi. *Visnyk Poltavskoi derzhavnoi akademii*, 1, 76-77.
24. Halliwell, B. (1994). Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence? *Lancet*, 344(8924), 721-724.
25. Yagi, K. (1993). *Active oxygens, lipid peroxides, and antioxidants*. Japan : Japan Scientific Societies Press.
26. Alicia, E., Toranzo, T., Magarin, O. S. B., & Romalde, J. L. (2005). A review of the main bacterial fish diseases in mariculture systems. *Aquaculture*, 246, 37-61.



## ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ РАСТОРОПШИ ПЯТНИСТОЙ (*Silybum marianum*) ДЛЯ КОРРЕКТИРОВАНИЯ ИНТЕНСИВНОСТИ ОКИСЛИТЕЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ У КАРПА ПРИ УСЛОВИИ НАГРУЗКИ СВИНЦОМ

Ю. А. Опалинский, [opalynskyy@gmail.com](mailto:opalynskyy@gmail.com), Институт рыбного хозяйства НААН, г. Киев

О. И. Вищур, [vishchur\\_oleg@ukr.net](mailto:vishchur_oleg@ukr.net), Институт биологии животных НААН, г. Львов

**Цель.** Определение влияния расторопши пятнистой на интенсивность окислительных процессов у карпов при условии экспериментального токсического поражения свинцом.

**Методика.** Опытные работы проведены в лабораторных условиях. Объектом исследования служили двухлетки карпа, из которых сформировано 3 группы по 12–15 рыб в каждой. Карпы 1-й группы (интактные), которым через зонд давали 3%-ный крахмальный клейстер, были контролем. Карпы 2-й группы в течение месяца содержались в воде, в которую вносили соли свинца ( $PbNO_3$ ), в количестве, которое, в пересчете на ион металла соответствует 10 ПДК. Карпы 3-й группы в течение месяца находились в такой же среде растворенных солей свинца, и им через зонд вводили 3%-ный крахмальный клейстер вместе с молотыми семенами расторопши пятнистой в количестве 40 мг на одну особь.

Исследовано влияние расторопши пятнистой (*Silybum marianum*) на процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ) и активность ферментов системы антиоксидантной защиты (САЗ) в организме карпов в условиях нагрузки свинцом. ТБК-активные продукты оценивали по содержанию продуктов, которые реагируют с 2-тиобарбитуровой кислотой (малоновый диальдегид). Уровень окислительного повреждения липидов оценивали также по содержанию накопленных гидроперекисей липидов. Активность супероксиддисмутазы (СОД) определяли в реакции окисления кварцетин. Активность каталазы оценивали в реакции с молибдатом аммония. Цифровые данные обрабатывали биометрическим методом вариационного непараметрического анализа с помощью программы Microsoft Excel пакета табличного редактора Microsoft Office Professional XP и программы Statistica 6.0. Различия между величинами считали статистически достоверными:  $p < 0,05$ ;  $0,01$  и  $0,001$ .

**Результаты.** Токсическая нагрузка тяжелыми металлами в сочетании с физиологическим стрессом являются самыми мощными факторами, которые стимулируют перекисное окисление и оксидативные нарушения в организме. Этот факт мы доказали в исследовании с использованием солей свинца, что повышало интенсивность накопления промежуточных и конечных продуктов ПОЛ на фоне снижения активности антиоксидантных ферментов. В частности, в печени, почках и мышцах содержание ТБК-активных продуктов достоверно возрастало соответственно на 26, 24 и 45%, а гидроперекисей липидов — на 72, 43 и 124%. При этом активность СОД в печени и почках карпа достоверно снижалась на 21 и 55% соответственно. В то же время активность каталазы снизилась в печени рыб до  $1,75 \pm 0,16$  мкмоль / мин · мг белка ( $p < 0,05$ ) и в почках — до  $0,41 \pm 0,04$  мкмоль / мин · мг белка ( $p < 0,05$ ).

Констатировано, что введение расторопши карпам подопытной группы способствует достоверному росту активности СОД и каталазы в исследуемых тканях рыб, снижает интенсивность ПОЛ в их организме.

**Научная новизна.** В работе впервые показана эффективность применения расторопши пятнистой для коррекции интенсивности окислительных процессов у карпов в условиях экспериментального поражения солями свинца.

**Практическая значимость.** Использование в условиях индустриального выращивания карпа расторопши пятнистой — эффективного, безопасного и рентабельного способа защиты организма от токсического воздействия техногенных загрязнителей — позволит нивелировать негативное влияние данных факторов путем активации системы антиоксидантной защиты их организма.

**Ключевые слова:** карп, свинец, расторопша, антиоксидантный статус, окислительная модификация липидов.



THE EFFICIENCY OF USING MILK THISTLE (*SILYBUM MARIANUM*)  
FOR ADJUSTING THE INTENSITY OF OXIDATIVE PROCESSES IN CARP  
IN THE CONDITIONS OF LEAD CONTAMINATION

Yu. Opalynskiy, [opalynskyy@gmail.com](mailto:opalynskyy@gmail.com), Institute of Fisheries, Kyiv

O. Vishchur, [vishchur\\_oleg@ukr.net](mailto:vishchur_oleg@ukr.net), Institute of Animal Biology NAAS, Lviv

**Purpose.** To determine the effect of milk thistle on the intensity of oxidative processes in carp under the conditions of experimental toxic contamination with lead.

**Methodology.** Experimental works were conducted in laboratory conditions. The object of the study was age-1+ carp, which were divided into three groups of 12–15 fish in each. Carp of the group 1 (intact), which received 3% starch paste through a probe, were used as a control. Carp of the group 2 were kept during a month in water, in which lead salts ( $PbNO_3$ ) were introduced at quantities corresponding to 10 maximum allowable levels calculated as metal ions. Carp of the group 3 during a month were kept in the same environment of dissolved lead salts and received 3% starch paste through a probe together with ground seeds of milk thistle (*Silybum marianum*) at a quantity of 80 mg/kg of fish body weight.

We examined the effect of milk thistle on lipid peroxidation (LPO) and enzyme activity of antioxidant defense system (ADS) in carp organism under conditions of lead contamination. TBA-active products were assessed based on the content of products which reacted with 2-thiobarbituric acid (malondialdehyde). The level of oxidative damage to lipids was also evaluated based on the content of accumulated lipid hydroperoxide. Superoxide dismutase (SOD) activity was determined in the reaction of quercetine oxidation. Catalase activity was assessed in the reaction with ammonium molybdate. Numeric data were processed by biometric method of variation nonparametric analysis using Microsoft Excel and Statistica 6.0. Differences between the values were considered statistically significant:  $p < 0.05$ ; 0.01 and 0.001.

**Findings.** Toxic contamination with heavy metals in conjunction with the physiological stress are the most significant factors, which stimulate the peroxidation and oxidative disorders in the body. This fact was proved in the study using the salts of lead that increased the intensity of the accumulation of intermediate and final products of lipid peroxidation on the background of the decreased activity of antioxidant enzymes. In particular, in liver, kidneys and muscles the content of TBA-active products significantly increased by 26, 24 and 45%, while that of lipid hydroperoxides by 72, 43 and 124%. At the same time the activity of SOD in liver and kidneys of carp significantly decreased by 21 and 55%, respectively. At the same time, the catalase activity decreased to  $1.75 \pm 0.16$  mmol/min-mg of protein ( $p < 0.05$ ) in fish liver and to  $0.41 \pm 0.04$  mmol/min-mg of protein ( $p < 0.05$ ) in kidneys.

It was found that the introduction of milk thistle to the experimental group of carp resulted in significant increase in the activity of SOD and catalase in the studied fish tissues that reduced the intensity of lipid peroxidation in their body.

**Originality.** For the first time the work shows the effectiveness of milk thistle for correcting the intensity of oxidative processes in carp in the conditions of experimental contamination with lead salts.

**Practical value.** The use of milk thistle, an efficient, safe and cost-effective way to protect fish organism from toxic effects of human-induced pollution, will allow neutralizing the negative impact of these factors by activating the antioxidant defense system of their organism.

**Keywords:** carp, lead, thistle, antioxidant status, oxidative modification of lipids.

