

## АНАЛІЗ ІНТЕНСИВНОСТІ ПЕРЕБІГУ ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНИХ ПРОЦЕСІВ В ТКАНИНАХ ГЕПАТОПАНКРЕАСУ ТА СКЕЛЕТНИХ М'ЯЗІВ ДВОЛІТОК КОРОПІВ РІЗНОГО ГЕНЕЗУ

**І.А. Особа**, [iryna\\_osoba@ukr.net](mailto:iryna_osoba@ukr.net), Інститут рибного господарства НААН,  
м. Київ

**Мета.** Провести визначення вмісту окремих продуктів перекисного окиснення ліпідів у тканинах гепатопанкреасу та скелетних м'язів коропів різного походження.

**Методика.** Визначення вмісту продуктів вільнорадикального перекисного окиснення ліпідів у тканинах гепатопанкреасу та скелетних м'язів коропів проводили шляхом спектрофотометричного аналізу. Зокрема, вміст малонового діальдегіду визначали за реакцією з тіобарбітуровою кислотою, яка за високої температури в кислому середовищі протікає з утворенням кольорового триметинового комплексу. Інтенсивність утворення гідроперекисів ліпідів визначали після осадження білків розчином трихлороцтової кислоти та екстракцією ліпідів етанолом з наступною взаємодією досліджуваних екстрактів з тіоціанатом амонію. Для визначення вмісту дієнових кон'югатів у тканинах використали метод, в основі якого лежить утворення системи спряжених подвійних зв'язків, що супроводжується появою нового максимуму поглинання в діапазоні спектру  $\lambda_{\text{max}} = 233$  нм.

**Результати.** В результаті проведених досліджень встановлено, що вміст малонового діальдегіду у скелетних м'язах дволіток лускатих та рамчастих коропів несвицького зонального типу вірогідно нижчий, порівняно з таким у скелетних м'язах амурського сазана, та зростає відносно групи коропо-сазанового гібриду. Відмічено зростання вмісту дієнових кон'югатів у скелетних м'язах лускатих несвицьких та любінських коропів, порівняно з рамчастими. Показана тканинна специфічність накопичення вмісту окремих продуктів вільнорадикального перекисного окиснення ліпідів у піддослідних групах риб.

**Наукова новизна.** Вперше проведено порівняльний аналіз вмісту окремих продуктів вільнорадикального окиснення у тканинах дволіток лускатих та рамчастих коропів несвицького зонального і любінського внутрішньопородного типу разом із групами амурського сазана та коропо-сазанового гібриду. Охарактеризовано фактори забезпечення такої інтенсивності процесів ліпопероксидації у тканинах дволіток досліджуваних груп риб.

**Практична значимість.** Порівняльний аналіз перебігу процесів вільнорадикального перекисного окиснення чітко відображає рівень окремих адаптаційних можливостей різних породних груп риб. Результати даних досліджень можна використовувати для контролю фізіологічного стану вирощуваної риби та як якісний критерій рівня господарювання, а також для покращення останнього із зведенням до мінімуму ризику виникнення оксидативного стресу в організмі вирощуваної риби.

**Ключові слова:** коропи різного генезу, вільні радикали, перекисне окиснення ліпідів, малоновий діальдегід, гідроперекиси ліпідів, дієнові кон'югати.

## ПОСТАНОВКА ПРОБЛЕМИ ТА АНАЛІЗ ОСТАННІХ ДОСЛІДЖЕНЬ І ПУБЛІКАЦІЙ

На життєдіяльність організму риб впливає ряд біотичних та абіотичних факторів [1]. Перші визначаються походженням, особливостями генетичної структури, та визначають рівень інтенсивності метаболічних процесів в організмі риб. До других можна віднести кисневий режим водойм, від якого залежить перебіг процесів клітинного дихання. З переносом електронів по дихальному



ланцюгу у мітохондріях тісно пов'язане утворення активних форм кисню, які індують процеси вільнорадикального окиснення, зокрема перекисне окиснення ліпідів (ПОЛ) клітинних структур [2]. Останнє є одним з важливих механізмів, які забезпечують адаптацію організму риб до змін навколишнього середовища. Інтенсивність перебігу вільнорадикального перекисного окиснення добре характеризує вміст продуктів цього окиснення у тканинах риб.

Активні форми кисню, які утворюються внаслідок безперервного окиснення енергетичних субстратів у клітині, відіграють важливу роль в оновленні фосfolіпідного шару клітинних мембран, передачі сигналу в процесах міжклітинної взаємодії, активації транскрипційних чинників, що беруть участь в експресії генів, у синтезі багатьох біологічно активних речовин тощо [2 – 8]. На кожному етапі вільнорадикального перекисного окиснення утворюються продукти, за рівнем яких можна визначити інтенсивність перебігу даного процесу у тканинах організму та ступінь можливого їх ураження [5, 7 – 10, 11 – 14].

Оксиданти та антиоксиданти мають важливе значення для життєдіяльності організму риб в підтриманні певного балансу між процесами утворення та розпаду перекисних сполук. Порушення рівноваги про– та антиоксидантних систем підтверджують важливе значення вільно-радикального перекисного окиснення у розвитку багатьох патологічних станів [1, 14 – 19].

В літературі описано багато випадків ушкодження тканин організму під впливом дії стресів різної природи, в тому числі оксидативного. У разі виникнення останнього, наслідки залежать від ступеня компенсації тканинної гіпоксії в результаті дії ензиматичної та неензиматичної ланок системи антиоксидантного захисту організму, а також внаслідок впливу екзогенних чинників (біологічно активні речовини, лікувальні засоби тощо) [5, 7, 15 – 20]. Таким чином, вільнорадикальне перекисне окиснення відіграє важливу роль як у забезпеченні нормального функціонування організму риб, так і в ініціації цілого ряду патологічних змін. Отже, зниження рівня напруження кисню у водному середовищі є однією з основних причин виникнення гіпоксії в організмі риб. Відомо, що різнопородні групи риб характеризуються різним рівнем стійкості до гіпоксії [21 – 23]. У зв'язку з впливом гіпоксії та ряду інших факторів на перебіг процесів дихання, а таким чином і на ріст та розвиток організму риб, актуальним є дослідження біохімічних механізмів адаптації організму риб до таких екстремальних факторів оточуючого середовища.

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

Аналіз наявних літературних джерел засвідчує актуальність проведення досліджень перебігу вільнорадикальних процесів в організмі сільськогосподарських тварин, в тому числі і у риб [1, 5 – 7, 12, 14, 23]. На сьогодні виконано багато робіт з визначення вмісту продуктів перекисного окиснення ліпідів у тканинах риб [1, 6, 12, 14 – 19, 23 – 24]. Проте, переважна більшість цих робіт носить більш теоретичний, аніж прикладний характер. У зв'язку з цим, досі існує потреба проведення досліджень інтенсивності перебігу перекисного окиснення в організмі вирощуваної риби з метою одержання можливості постійного контролю рівня вільнорадикальних процесів, які впливають на її ріст та розвиток.



## МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Для виконання даної роботи ми використали шість груп риб: лускату та рамчасту форми коропів несвицького зонального типу (НЛК і НРК) і любінського внутрішньопородного типу (ЛЛК і ЛРК), а також амурського сазана (АС) та коропо-сазанового гібрида (КСГ).

Для виключення впливу факторів екзогенного характеру усі групи риб вирощувалися в максимально наближених за гідрохімічним та гідробіологічним складом умовах, які постійно контролювалися. Піддослідну рибу вирощено в ставах дослідного господарства Львівської дослідної станції Інституту рибного господарства НААН. Протягом періоду вирощування всім досліджуваним групам риб згодовували комбікорм однакового складу і в однаковій кількості.

Зразки тканин гепатопанкреасу та скелетних м'язів відбирали на льодяне середовище виділення з наступним швидким замороженням у рідкому азоті, де вони зберігалися до подальшого лабораторного опрацювання.

У тканинах скелетних м'язів та гепатопанкреасу досліджуваних груп риб визначали вміст таких продуктів вільнорадикального перекисного окиснення ліпідів як: малоновий діальдегід (МДА), гідроперекиси ліпідів (ГПЛ) та дієнові кон'югати (ДК). Вміст малонового діальдегіду визначали за реакцією з тіобарбітуровою кислотою, яка в умовах високої температури в кислому середовищі протікає з утворенням кольорового комплексу. Оптичну густину досліджуваних зразків вимірювали спектрофотометрично за довжини хвиль  $\lambda = 535$  та  $\lambda = 580$  нм відповідно, щоб запобігти поглинанню забарвлених комплексів ТБК-речовинами не ліпідної природи [25].

Вміст гідроперекисів визначали після осадження білків розчином трихлороцтової кислоти та екстракцією ліпідів етанолом з наступною взаємодією досліджуваних екстрактів з тіоціанатом амонію. Вміст гідроперекисів ліпідів визначали спектрофотометрично за довжини хвилі  $\lambda = 480$  нм [26]. В основі методу визначення дієнових кон'югатів лежить властивість спряжених подвійних зв'язків інтенсивно поглинати світло в діапазоні спектру  $\lambda = 233$  нм [27]. Одержані результати досліджень опрацьовували статистично.

## РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Аналіз отриманих результатів показав, що інтенсивність перебігу вільнорадикального перекисного окиснення ліпідів у тканинах піддослідних риб характеризувалася індивідуальною видовою специфічністю, що підтверджується вмістом продуктів ПОЛ (рис. 1 – 3).

Одним з найбільш небезпечних за своїм впливом на клітинні структури є малоновий діальдегід. Останній утворюється в організмі внаслідок деградації поліненасичених жирних кислот активними формами кисню та є одним з найбільш чутливих маркерів перекисного окиснення ліпідів та оксидативного стресу. Нами встановлено, що вміст малонового діальдегіду у скелетних м'язах дволіток лускатих та рамчастих коропів несвицького зонального та любінського внутрішньопородного типів вірогідно нижчий, порівняно з таким у скелетних м'язах амурського сазана, та зростає відносно групи коропо-сазанового гібриду (рис. 1.).



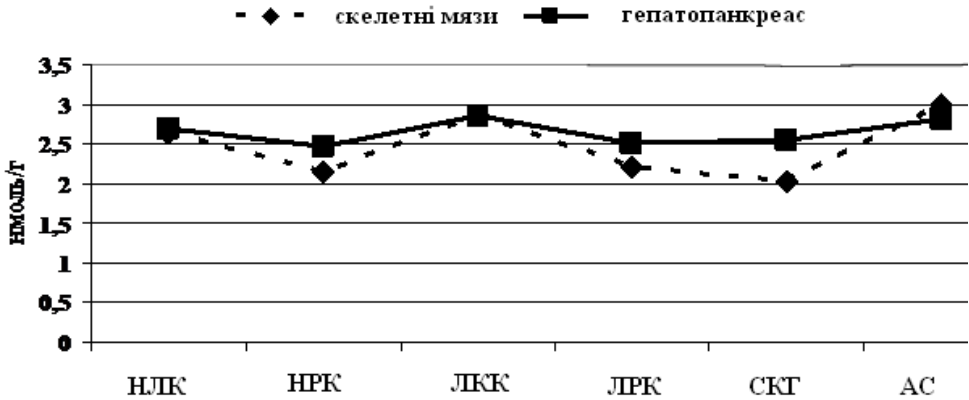


Рис. 1. Вміст малонового діальдегіду у тканинах дволіток коропів різного генезу, ( $M \pm m$ ,  $n = 6$ )

Вільнорадикальні процеси відіграють важливу роль у забезпеченні нормальної життєдіяльності організму риб, внаслідок їх перебігу утворюється ряд продуктів, що виявляються результатом взаємодії вільних радикалів як між собою, так і з біологічними макромолекулами [2, 7, 14, 23]. За рівнем даних продуктів можна судити про інтенсивність вільнорадикального перекисного окиснення у різних біологічних системах організму [5 – 7]. Вміст гідроперекисів ліпідів відображає рівень окиснення енергетичних субстратів у тканинах риб. Вміст даного продукту перекисного окиснення ліпідів знаходився приблизно в однакових межах у всіх досліджуваних групах риб з чітко вираженою тканинною специфічністю. Найнижчим їх вміст у скелетних м'язах спостерігався в групах несвицького рамчастого та любінського рамчастого коропів, найвищим – в амурського сазана, проте міжгрупові різниці не становили вірогідних відмінностей (рис. 2).

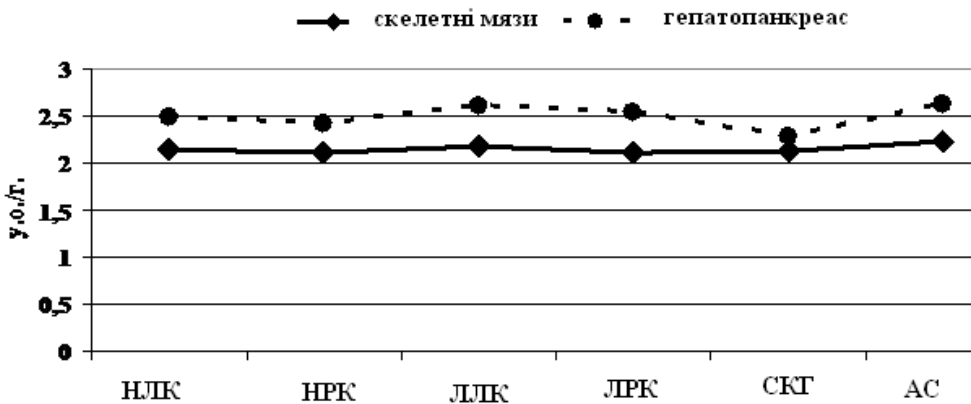


Рис. 2. Вміст гідроперекисів ліпідів у тканинах дволіток коропів різного генезу ( $M \pm m$ ,  $n = 6$ )

Крім того, за вмістом даного продукту перекисного окиснення як у тканині гепатопанкреасу, так і в скелетних м'язах спостерігається вірогідне зростання його в групах лускатих коропів несвицького зонального та любінського внутрішньопородного типів, порівняно з рамчастими ( $P < 0,001$ ). У тканині скелетних м'язів найнижчим відносно усіх досліджуваних груп риб вміст МДА



спостерігався у групі коропо-сазанового гібриду, найвищим – у амурського сазана ( $P < 0,001$ ). Щодо тканини гепатопанкреасу, то найнижчим вміст малонового діальдегіду був у групі НРК, і становив 2,46 нмоль/г, а найвищим значенням даного показника характеризувалася група ЛЛК (2,86 нмоль/г). Очевидно, такі розбіжності у напрямку зростання у обидвох тканинах піддослідних груп риб можуть бути спричинені різним рівнем їх адаптаційних можливостей та інтенсивністю метаболічних процесів з одного боку, та впливом зовнішніх факторів — з іншого. Відомо, що власне малоновий діальдегід є одним з найбільш небезпечних продуктів ліпопероксидації і часто використовується як біомаркер якості середовища утримання гідробіонтів, оскільки його вміст надзвичайно чутливий як до зміни кисневого режиму та гідрохімічного складу водойм, так і до забруднення останніх. В тканині гепатопанкреасу значення даного показника зростало, порівняно із тканиною скелетних м'язів, проте не демонструвало міжгрупових вірогідних відмінностей. На нашу думку, такий результат за вмістом гідроперекисів ліпідів у тканинах риб може бути зумовлений тим, що на енергетичні та пластичні затрати на момент вилову риби використовували жирні кислоти природної та штучної кормової бази, а не власні.

Перекисне окиснення ліпідів є однією з форм клітинного дихання [3, 7]. Вільнорадикальне окиснення може активізуватися в несприятливій екологічній ситуації, а також при багатьох захворюваннях [5 – 7, 15 – 19]. Надмірна активація процесів перекисного окиснення ліпідів може спричинити порушення структури мембран, ліпідного обміну, здійснює токсичний вплив на тканини, сприяє посиленню лізису, окисненню сульфгідрильних груп білків і призводить до розвитку структурних змін при захворюваннях [3, 7, 13, 15]. Регуляція стаціонарної концентрації перекисів ліпідів в біологічних мембранах здійснюється внаслідок збалансованої взаємодії реакцій утворення цих продуктів — реакцій оксидації, а також механізмів контролю, які ведуть до пригнічення їх утворення, — реакцій антиоксидації [1, 11].

В результаті проведеного аналізу нами встановлено чітку видову специфічність розподілу вмісту дієнових кон'югатів у скелетних м'язах досліджуваних груп риб (рис. 3).

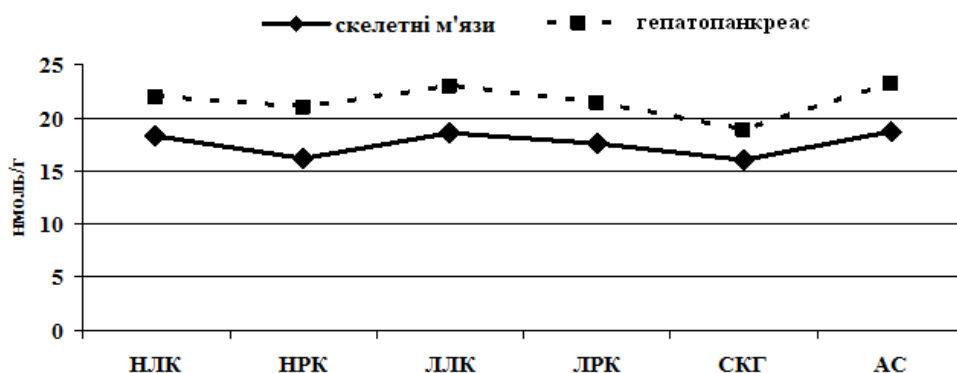


Рис. 3. Вміст дієнових кон'югатів у тканинах дволітків коропів різного генезу ( $M \pm m, n = 6$ )

Так, найвищим вміст дієнових кон'югатів спостерігався у групі амурського сазана, що може свідчити про вищу інтенсивність перебігу вільнорадикальних



процесів в його організмі. Також встановлено залежність інтенсивності перебігу перекисного окиснення ліпідів від лускового покриву. Зокрема, спостерігається вищий вміст дієнових кон'югатів у лускатої форми порівняно із рамчастою у коропів як несвицького зонального, так і любінського внутрішньопородного типів ( $P < 0,001$  та  $P < 0,01$  відповідно). Найнижчим вміст дієнових кон'югатів був у скелетних м'язах особин коропо-сазанового гібрида, що свідчить про вплив гібридизації на підвищення рівня фізіолого-біохімічних процесів в організмі риб (рис. 3). Встановлено, що ініціація вільнорадикального окиснення та утворення його продуктів є індивідуальною як для кожної з досліджуваних груп риб, так і для кожної з тканин. Зокрема, з одержаних результатів видно, що вміст дієнових кон'югатів практично у всіх досліджуваних груп риб вірогідно зростає у тканині печінки, порівняно із скелетними м'язами ( $0,01 < P < 0,001$ ; рис. 3).

Наші експериментально одержані результати підтверджують думки інших дослідників у тому, що на інтенсивність перебігу вільнорадикальних реакцій в організмі риб впливають чинники як ендогенного, так і екзогенного характеру [1, 6, 14]. Зокрема, на розвиток вільнорадикального перекисного окиснення ліпідів та стан системи антиоксидантного захисту організму риб впливає температура, гідростатичний тиск, хімічний склад води, насиченість її киснем тощо [1 – 2, 6, 12, 14]. Саме мінливість вищезгадуваних показників могла спричинити окремі розбіжності у вмісті МДА, ГПЛ та ДК в обох тканинах шести піддослідних груп риб. У подібних дослідженнях необхідно враховувати постійний вплив антропогенного навантаження, господарської чи іншої діяльності, яка може спричинити забруднення водного середовища, що, у свою чергу, служитиме поштовхом до посиленої генерації активних форм кисню в організмі гідробіонтів [1, 5, 7].

В результаті це може стати причиною окисної деструкції біомолекул. Пристосування до дії таких деструктивних чинників тісно пов'язане з активацією синтезу антистресорних білків та систем захисту організму [2, 7]. Саме тому ряд дослідників розглядають продукти вільнорадикального окиснення як біомаркери забруднення водного середовища з одного боку [28], та біомаркери ушкодження тканин — з іншого [7, 24].

## ВИСНОВКИ ТА ПЕРСПЕКТИВИ ПОДАЛЬШОГО РОЗВИТКУ

Встановлено, що ініціація ліпопероксидації та утворення продуктів вільнорадикального окиснення є індивідуальною як для кожної з досліджуваних груп риб, так і для кожної з тканин.

Доволі невисокий вміст ТБК-активних продуктів у тканинах скелетних м'язів та гепатопанкреасу усіх досліджуваних груп риб свідчить про збалансованість вільнорадикальних процесів на оптимальному рівні та зумовлений сезоном відбору зразків тканин, оскільки в кінці вегетаційного періоду вирощування за нормальних умов рівень продуктів ліпопероксидації у тканинах організму риб знаходиться на найнижчому рівні. Практично однаковий діапазон інтенсивності утворення гідроперекисів ліпідів у тканинах шести досліджуваних груп риб з чітко вираженою тканинною специфічністю насамперед зумовлений використанням ними на енергетичні та пластичні потреби жирних кислот природної та штучної кормової бази, а не власного організму.

Стан оксидативно-антиоксидантного гомеостазу виступає критерієм визначення ступеню впливу на організм факторів ендогенного та екзогенного



характеру. Його оцінка дозволяє охарактеризувати функціональний стан організму, а також виявити початкові, ще оборотні стадії багатьох захворювань. У зв'язку з впливом гіпоксії та ряду екзогенних факторів на перебіг процесів дихання, а таким чином і на ріст та розвиток організму риб, актуальним є дослідження біохімічних механізмів адаптації організму риб до таких екстремальних факторів оточуючого середовища. Тому доцільно провести порівняльний аналіз інтенсивності перебігу вільнорадикальних процесів в організмі коропів у різні періоди вирощування.

### ЛІТЕРАТУРА

1. Martinez-Alvarez R. Antioxidant defenses in fish: Biotic and abiotic factors / R. Martinez-Alvarez, A. Morales, A. Sanz // *Fish Biology and Fisheries*. — 2005. — Vol. 15. — P. 75—88.
2. Особа І. А. Особливості функціонування системи антиоксидантного захисту організму / І. А. Особа // *Рибогосподарська наука України*. — 2009. — № 1. — С. 133—139.
3. Курський М. Д. Біомембранологія / М. Д. Курський, С. М. Кучеренко. — К. : Вища школа, 1993. — С. 231—246.
4. Сибірна Н. О. Дослідження окремих біохімічних показників за умов оксидативного стресу / Сибірна Н. О., Маєвська О. М., Барська М. Л. — Львів : Видавничий центр ЛНУ ім. Івана Франка, 2006. — 60 с.
5. Данчук В. В. Пероксидне окиснення у сільськогосподарських тварин і птиці / Данчук В. В. — Кам'янець-Подільський : АБЕТКА, 2006. — 190 с.
6. Грициняк І. І. Обмін ліпідів у риб / Грициняк І. І., Смолянінов К. Б., Янович В. Г. — Львів : Тріада плюс, 2010. — 336 с.
7. Особа І. А. Біологічна роль перекисного окиснення ліпідів у забезпеченні функціонування організму риб / І. А. Особа // *Рибогосподарська наука України*. — 2013. — № 1. — С. 87—96.
8. Role of redox metabolism for adaptation of aquatic animals to drastic changes in oxygen availability / A. F. Welker, D. C. Moreira, E. G. Campos [et al.] // *Comp. Biochem. Physiol. A, Mol. Integr. Physiol.* — 2013. — Vol. 165 (4). — P. 384—404.
9. Joyner-Matos J. Persisting in papyrus: Size, oxidative stress, and fitness in freshwater organisms adapted to sustained hypoxia [Electronic resource] / J. Joyner-Matos, L. J. Chapman // *Comp. Biochem. Physiol. A*. — 2013. — Access mode: [dx.doi.org/10.1016/j.cbpa.2013.03.032](https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2013.03.032).
10. Jia X. Low levels of cadmium exposure induce DNA damage and oxidative stress in the liver of Oujiang colored common carp *Cyprinus carpio* var. color. / X. Jia, L.X. Zhang // *Fish Physiol. Biochem.* — 2011. — Vol. 37. — P. 97—103.
11. Владимиров Ю. А. Свободные радикалы в биологических системах / Ю. А. Владимиров // *Сорос. образ. журнал*. — 2000. — № 12. — С. 13—19.
12. Грубинко В. В. Перекисное окисление липидов и антиоксидантная защита у рыб / В. В. Грубинко, Ю. В. Леус // *Гидробиолог. журн.* — 2001. — Т. 37, № 1. — С. 64—78.
13. Лушак В. І. Показники оксидативного стресу. 2. Пероксиди ліпідів / В. І. Лушак, Т. В. Багнюкова, Л. І. Лужна // *Укр. біохім. журнал*. — 2006. — Т. 78, № 5. — С. 113—119.
14. Winston G. W. Oxidant and antioxidant in aquatic animals / G. W. Winston //



- Comp. Biochem. Physiol. C. — 1991. — Vol. 100, № 1—2. — P. 173—176.
15. Storey K. B. Oxidative stress: animal adaptations in nature / K. B. Storey // *Braz. J. Med. Biol. Res.* — 1996. — Vol. 29, № 12. — P. 1715—1733.
  16. Oxidative stress and antioxidant defenses in goldfish *Carassius auratus* during anoxia and reoxygenation / V. I. Lushchak, L. P. Lushchak, A. A. Mota [et al.] // *Am. J. Physiol. Regulatory Integrative Comp. Physiol.* — 2001. — Vol. 280. — P. 100—107.
  17. Deb N. Chlorpyrifos Toxicity in Fish: A Review / N. Deb, S. Das // *Curr. World Environ.* — 2013. — Vol. 8, № 1. — P. 77—84.
  18. Aluminum-induced oxidative stress and neurotoxicity in grass carp (*Cyprinidae-Ctenopharingodon idella*) / M. L. Fernandez-Davila, A. C. Razo-Estrada, S. Garcia-Medina [et al.] // *Ecotoxicol. Environ. Saf.* — 2011. — P. 1—6.
  19. Mahboob S. Environmental pollution of heavy metals as a cause of oxidative stress in fish: a review / S. Mahboob // *Life Science Journ.* — 2013. — Vol. 10 (10s). — P. 336—347.
  20. Isaksson C. The challenges of integrating oxidative stress into life-history biology / C. Isaksson, B. C. Sheldon, T. Uller // *BioScience.* — 2011. — Vol. 61, № 3 — P. 194—202.
  21. Sedeno-Diaz J. E. Freshwater Fish as Sentinel Organisms: From the Molecular to the Population Level, a Review / J. E. Sedeno-Diaz, E. Lypez-Lopez // *New Advances and Contributions to Fish Biology.* — 2013. — P. 151—173.
  22. Житенева Л. Д. Экологические закономерности ихтиогематологии / Житенева Л. Д. — Ростов-на-Дону : АЗНИИРХ, 2000. — 56 с.
  23. Олексюк Н. П. Вплив сезону на перекисне окиснення ліпідів у тканинах ставкових риб / Н. П. Олексюк, В. Г. Янович // *Біологія тварин.* — 2003. — Т. 5, № 1, 2. — С. 180—183.
  24. Шахматова О. А. Активность антиоксидантной системы личинок рыб как показатель качества морской среды / О. А. Шахматова // *Экология моря* — 2001. — Вып. 59. — С. 48—50.
  25. Коробейникова С. Н. Модификация определения продуктов ПОЛ в реакции с ТБК / С. Н. Коробейникова // *Лабор. дело.* — 1989. — № 7. — С. 8—9.
  26. А. с. 1084681 СССР, МКУ, 33/48. Способ определения гидроперекисей липидов в биологических тканях / В. В. Мирончик (СССР). — 1984.
  27. Стальная И. Д. Метод определения диеновой конъюгации ненасыщенных жирных кислот / И. Д. Стальная. — М. : Медицина, 1997. — 68 с.
  28. Міщук О. Біохімічні маркери прісноводного двостулкового молюска *Anodonta cygnea* (*Unionidae*) за умов переселення / О. Міщук // *Вісник Львів. ун-ту. Серія біологічна.* — 2008. — Вип. 47. — С. 96—103.

## REFERENCES

1. Martinez-Alvarez, R., Morales, A. & Sanz, A. (2005). Antioxidant defenses in fish: Biotic and abiotic factors. *Fish Biology and Fisheries*, 15, 75–88.
2. Osoba, I. A. (2009). Osoblyvosti funktsionuvannya systemy antyoksydantnoho zakhystu orhanizmu. *Rybogospodars'ka nauka Ukrayiny*, 1, 133–139.
3. Kurs'kyu, M. D. & Kucherenko, S. M. (1993). *Biomembranologia*. Kyiv: Vyshcha shkola, 231–246.
4. Sybirna, N. O., Mayevs'ka, O. M. & Bars'ka, M. L. (2006). *Doslidzhennya okremykh biokhimichnykh pokaznykiv za umov oksydatyvnoho stresu*. L'viv: Vydavnychy tsestr LNU im. Ivana Franka.





5. Danchuk, V. V. (2006). *Peroksydne okysnennya u sil'skohospodars'kykh tvaryn i ptytsi*. Kam'yanets'-Podil's'kyu: ABETKA.
6. Hrytsynyak, I. I., Smolyaninov, K. B. & Yanovych, V. G. (2010). *Obmin lipidiv u ryb*. Lviv: Triada plyus.
7. Osoba, I. A. (2013). Biologichna rol' perekysnoho okysnennya lipidiv u zabezpechenni funkcionuvannya orhanizmu ryb. *Rybohospodars'ka nauka Ukrayiny*, 1, 87–96.
8. Welker, A. F., Moreira, D. C., Campos, E. G. & Hermes-Lima, M. (2013). Role of redox metabolism for adaptation of aquatic animals to drastic changes in oxygen availability. *Comp. Biochem. Physiol. A, Mol. Integr. Physiol.*, 165 (4), 384–404.
9. Joyner-Matos, J. & Chapman, L. J. (2013). Persisting in papyrus: Size, oxidative stress, and fitness in freshwater organisms adapted to sustained hypoxia. *Comp. Biochem. Physiol. A*. Retrieved from website:x.doi.org/10.1016/j.cbpa.2013.03.032.
10. Jia, X., & Zhang, L. X. (2011). Low levels of cadmium exposure induce DNA damage and oxidative stress in the liver of Oujiang colored common carp *Cyprinus carpio* var. color. *Fish Physiology. Biochem.*, 37, 97–103.
11. Vladimirov, Ju.A. (2000). Svobodnye radikaly v biologicheskikh sistemah. *Soros. obraz. zhurnal*, 12, 13–19.
12. Grubinko, V. V. & Leus, Ju. V. (2001). Perekisne okislenie lipidov i antioksidantnaja zashhita u ryb. *Gidrobiolog. zhurn.* 37, 1, 64–78.
13. Lushchak, V. I., Bagnjukova, T. V. & Luzhna, L. I. (2006). Pokaznyky oksydatyvnoho stresu. 2. Peroksydy lipidiv. *Ukr. biohim. zhurn.*, 78(5), 113–119.
14. Winston, G. W. (1991). Oxidant and antioxidant in aquatic animals. *Comp. Biochem. Physiol. C*. V. 100, 1–2, 173–176.
15. Storey, K.B. (1996). Oxidative stress: animal adaptations in nature. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, 29, 12. 1715–1733.
16. Lushchak, V. I., Lushchak, L. P., Mota, A. A. et al. (2001). Oxidative stress and antioxidant defenses in goldfish *Carassius auratus* during anoxia and reoxygenation. *Am. J. Physiol. Regulatory Integrative Comp. Physiol.*, 280, 100–107.
17. Deb, N. & Das, S. (2013). Chlorpyrifos Toxicity in Fish: A Review. *Curr. World Environ.*, 8 (1), 77–84.
18. Fernandez-Davila, M. L., Razo-Estradaa, A. C., Garcia-Medina, S. et al. (2011). Aluminum-induced oxidative stress and neurotoxicity in grass carp (*Cyprinidae-Ctenopharingodon idella*). *Ecotoxicol. Environ.*, 1–6.
19. Mahboob, S. (2013). Environmental pollution of heavy metals as a cause of oxidative stress in fish: a review. *Life Science Journ*, 10 (10s), 336–347.
20. Isaksson C., Sheldon B. C. & Uller T. (2011). The challenges of integrating oxidative stress into life-history biology. *BioScience*, 61, 3, 194–202.
21. Sedeno-Diaz, J. E. & Lypez-Lypez, E. (2013). Freshwater Fish as Sentinel Organisms: From the Molecular to the Population Level, a Review. *New Advances and Contributions to Fish Biology*, 151–173.
22. Zhiteneva, L. D. (2000). *Jekologicheskie zakonomernosti ihtiogematologii*. Rosrova-Donu.
23. Oleksyuk, N. P. & Yanovych, V. G. (2003). Vplyv sezonu na perekysne okysnennya lipidiv u tkanynakh stavkovykh ryb. *Biologhia tvaryn*, 5(1, 2), 180–183.
24. Shahmatova, O. A. (2001). Aktivnost' antioksidantnoj sistemy lichinok ryb kak pokazatel' kachestva morskoy sredy. *Jekologija morja*, 59, 48–50.



25. Korobejnikova, C. N. (1989). Modifikacija opredelenija produktov POL v reakcii s TBK. *Labor. delo*, 7, 8–9.
26. Mironchik, V. V. (1984). *Sposob opredelenija gidroperekisej lipidov v biologicheskikh tkanjah*. SSSR, MKUI, 33/48.
27. Stal'naja, I. D. (1997). Metod opredelenija dienovoj kon'jugacii nenasyshennyh zhirnyh kislot. Moskva: Medicina.
28. Mishchuk, O. (2008). Biokhimichni markery prisnovodnoho dvostulkovoho molyuska *Anodonta cygnea* (Unionidae) za umov pereselennya. *Visnyk L'viv. un-tu. Seriya biolohichna*, 47, 96–103.

## АНАЛИЗ ИНТЕНСИВНОСТИ ТЕЧЕНИЯ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ В ТКАНЯХ ГЕПАТОПАНКРЕАСА И СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦ ДВУХЛЕТОК КАРПОВ РАЗНОГО ГЕНЕЗА

І.А. Особа, [iryna\\_osoba@ukr.net](mailto:iryna_osoba@ukr.net), Інститут рибного господарства НААН, г. Київ

**Цель.** Провести определение содержания отдельных продуктов перекисного окисления липидов в тканях гепатопанкреаса и скелетных мышц двухлеток карпов разного происхождения.

**Методика.** Определение содержания продуктов свободнорадикального окисления липидов в тканях гепатопанкреаса и скелетных мышц карпов проводили путем спектрофотометрического анализа. В частности, содержание малонового диальдегида определяли по реакции с тиобарбитуровой кислотой, которая при высокой температуре в кислой среде протекает с образованием цветного триметинового комплекса. Интенсивность образования гидроперекисей липидов определяли после осаждения белков раствором трихлоруксусной кислоты и экстракцией липидов этанолом с последующим взаимодействием исследуемых экстрактов тиоцианатом аммония. Для определения содержания диеновых конъюгатов в тканях использовали метод, в основе которого лежит создание системы сопряженных двойных связей, что сопровождается появлением нового максимума поглощения в диапазоне спектра  $\lambda_{max} = 233$  нм.

**Результаты.** В результате проведенных исследований установлено, что содержание МДА в скелетных мышцах двухлеток чешуйчатых и рамчатых карпов несвичского зонального типа достоверно ниже по сравнению с таковым в скелетных мышцах амурского сазана, и повышается относительно группы сазано-карпового гибрида. Отмечен рост содержания диеновых конъюгатов в скелетных мышцах чешуйчатых несвичских и любенских карпов, по сравнению с рамчатыми. Показана тканевая специфичность накопления содержания отдельных продуктов свободнорадикального перекисного окисления липидов в подопытных группах рыб.

**Научная новизна.** Впервые проведен сравнительный анализ содержания отдельных продуктов свободнорадикального окисления в тканях двухлеток чешуйчатых и рамчатых карпов несвичского зонального и любенского внутривидового типов вместе с группами амурского сазана и сазано-карпового гибрида. Охарактеризованы факторы обеспечения такой интенсивности процессов липопероксидации в тканях двухлеток исследуемых групп рыб.

**Практическая значимость.** Сравнительный анализ протекания процессов свободнорадикального окисления четко отображает уровень отдельных адаптационных возможностей различных породных групп рыб. Результаты данных исследований можно использовать для контроля физиологического состояния выращиваемой рыбы и как качественный критерий уровня хозяйствования, а также для улучшения последнего из сведением к минимуму риска возникновения оксидативного стресса в организме выращиваемой рыбы.

**Ключевые слова:** карпы различного генеза, свободные радикалы, перекисное окисление липидов, малоновый диальдегид, гидроперекиси липидов, диеновые конъюгаты.



## THE ANALYSIS OF THE FLOW INTENSITY OF FREE-RADICAL PROCESSES IN HEPATOPANCREAS TISSUES OF AND SKELETAL MUSCLES OF AGE-2 CARP OF DIFFERENT GENESIS

I. Osoba, [iryna\\_osoba@ukr.net](mailto:iryna_osoba@ukr.net), Institute of Fisheries NAAS, Kyiv

**Purpose.** To perform determination of the content of individual lipid peroxidation products in hepatopancreas tissues and skeletal muscle of carp of different genesis.

**Methods.** Determination of free radical products of lipid peroxidation in hepatopancreas tissues of and skeletal muscle of carp was performed by spectrophotometric analysis. In particular, the content of malondialdehyde was determined by reaction with thiobarbituric acid, which at high a temperature in acidic medium proceeds with the formation of colored trimethine complex. The intensity of the formation of lipid hydroperoxides was determined after precipitation of proteins by a solution of trichloroacetic acid and lipid extraction by ethanol with following interaction of the studied extracts of ammonium thiocyanate. To determine the content of diene conjugates in tissues, we used a method, which is based on the formation of conjugated double bonds accompanied by the appearance of a new absorption maximum in the spectrum range of  $\lambda_{max} = 233 \text{ nm}$ .

**The results.** As a result of the studies it was found that the content of malondialdehyde in skeletal muscle of two-year scaly and framed carp of Nesvich zonal type is likely lower in comparison with that of skeletal muscle of Amur wild carp and the carp hybrid grows relatively group - hybrid carp. It was marked the growth in the content of diene conjugates in skeletal muscle of Lyubin Nesvich scaly carp compared to framed ones. It was shown the tissue specificity savings to individual products of lipid peroxidation in experimental groups of fish.

**The scientific novelty.** For the first time, a comparative analysis of the contents of individual products of free radical oxidation in tissues of age-2 scaly carp and framed Nesvich zonal and Lyubin interbreed type with groups such as the Amur wild carp and carp hybrid has been performed. Factors providing such intensity of lipid peroxidation processes in tissues of the studied age-2 groups of fish have been characterized.

**The practical significance.** Comparative analysis of the course of free radical peroxidation processes clearly reflects the level of individual adaptive capacities of different groups of fish. The results of these studies can be used to monitor the physiological state of raised fish as a quality criterion of management level. And also for the improvement of the latter to minimize the risk of oxidative stress in the organism of raised fish.

**Keywords:** carp of various genesis, free radicals, lipid peroxidation, malonic dialdehyde, lipid hydroperoxides, diene conjugates.