

---

---

# ФІЗІОЛОГІЯ ТА БІОХІМІЯ РИБ

---

---

УДК 639.371.52:597-1.05

## ПОРІВНЯЛЬНИЙ АНАЛІЗ СТАНУ СИСТЕМИ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ ТА ВМІСТУ ПРОДУКТІВ ПЕРОКСИДНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ У ТКАНИНАХ УКРАЇНСЬКИХ ЛУСКАТИХ І РАМЧАСТИХ КОРОПІВ

Т.А. Нагорнюк, С.І. Тарасюк

Інститут рибного господарства НААН України

---

*Наведено результати досліджень активності супероксиддисмутази, каталази і глутатіонпероксидази та вмісту малонового діальдегіду і концентрації дієнових кон'югатів у печінці, крові, міокарді, м'язах і зябрах лускатих і рамчастих коропів антонінсько-зозуленецького внутріпородного типу. Висока активність антиоксидантних ферментів у м'язах рамчастого коропа зумовлена інтенсивністю перебігу метаболічних процесів.*

---

---

У процесах адаптації організму до умов навколишнього середовища значну роль відіграє система антиоксидантного захисту [1]. До антиоксидантної системи захисту клітини відносять такі захисні ферменти, як супероксиддисмутаза, каталаза, глутатіонпероксидаза. Їх дія спрямована на зменшення концентрації цитотоксичних гідроксильних радикалів. За нормальних умов у тваринному організмі вміст ферментативних антиоксидантів є постійним і мало залежить від різних фізіологічних параметрів, проте є видоспецифічним, крім того, патологічні процеси можуть значно змінювати концентрацію і активність ферментативних компонентів антиоксидантного захисту.

Відомо, що у риб в умовах зимового голодування активуються процеси пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ), що супроводжується окисненням органічних сполук та утворенням токсичних для організму риб пероксидних продуктів. Це зумовлює необхідність підтримання високого рівня активності систем антиоксидантного захисту (АОЗ) організму, порушення функціонування яких може призвести до негативних змін структурно-функціональних властивостей біо-

мембран та значного ураження клітин відповідних тканин та органів [2]. Уникнути таких небажаних наслідків можна шляхом своєчасного блокування пускового механізму патології, тобто зниження інтенсивності процесів пероксидного окиснення ліпідів у організмі за допомогою антиоксидантів, які запобігають утворенню вільних радикалів, здатних пошкоджувати клітину [3].

Система антиоксидантного захисту, яка поділяється на ферментативну та неферментативну ланки, здійснює протидію деструктивній біологічній дії вільнорадикальних процесів у тканинах тварин [4]. Ферментативну ланку складають супероксиддисмутаза, глутатіонпероксидаза і каталаза, неферментативну — природні антиоксиданти, найбільш активними з яких є вітаміни А, С, Е та каротиноїди [5]. У літературі наведено дані щодо активності ключових ферментів системи антиоксидантного захисту у різних груп прісноводних риб [6–9], тоді як даних про особливості функціонування системи АОЗ у коропів антонінсько-зозуленецького внутріпородного типу, які є ядром українських порід, у літературі недостатньо. Саме тому метою даної роботи було дослідження фізіологічних особливостей

функціонування ферментативної ланки системи АОЗ та інтенсивності процесів ПОЛ у тканинах українських лускатих і рамчастих коропів цього типу.

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Дослідний матеріал був відібраний у весняний період 2010 р. із ставів ВАТ “Хмельницькрибгосп”. У дослідженнях використано зразки печінки, міокарду, крові, м’язів та зябер дворічок лускатих (n=5) і рамчастих (n=5) коропів антонінсько-зозуленецького внутріпородного типу. Зразки тканин піддавали короткотривалому заморожуванню при  $-20^{\circ}\text{C}$ . У тканинах досліджували активність ферментів первинного антиоксидантного захисту (АОЗ) — супероксиддисмутази (СОД, К.Ф. 1.15.1.1) за методом, що ґрунтується на визначенні швидкості реакції окиснення кверцитину [10]; каталази (КАТ, К.Ф. 1.11.1.6), активність якої встановлювали за зменшенням у часі концентрації гідрогенпероксиду [11], а також глутатіонзалежної системи знешкодження пероксидних продуктів — глутатіонпероксидази (ГП, К.Ф. 1.11.1.9) [12]. Активність пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) оцінювали за вмістом у тканинах проміжних продуктів ПОЛ — дієнових кон’югатів (ДК) [13] та малонового діальдегіду (МДА) — кінцевого метаболіту ПОЛ [14]. Вміст білка визначали за Lowry [15]. Отримані дані опрацьовували статистично за допомогою програми Microsoft Excel.

### РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Отримані дані показують статистично вірогідні відмінності у функціонуванні системи АОЗ у різних тканинах між досліджуваними породами коропів.

Відомо, що СОД є ключовим ферментом антиоксидантної системи, який знешкоджує супероксидні аніон-радикали, перетворюючи їх на менш токсичний пероксид водню і кисень. Залежно від мікроелементу в активному центрі виділяють Fe-, Zn-, Cu- та Mn-залежну СОД, які виконують каталітичну дію, послідовно відновлюючись і окислюючись. Fe-залежна СОД

виявляється в еритроцитах, Zn-Cu-залежна — у цитоплазмі, а Mn-залежна СОД представлена у мітохондріях [16]. Підвищення вмісту цих мікроелементів у тканинах риб веде до зростання активності супероксиддисмутази.

Активність СОД у печінці, крові та зябрах лускатого коропа була достовірно вищою, ніж у відповідних тканинах та органах рамчастого коропа (рис. 1). У м’язах активність СОД була помітно вищою у рамчастого коропа порівняно з лускатим ( $P < 0,001$ ). З усіх досліджених тканин найвищою активність СОД у лускатого коропа була в зябрах ( $6591 \pm 173$  од. акт.  $\text{хв}^{-1} \text{мг}^{-1}$  білка), а у рамчастого коропа — в м’язах ( $5612 \pm 381,8$  од. акт.  $\text{хв}^{-1} \text{мг}^{-1}$  білка); найменша активність СОД у обох порід коропів спостерігалась в крові —  $1240 \pm 241$  од. акт.  $\text{хв}^{-1} \text{мг}^{-1}$  білка і  $2278 \pm 220,9$  од. акт.  $\text{хв}^{-1} \text{мг}^{-1}$  білка у рамчастого і лускатого коропів відповідно (див. рис. 1).

Активність каталази використовується як показник оцінки антирадикального захисту і резистентності організму, збільшення вмісту якої можна розглядати як пристосувальну реакцію організму у відповідь на посилення процесів ПОЛ.

Каталаза відновлює  $\text{H}_2\text{O}_2$  до води. Цей фермент міститься майже в усіх тканинах. Каталазна активність у лускатого

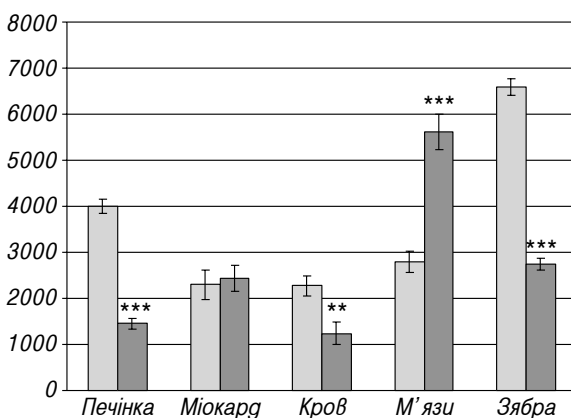


Рис. 1. Активність супероксиддисмутази (од. акт.  $\text{хв}^{-1} \text{мг}^{-1}$  білка) у тканинах лускатого і рамчастого коропів ( $M \pm m$ , n=5): □ — лускатий короп; ■ — рамчастий короп

Примітки. Тут і далі вірогідні різниці в досліджуваних показниках у тканинах коропа лускатого порівняно до коропа рамчастого: \* —  $P < 0,05$ ; \*\* —  $P < 0,01$ ; \*\*\* —  $P < 0,001$ .

коропа була достовірно вищою в печінці ( $P < 0,05$ ) і нижчою в м'язах ( $P < 0,001$ ) порівняно з активністю цього ферменту в цих тканинах рамчастого коропа (рис. 2). У лускатого коропа найвищою активність КАТ була в з'ябрах ( $21,6 \pm 2,6$  нмоль  $\text{H}_2\text{O}_2$   $\text{хв}^{-1}$   $\text{мг}^{-1}$  білка), а найменша активність виявлена в м'язах ( $4,9 \pm 0,76$  нмоль  $\text{H}_2\text{O}_2$   $\text{хв}^{-1}$   $\text{мг}^{-1}$  білка). У рамчастого коропа, навпаки, серед досліджених органів і тканин активність каталази була найвищою в м'язах ( $41,7 \pm 7,2$  нмоль  $\text{H}_2\text{O}_2$   $\text{хв}^{-1}$   $\text{мг}^{-1}$  білка), а найменш активною КАТ виявлялась в крові ( $7,1 \pm 0,8$  нмоль  $\text{H}_2\text{O}_2$   $\text{хв}^{-1}$   $\text{мг}^{-1}$  білка).

Глутатіонпероксидаза каталізує розклад гідропероксидів ліпідів нерадикальним шляхом за допомогою глутатіону від-

новленого. Активність ГП у рамчастого коропа була помітно вищою, ніж у лускатого в міокарді ( $P < 0,05$ ) та м'язах ( $P < 0,001$ ) (рис. 3). У лускатого коропа, порівняно з рамчастим, достовірно вищу активність ГП виявлено в крові та з'ябрах ( $P < 0,05$ ). З усіх досліджених органів і тканин у лускатого коропа найвища активність ГП наявна в крові ( $90,1 \pm 6,1$  мкмоль  $\text{GSH}$   $\text{хв}^{-1}$   $\text{мг}^{-1}$  білка), а у рамчастого коропа — в м'язах ( $369,0 \pm 23,0$  мкмоль  $\text{GSH}$   $\text{хв}^{-1}$   $\text{мг}^{-1}$  білка).

У досліджених порід найменша активність даного ферменту спостерігалась в печінці як у лускатого ( $35,7 \pm 11,7$  мкмоль  $\text{GSH}$   $\text{хв}^{-1}$   $\text{мг}^{-1}$  білка), так і у рамчастого ( $37,0 \pm 1,2$  мкмоль  $\text{GSH}$   $\text{хв}^{-1}$   $\text{мг}^{-1}$  білка) коропів.

Таким чином, саме у рамчастого коропа у м'язах всі ферменти системи АОЗ мають найвищу активність порівняно з іншими тканинами, що зумовлено інтенсивністю перебігу метаболічних процесів.

Пероксидне окиснення ліпідів є первинною реакцією в ланцюзі фізико-хімічних перетворень, які призводять до деструкції ліпопротеїдного комплексу мембран і порушують їх транспортні функції, а також пригнічують процеси генерації енергії, що в кінцевому результаті знижує життєдіяльність клітин. Малоновий діальдегід, що утворюється в процесі пероксидного окиснення ліпідів, є мутагеном і має виражену цитотоксичність. Окиснення ліпідних молекул під дією активних форм кисню призводить до незворотного пошкодження мембранних структур, порушення їх проникності та загибелі клітин [2].

Слід відмітити, що найбільший вміст МДА як у лускатого ( $59,9 \pm 5,8$  мкмоль/мг білка), так і у рамчастого ( $168,0 \pm 15,8$  мкмоль/мг білка) коропів виявлено в м'язах.

Встановлено, що вміст МДА у рамчастого коропа, порівняно із лускатим, був достовірно вищим у крові ( $98,3 \pm 8,5$  і  $27,2 \pm 3,5$  мкмоль/мг білка відповідно,  $P < 0,001$ ) та м'язах ( $168,0 \pm 15,8$  і  $59,9 \pm 5,8$  мкмоль/мг білка,  $P < 0,001$ ), а у лускатого коропа, порівняно із рамчастим, вміст

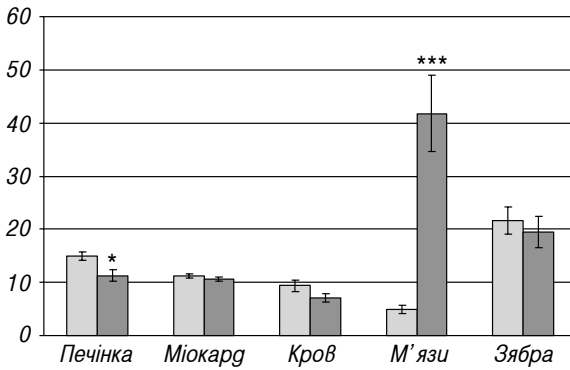


Рис. 2. Активність каталази (нмоль  $\text{H}_2\text{O}_2$   $\text{хв}^{-1}$   $\text{мг}^{-1}$  білка) у тканинах лускатого і рамчастого коропів ( $M \pm m$ ,  $n=5$ ): □ — лускатий короп; ■ — рамчастий короп

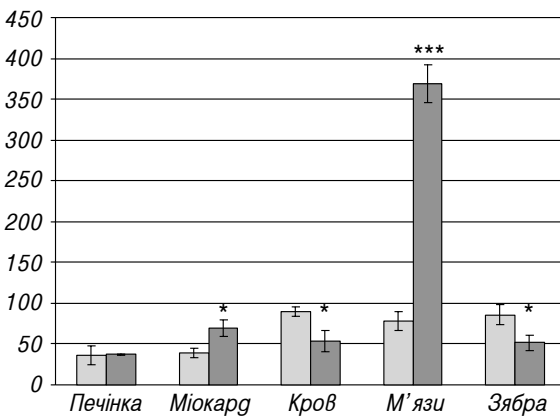


Рис. 3. Активність глутатіонпероксидази (мкмоль  $\text{GSH}$   $\text{хв}^{-1}$   $\text{мг}^{-1}$  білка) у тканинах лускатого і рамчастого коропів ( $M \pm m$ ,  $n=5$ ): □ — лускатий короп; ■ — рамчастий короп

МДА був вищим у печінці ( $42,0 \pm 3,35$  і  $8,8 \pm 0,53$  мкмоль/мг білка відповідно,  $P < 0,001$ ) та зябрах ( $83,7 \pm 7,0$  і  $13,6 \pm 1,2$  мкмоль/мг білка,  $P < 0,001$ ) (рис. 4).

За результатами досліджень встановлено, що у лускатого коропа, порівняно із рамчастим, концентрація дієнових кон'югатів була достовірно вищою у крові і печінці ( $P < 0,01$ ), а також у міокарді ( $P < 0,05$ ). Рамчастий короп переважав лускатого вищою концентрацією ДК у м'язах ( $P < 0,001$ ) та зябрах ( $P < 0,05$ ) (рис. 5). Слід відмітити, що у лускатого і рамчастого коропів із усіх досліджених тканин і органів найвища концентрація дієнових кон'югатів була в м'язах ( $1,14 \pm 0,14$  та  $6,5 \pm 1,5$  мкмоль/г тканини відповідно).

### ВИСНОВКИ

Результати досліджень свідчать про певну тканинну специфічність у досліджених груп антонінсько-зозуленецьких коропів. Функціональний стан системи антиоксидантного захисту у досліджених коропів характеризується породними особливостями. Встановлено тканинспецифічні зміни активності супероксиддисмутази залежно від породної приналежності: активність супероксиддисмутази відрізнялась значним коливанням у печінці, крові, м'язах та зябрах у лускатих і рамчастих коропів.

Встановлено також загальну закономірність стабільності активності каталази і глутатіонпероксидази у різних порід коропа, яка характерна практично для всіх досліджуваних тканин і органів, що може свідчити про їх ключову роль у загальній ланці ферментної системи антиоксидантного захисту. Найвищу активність ферментів системи АОЗ у досліджуваних тканинах рамчастого коропа антонінсько-зозуленецького типу

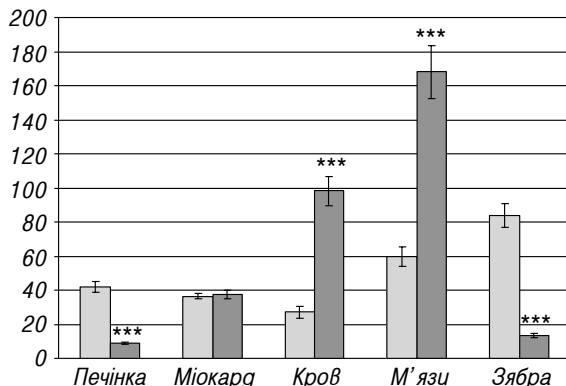


Рис. 4. Вміст малонового діальдегіда (мкмоль/мг білка) у тканинах лускатого і рамчастого коропів ( $M \pm m$ ,  $n = 5$ ): □ — лускатий короп; ■ — рамчастий короп

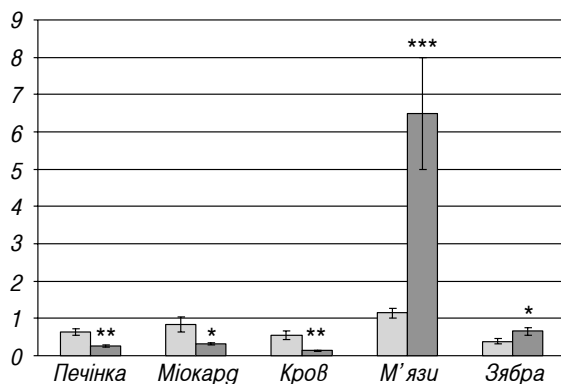


Рис. 5. Концентрація дієнових кон'югатів (мкмоль/г тканини) у тканинах, лускатого і рамчастого коропів ( $M \pm m$ ,  $n = 5$ ): □ — лускатий короп; ■ — рамчастий короп

виявлено в м'язах, тоді як в тканинах лускатого коропа — у зябрах.

Таким чином, отримано дані, що дозволяють розглядати систему антиоксидантного захисту як важливий механізм формування стійкості до зовнішніх впливів. Результати дослідження вказують на те, що участь системи АОЗ у цілому або окремих її компонентів в адаптаційних процесах, а також успішність її роботи багато в чому визначається породспецифічними особливостями.

### ЛІТЕРАТУРА

1. Журавлев А.И. Антиокислители / А.И. Журавлев — М.: Наука, 1975. — 3-е изд. — Т. 2. — С. 33–35.
2. Владимирюв Ю.А. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах / Ю.А. Владимирюв, Р.М. Арчаков — М.: Наука, 1972. — 257 с.

3. Потрохов А.С. Новый антистрессовый препарат глициланид и методика его применения в рыбководстве / А.С. Потрохов, О.Г. Зиньковский // Гидробиол. журн. — 2000. — Т. 36, № 2. — С. 41–46.
4. Дубинина Е.Е. Антиоксидантная система плазмы крови / Е.Е. Дубинина // Укр. биохим. журн. — 1992. — Т. 64, № 2. — С. 3–15.
5. Данчук В.В. Пероксидне окиснення у сільськогосподарських тварин і птиці / В.В. Данчук. — Кам'янець-Подільський: "АБЕТКА", 2006. — 190 с.
6. Олексюк Н.П. Вплив сезону на активність антиоксидантних ферментів у тканинах коропа / Н.П. Олексюк, В.Г. Янович // Біологія тварин. — 2006. — Т. 8, № 1–2. — С. 145–148.
7. Олексюк Н.П. Вплив сезону на активність системи антиоксидантного захисту в печінці і скелетних м'язах товстолобика / Н.П. Олексюк, В.Г. Янович // Біологія тварин. — 2007. — Т. 9, № 1–2. — С. 123–126.
8. Крась С.І. Вікові особливості стану системи антиоксидантного захисту у амурського сазана / С.І. Крась // Матеріали VIII наук.конф. молодих вчених та аспірантів, Чубинське, 13 травня 2010 р.: тези доп. — К.: Аграрна наука, 2010. — С. 37–38.
9. Олексюк Н.П. Вплив сезону на активність системи антиоксидантного захисту у печінці і скелетних м'язах білого амура / Н.П. Олексюк, Б.М. Куртяк, В.Г. Янович // Наук.-техн. бюл. Інституту біології тварин. — Львів, 2008. — Вып. 9, № 3. — С. 79–84.
10. Костюк В.А. Простой и чувствительный метод определения активности супероксиддисмутазы, основанный на реакции окисления кверцетина / В.А. Костюк, А.И. Потапович, Ж.И. Ковалева // Вопр. мед. химии. — 1990. — № 2. — С. 88–91.
11. Метод определения активности каталазы / М.А. Королюк, Л.И. Иванова, И.Г. Майорова [и др.] // Лаб. дело. — 1988. — № 1. — С. 16–18.
12. Моин В.М. Простой и специфический метод определения активности глутатионпероксидазы в эритроцитах / В.М. Моин // Лаб. дело. — 1986. — № 12. — С. 724–727.
13. Влізло В.В. Фізіолого-біохімічні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині / В.В. Влізло, Р.С. Федорук, І.А. Макара та ін. — Львів: ВМС, 2004. — 399 с.
14. Гаврилов В.Б. Анализ методов определения продуктов перекисного окисления липидов в сыворотке крови по тесту с тиобарбитуровой кислотой / В.Б. Гаврилов, Л.М. Мажуль // Вопр. мед. химии. — 1987. — Т. 33, № 1. — С. 118–122.
15. Protein measurement with the Folin phenol reagent / O.H. Lowry, N.I. Rosebroug, A.L. Farr, R.I. Randall // Journal of Biological Chemistry. — 1951. — Vol. 193, N 1. — P. 265–275.
16. Martines-Alvarez R.M. Antioxidant defenses in fish: biotic and abiotic factors / R.M. Martines-Alvarez, A.E. Morales, A. Sanz // Rev. Fish Biol. Fish. — 2005. — V. 15, № 1. — P. 75–88.

### **СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ СОСТОЯНИЯ СИСТЕМЫ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ И СОДЕРЖАНИЯ ПРОДУКТОВ ПОЛ В ТКАНЯХ УКРАИНСКИХ ЧЕШУЙЧАТЫХ И РАМЧАТЫХ КАРПОВ**

*Т.А. Нагорнюк, С.І. Тарасюк*

Представлены результаты исследований активности супероксиддисмутазы, каталазы и глутатионпероксидазы, а также содержания малонового диальдегида и концентрации диеновых конъюгатов в печени, крови, миокарде, мышцах и жабрах чешуйчатых и рамчатых карпов антонинско-зоуленецкого внутривидового типа. Высокая активность антиоксидантных ферментов в тканях рамчатого карпа обусловлена интенсивностью метаболических процессов.

### **A COMPARATIVE ANALYSIS OF THE ANTIOXIDANT PROTECTION SYSTEM STATE AND POL PRODUCT CONTENT IN TISSUES OF UKRAINIAN SCALED AND FRAMED CARPS**

*T. Nagornyuk, S. Tarasjuk*

There are presented study results on activity of superoxide mutase, catalase and glutathione peroxidase as well as the content of malone dialdehyde and dien conjugates in liver, blood, myocardium, muscles and gills of scaled and framed carps of Antoninsky-Zozulenets intrabreeding type. High activity of antioxidant enzymes of tissues of framed carp is caused by metabolism processes intensity.