

УДК 547.915: 639.215.2

ВПЛИВ КАДМІЮ НА ПРОЦЕС ПЕРОКСИДНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ І СТАН АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ В КЛІТИНАХ КРОВІ КОРОПА

Т. Багдай, н.с., В. Снітинський, д.б.н.

Львівський національний аграрний університет

Г. Антоняк, д.б.н.

Львівський національний університет імені Івана Франка

Постановка проблеми. Важлива екологічна проблема сьогодення – це забруднення водойм важкими металами, наслідками якого є погіршення умов життя гідробіонтів [2; 11; 16]. Тому актуальні дослідження впливу важких металів на метаболічні процеси в організмі коропа (*Cyprinus carpio* L.) – одного з прісноводних промислових видів риб. Зокрема необхідне з'ясування інтенсивності процесів пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) та активності ферментів антиоксидантної системи в клітинах коропа за різного рівня кадмію у водному середовищі.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Відомо, що важкі метали, як і низка інших забрудників води, можуть призводити до оксидативного пошкодження клітин гідробіонтів внаслідок стимуляції утворення вільних радикалів і процесів ПОЛ [7; 8; 11; 14; 16]. Внаслідок цього порушується рівновага між вмістом про- і антиоксидантів, що призводить до пошкодження життєвих функцій клітин.

Рівень процесів ПОЛ зазвичай оцінюють за вмістом продуктів, які реагують із тіобарбітуровою кислотою (ТБК-активні продукти). Останні утворюються внаслідок взаємодії оксидантів із фосфоліпідами клітинних мембран і ліпідами крові, а їх рівень безпосередньо пов'язаний зі ступенем окисних ушкоджень, спричинених забрудненням водного середовища [15].

Ферменти антиоксидантної системи, такі як супероксиддисмутаза (СОД, КФ 1.15.1.1), каталаза (КФ 1.11.1.16), глутатіонпероксидаза (КФ 1.11.1.9) і глутатіонредуктаза (КФ 1.6. 4.2), захищають організм риб від несприятливої дії активних форм кисню. У низці досліджень встановлено, що діяльність антиоксидантних ферментів може порушуватися під впливом важких металів, пестицидів, фенолів та інших поллютантів, що в підсумку призводить до різного ступеня оксидативного пошкодження клітин в організмі гідробіонтів [8; 14; 15].

Постановка завдання. Наше завдання – дослідити вміст ТБК-активних продуктів та активність супероксиддисмутази в плазмі крові коропа (*Cyprinus carpio* L.), а також супероксиддисмутаазу, каталазу, глутатіонпероксидазу й глутатіонредуктазу активність і вміст відновленого глутатіону (GSH) в

еритроцитах цього виду риб за наявності у воді кадмію в гранично допустимій концентрації (ГДК) та в концентраціях, що перевищують цей показник удвічі (2 ГДК) та в п'ять разів (5 ГДК).

Виклад основного матеріалу. Дослідження проводили на дворічних особинах коропа ($n=5$), вирощених у ставі Миколаївської рибо-меліоративної станції. Стандартний комбікорм отримували згідно з рекомендованими нормами. Перед дослідом риб виловлювали зі ставу й утримували впродовж трьох діб в акваріумах із відстояною водопровідною водою за стандартних гідрохімічних умов [7]. Після адаптації до умов утримання тварин поділили на чотири групи: контрольна (К) і три дослідні (Д1-Д3). У воду акваріумів, де утримували риб дослідних груп Д1, Д2 і Д3, вносили CdCl_2 з розрахунку концентрацій 0,01, 0,02 і 0,05 $\text{мг/дм}^3 \text{ Cd}^{2+}$, що становили відповідно ГДК, 2 ГДК і 5 ГДК щодо катіонів кадмію [1]. Особин контрольної групи утримували за звичайних умов акваріуму. Тривалість експерименту становила п'ять діб.

Для досліджень відбирали кров із хвостової вени тварин контрольної та дослідних груп. Плазму крові й еритроцити виділяли, застосовуючи стандартні методики [9]. У плазмі визначали концентрацію ТБК-активних продуктів [4] та супероксиддисмутазну активність [3]. У гемолізатах еритроцитів досліджували активність СОД [3], каталази [6], глутатіонпероксидази [5], глутатіонредуктази [12] та концентрацію відновленого глутатіону [13]. Вміст білка визначали методом Лоурі (1951). Методики з визначення активності ферментів і вмісту ТБК-активних продуктів були адаптовані до пойкилотермних тварин. Результати досліджень опрацьовували статистично.

Під час аналізу показників про- й антиоксидантних процесів в організмі риб контрольної та дослідних груп встановлено, що вміст ТБК-активних продуктів у плазмі крові значно зростає зі збільшенням концентрації Cd^{2+} у водному середовищі (рис. 1). Це свідчить про інтенсифікацію процесів пероксидного окиснення ліпідів у плазмі та клітинах. За наявності кадмію в гранично допустимій концентрації рівень утворення ТБК-активних продуктів на 35,7 % більший, ніж за фізіологічних умов ($p<0,01$), а за концентрації кадмію 2 і 5 ГДК цей показник зростає на 87,2 і 172,5 % ($p<0,001$). Супероксиддисмутазна активність плазми стабільна за наявності кадмію в концентраціях, що становлять ГДК і 2 ГДК, однак зростає на 24,7 % за п'ятиразового перевищення ГДК (5 ГДК) щодо вмісту катіонів цього металу в середовищі ($p<0,05$).

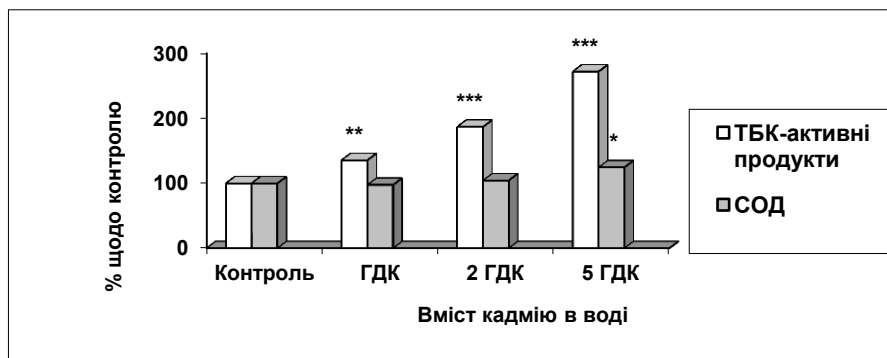


Рис. 1. Вміст ТБК-активних продуктів та супероксиддисмутазна активність (СОД) у плазмі крові коропа за різних концентрацій Cd^{2+} у воді (ГДК, 2 ГДК, 5 ГДК).

Примітка: на цьому й наступних рисунках *, **, *** – вірогідність різниць у показниках між контрольною і дослідними групами риб (* – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$).

Результати досліджень свідчать, що в еритроцитах риб дослідних груп змінюється активність антиоксидантних ферментів (супероксиддисмутаза, каталаза, глутатіонпероксидаза, глутатіонредуктаза) та концентрація відновленого глутатіону порівняно з контрольною групою тварин (рис. 2, 3). Однак динаміка зазначених показників та їх спроможність реагувати на збільшення вмісту кадмію у водному середовищі неоднакові. Зокрема супероксиддисмутазна активність зростає на 26,3 і 32 % за наявності Cd^{2+} у концентраціях відповідно 2 і 5 ГДК ($p < 0,05$) (рис. 2). Такі дані можуть свідчити про адаптаційні зміни синтезу молекул ферменту у відповідь на активацію процесів утворення вільних радикалів [10].

Активність каталази і глутатіонпероксидази – ферментів, які здійснюють детоксикацію утвореного за участю СОД пероксиду водню, в еритроцитах риб дослідних груп змінюється по-різному, а саме: динаміка каталазної активності подібна до змін активності супероксиддисмутази з вірогідним збільшенням за наявності 2 ГДК і 5 ГДК кадмію в середовищі ($p < 0,01-0,001$), а глутатіонпероксидаза, навпаки, інгібується за всіх досліджуваних концентрацій катіонів кадмію ($p < 0,05-0,001$) (рис. 2).

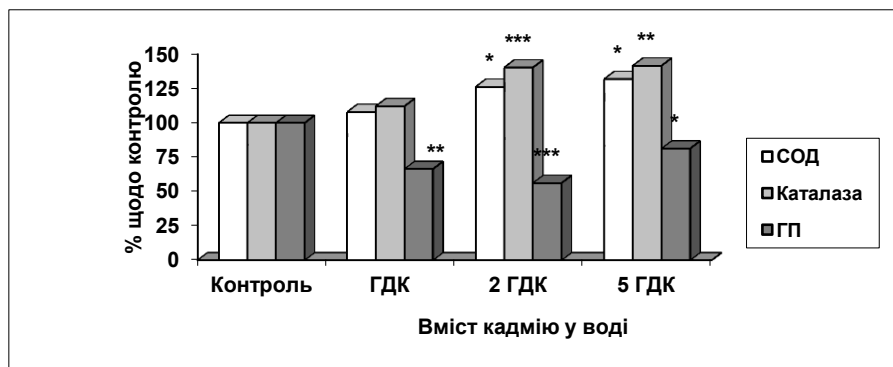


Рис. 2. Активність супероксиддисмутази (СОД), каталази і глутатіонпероксидази (ГП) в еритроцитах коропа за різних концентрацій Cd^{2+} у воді (ГДК, 2 ГДК, 5 ГДК).

Як відомо, інгібування глутатіонпероксидазної активності під впливом Cd^{2+} може зумовлюватися пригніченням відновлення глутатіону в глутатіонредуктазній реакції. У наших дослідженнях встановлено, що активність глутатіонредуктази знижується одночасно зі зменшенням концентрації GSH за концентрацій Cd^{2+} , що становить 2 ГДК і 5 ГДК ($p < 0,05-0,001$) (рис. 3). Найменших значень ці показники досягають за найбільших концентрацій кадмію у водному середовищі. Отже, на відміну від супероксиддисмутази й каталази, функціональна активність глутатіон-залежної ланки антиоксидантної системи в еритроцитах риб пригнічується під впливом кадмію.

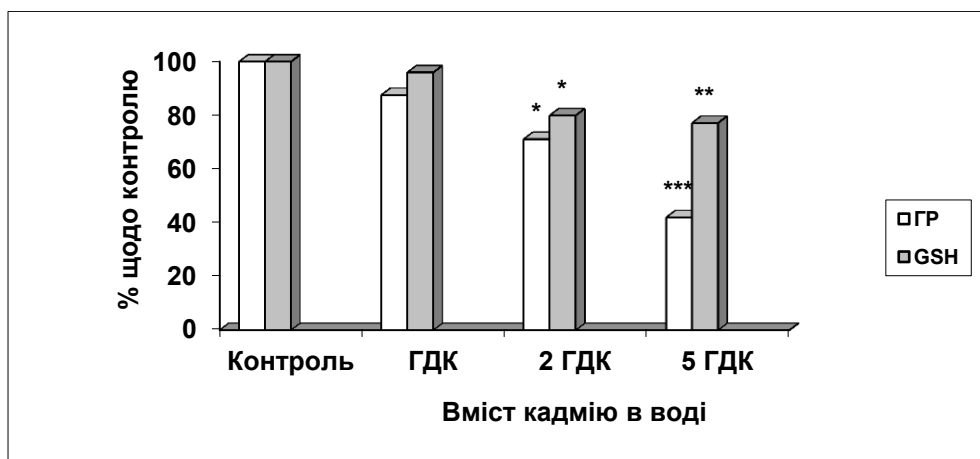


Рис. 3. Активність глутатіонредуктази (ГР) та вміст відновленого глутатіону (GSH) в еритроцитах коропа за різних концентрацій Cd^{2+} у воді (ГДК, 2 ГДК, 5 ГДК).

Висновки. Результати досліджень свідчать про активацію процесів пероксидного окиснення ліпідів та адаптаційні зміни ферментів антиоксидантної системи в еритроцитах коропа за умов збільшення вмісту катіонів кадмію у водному середовищі. Супероксиддисмутаза і каталазна активність зростає, активність глутатіонпероксидази і глутатіонредуктази інгібується під впливом кадмію, що супроводжується зменшенням вмісту відновленого глутатіону в досліджуваних клітинах. У плазмі крові риб дослідних груп збільшується концентрація ТБК-активних продуктів ПОЛ та активність супероксиддисмутази. Найвиразніші зміни в плазмі крові та еритроцитах здебільшого відбуваються в риб, яких утримували за вмісту Cd^{2+} , що в п'ять разів перевищував показник гранично допустимої концентрації (5 ГДК). Водночас отримані дані дають підставу вважати зазначені показники (вміст продуктів ПОЛ та активність ферментів антиоксидантної системи) важливими біологічними маркерами, які можна використовувати під час оцінки реакції організму риб на зміни екологічного стану водного середовища.

Бібліографічний список

1. Беспаятнов Г. П. Предельно допустимые концентрации химических веществ в окружающей среде : справочник / Г. П. Беспаятнов, Ю. А. Кротов. – Л. : Химия, 1985. – 304 с.
2. Бобровський А. Л. Екологія поверхневих вод / А. Л. Бобровський. – Рівне, 2005. – 319 с.
3. Дубинина Е. Е. Активность и изоферментный спектр супероксиддисмутазы эритроцитов и плазмы крови человека / Е. Е. Дубинина, Л. А. Сальникова, Л. Ф. Ефимова // Лабораторное дело. – 1983. – № 10. – С. 30–33.
4. Коробейников Е. Н. Модификация определения ПОЛ в реакции с ТБК / Е. Н. Коробейников // Лабораторное дело. – 1989. – № 7. – С. 8–9.
5. Моин В. М. Простой и специфический метод определения активности глутатионпероксидазы в эритроцитах / В. М. Моин // Лабораторное дело. – 1986. – № 12. – С. 724–727.
6. Орехович В. Н. Современные методы в биохимии / В. Н. Орехович. – М. : Медицина, 1977. – 391 с.
7. Ліпідний склад деяких тканин коропа за дії іонів кадмію / [Ю. І. Сенік, В. О. Хоменчук, Б. З. Ляврін та ін.] // Наукові записки Тернопільського національного педагогічного університету. Серія Біологічна, 2011. – № 2 (47). – С. 216–220.
8. Столяр О. Б. Вплив йонів міді і цинку на перекисне окиснення ліпідів і антиоксидантний статус в організмі коропа / О. Б. Столяр, Н. Г. Зінковська, В. В. Грубінко // Біологія тварин. – 1999. – Т. 1, № 2. – С. 84–89.
9. Сухомлинов Б. Ф. Структурные, функциональные и физико-химические свойства гемоглобинов форели *Salmo irideus* и вьюна *Misgurnus fossilis* / Б. Ф. Сухомлинов, М. Л. Забабурина, В. А. Васильева // Журнал эволюц. биохим. физиол. – 1990. – № 3. – С. 298–303.

10. Янковский О. Ю. Токсичность кислорода и биологические системы. Эволюционные, экологические и медико-биологические аспекты / О. Ю. Янковский. – СПб. : ИГРА, 2000. – 295 с.
11. Bergmeyer H. U. Methods of Enzymatic Analysis / H.U. Bergmeyer, M. Grassl // Florida-Basel. Verlag Chemie: Weinheim-Deerfield Beach. – 1983. – Vol. 3. – 500 p.
12. Ellman G. L. Tissue sulfhydryl groups / G. L. Ellman // Arch. Biochem. Biophys. – 1959. – Vol. 82. – P. 70–77.
13. Chronic toxicity of verapamil on juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) : effects on morphological indices, hematological parameters and antioxidant responses / J. Velisek, V. Zlabek [et al.] // J. Hazard. Mater. – 2011. – Vol. 185, N 2–3. – P. 870–880.
14. Hydroxyl radical production and oxidative damage induced by cadmium and naphthalene in liver of *Carassius auratus* / [H. Shi., Y. Sui, X. Wang, et al.] // Comp. Biochem. Physiol. – 2005. – Vol. 140. – P. 115–121.
15. Molecular biomarkers of oxidative stress in aquatic organisms in relation to toxic environmental pollutants / A. Valavanidis, T. Vlahogianni, M. Dassenakis, Scoullou M. // Ecotoxicol. Environ. Saf. – 2006. – Vol. 64, N 2. – P. 178–189.
16. Response of catalase activity to Ag⁺, Cd²⁺, Cr⁶⁺, Cu²⁺ and Zn²⁺ in five tissues of freshwater fish *Oreochromis niloticus* / G. Atli, O. Alptekin, S. Tüke, M. Canli // Comp. Biochem. Physiol. C. Toxicol. Pharmacol. – 2006. – Vol. 143, N 2. – P. 218–224.

Багдай Т., Снітинський В., Антоняк Г. Вплив кадмію на процес пероксидного окиснення ліпідів і стан антиоксидантної системи в клітинах крові коропа

Показано результати досліджень процесу пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) та стану антиоксидантної системи в еритроцитах коропа (*Cyprinus carpio* L.) за наявності у воді катіонів Cd²⁺ у концентраціях, що становлять ГДК, 2 ГДК і 5 ГДК. Установлено, що під впливом кадмію активуються процеси ПОЛ, зростає супероксиддисмутазна і каталазна активність, а активність глутатіонпероксидази і глутатіонредуктази пригнічується одночасно зі зменшенням вмісту відновленого глутатіону в еритроцитах. Найвиразніші зміни в плазмі крові та еритроцитах риб здебільшого відбуваються за концентрації 5 ГДК Cd²⁺ у водному середовищі.

Ключові слова: кадмій, короп, еритроцити, пероксидне окиснення ліпідів, антиоксидантна система.

Bagday T., Snitinsky V., Antonyak H. Effects of cadmium on the process of lipid peroxidation and antioxidant system in blood cells of carp

The results of studies of the process of lipid peroxidation and antioxidant system in erythrocytes of carp (*Cyprinus carpio* L.) in the presence of Cd²⁺ in water at the levels of Occupational Exposure Limit Value (OELV), as wells as 2 OELVs and 5 OELVs. It

was found that exposure to cadmium activated lipid peroxidation, increased superoxide dismutase and catalase activity, and inhibited the activity of glutathione peroxidase and glutathione reductase simultaneously with the decrease of reduced glutathione content in erythrocytes. The most pronounced changes in the investigated parameters in fish plasma and erythrocytes occurred mostly at the level of 5 OELVs of Cd^{2+} in the aquatic environment.

Key words: cadmium, carp, red blood cells, lipid peroxidation, antioxidant system.

Багдай Т., Снитинский В., Антоняк Г. Влияние кадмия на процесс пероксидного окисления липидов и состояние антиоксидантной системы в клетках крови карпа

Приведены результаты исследований процесса перекисного окисления липидов (ПОЛ) и состояния антиоксидантной системы в эритроцитах карпа (*Cyprinus carpio* L.) при наличии в воде катионов Cd^{2+} в концентрациях, что соответствуют ПДК, 2 ПДК и 5 ПДК. Установлено, что под воздействием кадмия активируются процессы ПОЛ, увеличивается супероксиддисмутазная и каталазная активность, а активность глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы снижается одновременно с уменьшением содержания восстановленного глутатиона в эритроцитах. Наиболее выраженные изменения в исследованных показателях в плазме крови и эритроцитах рыб в основном происходят при концентрации 5 ПДК Cd^{2+} в водной среде.

Ключевые слова: кадмий, карп, эритроциты, перекисное окисление липидов, антиоксидантная система.