

УДК 577.1:639.3-034.4

Левкович С.Р., аспірант (Levkovich-Sofia@mail.ru)[©]
Львівський національний аграрний університет, Дубляни

АКТИВНІСТЬ АНТИОКСИДАНТНИХ ФЕРМЕНТІВ У ТКАНИНАХ БІЛОГО ТОВСТОЛОБА (*HYRORHTHALMICHTHYS MOLITRIX*) ЗА ТОКСИКАЦІЇ ІОНАМИ СВИНЦЮ

У статті представлені результати досліджень впливу іонів свинцю на активність ферментів антиоксидантної системи в тканинах білого товстолоба (*Hyporhamphichthys molitrix*). За даними результатами досліджень супероксиддисмутазна активність за концентрації 0,1 і 0,5 мг/л $Pb(NO_3)_2$ в нирках і печінці дослідних риб збільшується ($p < 0,001$), а в зябрах вона знижується ($p < 0,001$) відносно контрольної групи. Каталазна активність навпаки, в печінці і нирках вона є нижчою, а в зябрах спостерігається її збільшення. Активність глутатіонпероксидази у всіх органах збільшується із збільшенням концентрації солей $Pb(NO_3)_2$.

Ключові слова: товстолоб, антиоксидантна система, свинець, нирки, печінка, зябра.

Вступ. Найнебезпечнішими із забруднювачів навколишнього природного середовища серед різноманітних важких сполук є важкі метали, оскільки потрапивши одного разу в екосистему, вони нікуди не зникають, тільки розподіляються по її компонентах[1].

Важкі метали накопичуються в різних ланках трофічних ланцюгів. Цьому сприяє ефект концентрації, тобто здатність риб акумулювати метали до концентрації в десятки разів перевершуючи їх вміст в навколишньому водному середовищі.

Біологічні наслідки забруднення водного середовища важкими металами виявляються, насамперед, у прямому токсичному впливі на риб, що призводить до зміни морфологічних, біохімічних та фізіологічних показників у їх організмі [8]. Тому дослідження впливу важких металів на організм риб є надзвичайно актуальним, оскільки в санітарно – гігієнічному плані риба є важливою ланкою у міграції важких металів за трофічним ланцюгом, кінцевою ланкою якого є людина [2].

Одним з найбільш небезпечних токсикантів є свинець. Джерелами забруднення водного середовища цим металом є використання тетраетилсвинцю як антидетонатора в бензині, горно-рудна промисловість, спалювання вугілля та виробництво чорних і кольорових металів. Вже при незначних концентраціях свинцю спостерігаються симптоми отруєння, виражені в стурбованості риб і підвищенні їх дихального ритму. У риб, які

[©] Науковий керівник — д.б.н., професор, академік НААН України Снітинський В.В.
Левкович С. Р., 2012

довгий час перебувають у водному середовищі забрудненим солями свинцю, останній виявлений не лише в зябрах, але й в печінці, м'язах і нирках.

Зябра відіграють ключову роль в життєдіяльності риби. Вони є органом дихання у гідробіонтів, мають широку поверхню, пронизану густою сіткою капілярів, що дозволяє розчиненому у воді кисню легко проникати в кров. Антиоксидантна система у зябрах риби пов'язана з функцією дихання і обміну киснем між зовнішнім і внутрішнім середовищем [9].

Антиоксидантна система забезпечує адаптаційну стійкість організму в цілому. Її порушення призводить до розвитку у риби ряду патологій, обумовлених окисненням у ліпідах клітин поліненасичених жирних кислот активними формами кисню [4-5]. Глутатіонпероксидаза один із найважливіших ферментів антиоксидантної системи організму, який в клітинах знаходиться в цитозолі та мітохондріях, каталізує розщеплення H_2O_2 і гідроперекисів жирних кислот. У цьому процесі бере участь відновлений глутатіон, до якого фермент виявляє високу спорідненість. Він відновлює за допомогою глутатіону один з продуктів ПОЛ – гідроперекиси ліпідів [10].

Матеріал і методи досліджень. Метою роботи було виявити вплив підвищених концентрацій іонів свинцю на активність ферментів антиоксидантної системи в тканинах білого товстолоба.

Дослідження проводили на дволітках білого товстолоба (*Hypophthalmichthys molitrix*) масою 300-350 г. Експериментальні умови створювали в басейнах об'ємом 100 л. В кожну експериментальну групу було включено 5 особин. Дослідних риби адаптували до умов басейну не менше 3 діб. Вміст кисню у воді підтримували на рівні 7,0 – 8,0 мг/л, температура води коливалась в межах 10 – 18⁰С. Було створено 5 груп тварин – контрольну і дослідні. Вміст $Pb(NO_3)_2$ становив – 0,1 мг/л у розрахунку на катіон, що відповідає одній рибогосподарській граничнодопустимій концентрації (ГДК) та 0,5 мг/л, що відповідає п'яти рибогосподарським ГДК.

Для дослідження були використані зразки печінки, зябер та нирок. Відібрані зразки тканин заморожувались у рідкому азоті. У них визначалась активність супероксиддисмутази (КФ1.15.1.1) [3], глутатіонпероксидази (КФ1.11.1.9) [7], і каталази (КФ1.11.1.6.) [6]. Одержані цифрові дані опрацьовували статистично.

Результати дослідження. Проведені дослідження, результати яких представлені у таблиці, показали, що активність антиоксидантних ферментів у досліджуваних органах риби значно відрізняються між собою, що залежить від концентрації іонів Pb^{2+} у водному середовищі і специфічному відношенні до кожного ферменту окремо. Зокрема активність супероксиддисмутази за концентрації 0,1 і 0,5 мг/л $Pb(NO_3)_2$ в нирках і печінці дослідних риби збільшується ($p < 0,001$), про те в зябрах вона є нижчою ($p < 0,001$) відносно контрольної групи.

Аналізуючи результати впливу $Pb(NO_3)_2$ на активність ферментів антиоксидантної системи, можна зробити висновок, що внесення іонів свинцю у водне середовище зумовлює зниження каталазної активності на відміну від

супероксиддисмутази у печінці за концентрації 0,1 мг/л на 1,8 та 0,5 мг/л на 1,1 і відповідно у нирках на 1,3 і 1,2 ($p < 0,01-0,001$), а також її збільшення у зябрах.

Таблиця

Активність антиоксидантних ферментів у досліджуваних органах білого товстолоба за дії різних концентрацій ($M \pm m$, $n=5$)

Досліджувані тканини	Концентрація		
	К	0,1 мг/л	0,5 мг/л
Супероксиддисмутаза, у.о./мг білка			
Нирки	0,173±0,02	0,843±0,06***	0,216±0,03
Печінка	0,420±0,02	0,771±0,04***	0,450±0,02
Зябра	3,076±0,180	1,538±0,138***	0,540±0,04***
Каталаза ммольH ₂ O ₂ /мг білка за хв. *10 ⁻⁵			
Нирки	6,052±0,208	4,774±0,112***	4,849±0,235**
Печінка	7,533±0,470	4,134±0,162***	6,622±0,307
Зябра	2,468±0,121	3,446±0,106***	2,998±0,04**
Глутатіонпероксидаза, мкмоль GSH/мг білка за хв.			
Нирки	18,047±0,924	28,87±1,004***	28,842±0,527***
Печінка	27,777±0,596	32,73±0,773***	34,852±0,857***
Зябра	15,872±0,815	21,222±0,836**	22,627±0,845***

Примітка: ** - $p < 0,01$; *** - $p < 0,001$

Щодо глутатіонпероксидази у досліджуваних органах риб, можна спостерігати зменшення у ряді печінка>нирки>зябра. З цього можна зробити висновок про високу активність глутатіонпероксидази у печінці дослідних риб. Що становить інтерес у зв'язку з тим, що енергетичний обмін у печінці інтенсивніший, ніж інших органах.

Висновки. Одержані нами результати свідчать про значні тканинні різниці в активності антиоксидантних ферментів у дослідних риб та їх залежність від концентрації іонів Pb²⁺.

Щодо супероксиддисмутази активності за концентрації 0,1 і 0,5 мг/л Pb(NO₃)₂ в нирках і печінці дослідних риб спостерігається його збільшення ($p < 0,001$), про те в зябрах вона є нижчою ($p < 0,001$) відносно контрольної групи. Каталазна активність навпаки, в печінці і нирках вона є нижчою, а в зябрах спостерігається її збільшення. Активність глутатіонпероксидази у всіх органах збільшується із збільшенням концентрації солей Pb(NO₃)₂ у водному середовищі.

Література

1. Арсан О. М. Еколого-токсикологічні дослідження внутрішніх водойм Києва / О. М. Арсан, Ю. М. Ситник, Т. М. Шаповал, І. Г. Кукля, О. О. Пасічна, З. Б. Магомедова // Наук. зап. Тернопільського держ. пед. ун-ту ім. В. Гнатюка. Серія : Біологія, № 3 (14). – Спец. Випуск : Гідроекологія. – 2001. – С. 176-177.
2. Гладышев М. И. Содержание металлов в экосистеме и окрестностях рекреационного и рыболовного пруда Бугач / М. И. Гладышев, И. В. Грибовская, Е. А. Иванова // Водные ресурсы. 2001. – Т. 28, № 3. – С. 320-328.

3. Дубинина Е. Е. Активность и изоферментный спектр супероксид-дисмутазы эритроцитов и плазмы крови человека / Е. Е. Дубинина, Л. А. Сальникова, Л. Ф. Ефимова // Лаб. Дело. – 1983. - №10. – С. 30-33.
4. Зинчук В. В. Роль кислородосвязывающих свойств крови в поддержании прооксидантно-антиоксидантного равновесия организма / В. В. Зинчук, М. В. Борисюк // Успехи физиологических наук. – 1999. – Т. 30, № 3. С. 38-48.
5. Кожевников Ю. Н. О перекисном окислении липидов в норме и патологии : обзор / Ю. Н. Кожевников // Вопросы медицинской химии. – 1985. – № 1. – С. 2-7.
6. Королюк М. А. Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова, В. Е. Токарев // Лаб. дело. – 1988. - № 1. – С. 16-18.
7. Моин В. М. Просто и специфический метод определения активности глутатионпероксидазы в эритроцитах / В. М. Моин // Лаб. Дело. – 1986. - №12. – С. 724-727.
8. Немова Н. Н. Биохимические эффекты накопления ртути у рыб / Н. Н. Немова. – М. : Наука, 2005. – 164 с.
9. Органзмы, популяции, экосистемы : проблемы и пути сохранения биоразнообразия : материалы Всерос. конф. с междунар. участием «Водные и наземные экосистемы : проблемы и перспективы исследований», Волга, Россия, 24-28 ноября 2008 г. / ГОУ ВПО « Вологодский государственный педагогический университет», Вологодская лаборатория ФГНУ «ГосНИОРХ», Вологодское отделение гидробиологического обществ РАН, НП « Научный центр экологических исследований». – Вологда, 2008. – 367с.
10. Тимочко М. Ф. Вільнорадикальні реакції та їх метаболічна роль / Тимочко М. Ф., Кобилінська Л. І. // Медична хімія. – 1999. – Т. 1, № 1. – С. 19-25.

Summary

S. R. Levkovich

ACTIVITY OF ANTIOKSIDANT ENZYMES IN TISSUES OF THE WHITE TOVSTOLOBA (*HYPOPHthalmichthys molitrix*) ANDER IONS OF LEAD

*In the article the presented results of researches of influence of ions of lead are on activity of enzymes of the antioksidant system in tissues white tovtoloba (*Hypophthalmichthys of molitrix*). After these results of researches of superoxide dismutaze activity at concentrations 0,1 and 0,5 mg/l $Pb(NO_3)_2$ in buds and liver of experimental finfishess is increased ($r < 0,001$), and it goes down in branchiaes ($r < 0,001$) in relation to a control group. The activity of katalaz avice versa, in a liver and buds it is below, and there is its increase in branchiaes. Activity of glutathione peroxidase in all organs is increased.*

Рецензент - д.с.-г.н., професор Параняк Р.П.