

УДК 597-1.0:639.3

ДИНАМІКА АКТИВНОСТІ НЕФЕРМЕНТАТИВНОЇ ЛАНКИ СИСТЕМИ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ КРОВІ КОРОПІВ НЕСВИЦЬКОГО ЗОНАЛЬНОГО ТИПУ В ПРОЦЕСІ ОНТОГЕНЕЗУ

І.А. Особа, І.І. Грициняк

Інститут рибного господарства НААН

Проведено порівняльний аналіз стану неферментативної ланки системи антиоксидантного захисту в сироватці крові однорічок та дволіток лускатих і рамчастих коропів несвицького зонального типу. Встановлено, що на початку вегетаційного періоду вміст ретинолу в крові однорічок риб був у слідових кількостях, а за вмістом токоферолу досліджувані групи риб відрізняються між собою. Охарактеризовано особливості активності неферментативної ланки системи антиоксидантного захисту крові коропів у процесі онтогенезу.

Функціонування в організмі людини та тварин, у тому числі і риб, систем генерації продуктів вільно радикального окиснення енергетичних субстратів та систем їх елімінації зумовлює його життєдіяльність [1, 2].

Однією з таких систем є система антиоксидантного захисту організму, яка складається з ферментативної та не ферментативної ланок. Важливе місце в останній належить жиророзчинним ендogenous антиоксидантам, до яких належать токоферолі, ретиноли, провітаміни групи А (α -, β -, γ -каротини), а також ряд інших сполук [1–8]. Антиоксидантні властивості цих речовин визначаються їх антирадикальною активністю та здатністю утвореного радикалу самого антиоксиданту одночасно з реакціями рекомбінації з утворенням стабільних молекул, ініціювати нові ланцюги вільнорадикального окиснення при взаємодії з кожною новою молекулою окисненої сполуки [1–3, 7, 8].

Потреба організму в забезпеченні вітамінами варіює у значних межах, які залежать від низки факторів ендogenous та екзогенного характеру, зокрема типу їжі, активності кишкової мікрофлори, генетичної детермінації тощо [9]. Потреба риб у вітамінах в основному забезпечу-

ється за рахунок їх вмісту у природних та штучних кормах, а нестача або надлишок їх в організмі здатні призводити до порушень власного синтезу, синтезу ферментів, обмінних процесів, а також спричиняти ряд інших деструктивних змін у різних системах організму [4, 6–8, 10, 11].

Дослідження стану системи антиоксидантного захисту організму широко застосовуються у різних галузях тваринництва, в тому числі і в рибництві, що зумовлено високими вимогами до якості отримуваної продукції, інтенсифікацією та раціоналізацією виробництва, використанням біологічно активних добавок у раціоні, а також застосуванням ветеринарних препаратів з метою профілактики та лікування захворювань тощо [2–5].

Оскільки відомо, що внаслідок порушення прооксидантно-антиоксидантної рівноваги в організмі розвивається оксидативний стрес, який ряд авторів розглядають як один із ключових факторів формування загального адаптаційного рівня [12], дослідження особливостей активності неферментативної ланки системи антиоксидантного захисту крові коропів несвицького зонального типу в процесі онтогенезу дає можливість оцінити адаптаційні можливості риб цього

типу в заданих умовах розведення. Таким чином, система антиоксидантного захисту виступає індикатором функціонального стану організму піддослідних тварин, а також якісним показником, що характеризує рівень господарської діяльності [1, 8].

В умовах розвитку рибного господарства важливу роль відіграє селекційно-племінна робота, в основі якої лежить підвищення біологічних та господарських якостей риби [13]. Одним із основних об'єктів вітчизняної аквакультури є короп. На сьогодні структура українських порід коропа налічує кілька типів [13]. Несвицький зональний тип коропа не проходив державної апробації, його біологічні особливості практично не вивчені, тому одним із завдань роботи було дослідити стан системи антиоксидантного захисту як важливого показника, що відображає фізіолого-біохімічні особливості адаптаційних можливостей організму риби. Матеріали публікації характеризують особливості неферментативної ланки системи антиоксидантного захисту крові досліджуваних груп риб у процесі онтогенезу.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Дослідження проводили на базі дослідного господарства Львівської дослідної станції Інституту рибного господарства НААН.

Для виконання роботи було сформовано шість груп риб: дві дослідні, які склалися із особин лускатих та рамчастих коропів несвицького зонального типу (НЛК та НРК), та чотири контрольні, до складу яких входили особини лускатих та рамчастих коропів любінського внутрішньопородного типу (ЛЛК та ЛРК), а також сазана (АС) та сазано-коропового гібрида (СКГ).

Виконання досліджень вимагало контролю умов середовища перебування піддослідної риби таким чином, щоб максимально знизити вплив факторів екзогенного характеру. Для виключення впливу останніх дослідні та контрольні групи однорічок були посаджені на вирощування у дослідні стави з однаковим гідрохімічним та гідробіологічним режимами, які контролювали протягом усього періоду вирощування.

Відбір зразків крові досліджуваних груп риб проводили на початку та в кінці вегетаційного періоду. Для проведення відбору зразків досліджувані групи риб поміщали в басейни. Кров відбирали за допомогою піпеток Пастера із серця.

Визначення вмісту вітамінів А та Е проводили у сироватці крові за допомогою методу високоефективної рідинної хроматографії на приладі “Міліхром-4” [14, 15]. Вміст вітаміну Е визначали при довжині хвилі 292 нм, вітаміну А₁ (ретинолу) — при 324 нм, вітаміну А₂ (дегідроретинолу) — при 350 нм [14, 16].

Одержані цифрові дані результатів досліджень опрацьовували статистично.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Результати проведених досліджень стану неферментативної ланки системи антиоксидантного захисту однорічок риб різного генезу показали, що на початку вегетаційного періоду в сироватці крові вміст вітаміну А був у слідових кількостях, що ми пов'язуємо з кількома причинами. По-перше, основне місце депонування його в організмі — печінка. По-друге, основним шляхом метаболізму ретинолу в клітині є його окиснення, а низький рівень його спостерігається при виході із періоду зимівлі, коли організм виснажений на фоні загального зниження інтенсивності метаболічних реакцій. Крім того, такий вміст вітаміну А може бути спричинений можливою нестачею в організмі і середовищі таких мікроелементів, як цинк та залізо, які, як відомо, впливають на обмін (засвоєння та депонування) вітаміну А в організмі.

Встановлено, що за вмістом вітаміну Е досліджувані групи риб відрізняються між собою. Як видно з отриманих даних, вміст токоферолу у рамчастих коропів — як у несвицького зонального, так і любінського внутрішньопородного типів був дещо вищий, аніж у лускатих ($4,24 \pm 0,355$ та $1,72 \pm 0,119$ порівняно з $3,53 \pm 0,195$ та $1,70 \pm 0,113$ мкг/г відповідно), але ця відмінність не вірогідна. Проте значення вмісту токоферолу у сироватці крові однорічок несвицьких коропів достовірно вище від такого самого в особин любінського коропа $3,53 \pm 0,195$ та $4,24 \pm 0,355$ порівняно із $1,70 \pm 0,113$

**Динаміка вмісту ендogenous антиоксидантів у сироватці крові коропів
у процесі онтогенезу, мкг/г ($M \pm m$)**

Досліджувана група риб	Вікова група		
	однорічки	дволітки	
		Вітаміни	
	Е	Е	А
НЛК	3,53±0,195	9,42±0,267	0,18±0,046
НРК	4,24±0,355	10,74±1,073	0,27±0,028
ЛЛК	1,70±0,113	10,87±0,33	0,23±0,008
ЛРК	1,72±0,119	7,33±0,444	0,44±0,094
СКГ	4,66±0,168	6,21±0,504	0,10±0,004
АС	1,58±0,054	5,00±0,431	0,23±0,021

та $1,72 \pm 0,119$ мкг/г відповідно при $0,01 < p < 0,001$ (таблиця, рис. 1).

Серед досліджуваних груп однорічок риб найвищим рівень активності неферментативної ланки системи антиоксидантного захисту був у сазано-коропового гібрида, найнижчим — у сазана, що становило $4,66 \pm 0,168$ та $1,58 \pm 0,054$ мкг/г токоферолу відповідно (див. таблицю, рис. 1).

Слід зазначити, що у печінці однорічок усіх шести груп вміст жиророзчинних вітамінів розподілювався дещо іншим чином, що свідчить про тканинну специфічність розподілу останніх, а також вплив факторів ендogenous та екзогенного характеру на метаболізм вітамінів в організмі риб [8].

Відомо, що серед ендogenous антиоксидантів центральне місце посідає саме токоферол, який характеризується найвищим рівнем активності, оскільки

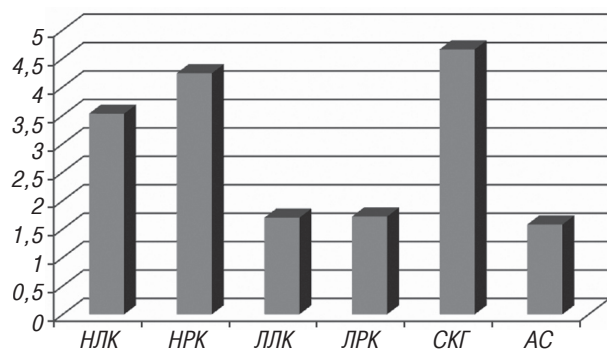


Рис. 1. Вміст токоферолу у сироватці крові однорічок риб, мкг/г

перетворюється у радикал, який, у свою чергу, здатен реагувати із іншим перекисним радикалом, утворюючи в результаті сполуку нерадикальної природи. Він стабілізує мембранні структури, в яких постійно відбуваються процеси вільнорадикального окиснення, гальмує утворення ліпоперекисів, розриває ланцюг вільнорадикального окиснення шляхом нейтралізації вільних радикалів у момент їх утворення. Молекули вітаміну Е локалізуються у внутрішніх мембранах мітохондрій, захищаючи їх від згубної дії перекисів, підтримують функціональну цілісність зовнішньої цитоплазматичної мембрани клітин і являються основним фактором резистентності еритроцитів до різного роду гемолітичних сполук, а також виступають важливим елементом захисту при дії різних пошкоджуючих факторів, патологічних станів тощо [1–3, 5]. Такі характеристики токоферолу визначають його роль у забезпеченні діяльності неферментативної ланки системи антиоксидантного захисту однорічок риб після виходу із зимівлі.

Дослідження неферментативної ланки системи антиоксидантного захисту організму в кінці вегетаційного періоду показали, що активність останньої зростає порівняно до такої самої на початку.

Так, у дволіток достовірно зростає вміст вітаміну А щодо однорічок при $p > 0,001$ (таблиця, рис. 2). Як видно із наведе-

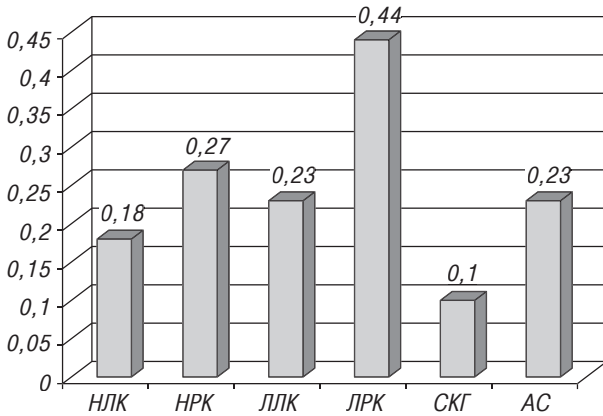


Рис. 2. Вміст ретинолу у сироватці крові дволіток риб, мкг/г

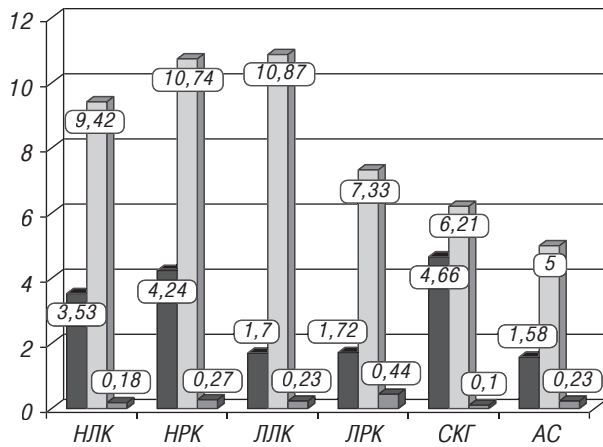


Рис. 3. Динаміка вмісту ендогенних антиоксидантів у сироватці крові коропів у процесі онтогенезу: ■ — Вітамін Е (однорічки); □ — Вітамін Е (дволітки); ▒ — Вітамін А (дволітки)

них результатів, рамчата форма коропів як несвицького зонального, так і любінського внутрішньопородного типів характеризуються вищим вмістом ретинолу порівняно з лускатою, проте ця відмінність не становить вірогідної різниці. Найвищим вмістом вітаміну А у сироватці крові характеризуються особини любінського рамчастого коропа, найнижчим — сазано-коропового гібрида, що становить $0,44 \pm 0,094$ та $0,10 \pm 0,004$ мкг/г відповідно.

Вміст токоферолу у сироватці крові дволіток досліджуваних груп риб достовірно зростає, порівняно з таким самим в однорічок (таблиця, рис. 3). Зокрема

у дволіток рамчастих та лускатих коропів несвицького зонального типу його рівень становить $10,74 \pm 1,073$ та $9,42 \pm 0,267$ мкг/г порівняно із $4,24 \pm 0,355$ та $3,53 \pm 0,195$ у однорічок при $p > 0,001$. У дволіток особин любінського коропа вміст токоферолу перебуває приблизно в тих самих межах, що і в несвицьких коропів, і зростає практично втричі, порівняно з групами однорічок. Деяке зниження активності неферментативної ланки системи антиоксидантного захисту щодо інших груп дволіток спостерігається в особин сазана та сазано-коропового гібрида. Можливо, це зумовлено їхніми фізіолого-біохімічними особливостями.

ВИСНОВКИ

Проаналізувавши одержані результати, можна стверджувати, що у коропів несвицького зонального та любінського внутрішньопородного типів, а також в особин сазано-коропового гібрида та сазана спостерігається чітка динаміка зміни активності неферментативної ланки системи антиоксидантного захисту в процесі онтогенезу.

Слід зазначити, що особливості останньої, очевидно, детерміновані генетично, на що вказує видоспецифічний розподіл рівня ендогенних антиоксидантів у сироватці крові всіх шести груп риб.

Низький вміст ретинолу у досліджуваних зразках сироватки крові однорічок, на нашу думку, може бути спричинений виснаженістю після зимівлі на фоні загального зниження метаболічної активності організму, інтенсивністю перебігу вільнорадикальних процесів при виході із зимівлі, а також чітко вираженою тканинною специфічністю розподілу його в організмі.

Зростання вмісту ендогенних антиоксидантів у сироватці крові дволіток риб свідчить про залежність його від сезону, забезпечення природної та штучної кормової бази, початку годівлі, умов утримання тощо. Оскільки існує вікова залежність

інтенсифікації перебігу вільнорадикальних процесів, що зумовлює зростання та накопичення продуктів перекисного окиснення ліпідів у клітинах організму, підвищення вмісту ендogenous антиоксидантів у крові дволіток риб порівняно із однорічками абсолютно обґрунтоване.

Зростання активності неферментативної ланки системи антиоксидантного захисту у групах дволіток коропів не-

свицького зонального типу паралельно з таким самим у коропів любінського внутрішньопородного типу, добре пристосованих до умов вирощування на базі дослідного господарства Львівської дослідної станції ІРГ НААН, свідчить про достатню пластичність несвицького коропа, що забезпечує йому високий рівень адаптаційних можливостей до нових умов утримання.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Особа І.А.* Особливості функціонування системи антиоксидантного захисту організму // Рибогосподарська наука України. — 2009. — № 1. — С. 133–139.
2. *Данчук В.В.* Пероксидне окиснення у сільськогосподарських тварин і птиці / В.В. Данчук. — Кам'янець-Подільський: Абетка, 2006. — 192 с.
3. *Куртяк Б.М.* Жиророзчинні вітаміни у ветеринарній медицині і тваринництві / Б.М. Куртяк, В.Г. Янович. — Львів: Тріада плюс, 2004. — 426 с.
4. *Олексюк Н.П.* Вміст вітамінів А, Е і каротиноїдів у печінці і скелетних м'язах ставкових риб різних видів / Н.П. Олексюк, В.Г. Янович // Наук.-техн. бюл. Інституту біології тварин. — Львів, 2002. — Вип. 4, № 1. — С. 108–111.
5. *Martinez-Alvarez Rosa M.* Antioxidant defenses in fish: Biotic and abiotic factors / Rosa M. Martinez-Alvarez, Amilia E. Morales, Ana Sanz // Fish Biology and Fisheries. — 2005. — 15. — P. 75–88.
6. *Taveekijakarn Paveena.* Study on vitamin E Deficiency in Amago Salmon / Paveena Taveekijakarn, Teruo Miyazaki, Masaki Matsumoto, Shigeru Arai // Bull. Fac. Bioresources, Mie Univ. — 1996. — № 16. — P. 17–24.
7. *Mohsen Meydani.* Protective role of dietary vitamin E on oxidative stress in aging / Mohsen Meydani // Age. — 1992. — Vol. 15. — P. 89–93.
8. *Особа І.А., Грициняк І.І.* Активність неферментативної ланки системи антиоксидантного захисту у печінці однорічок лускатих та рамчастих коропів несвицького зонального типу // Рибогосподарська наука України. — 2010. — № 3. — С. 62–65.
9. *Рыбальченко В.К.* Физиология и биохимия пищеварения животных и человека / В.К. Рыбальченко, Т.В. Береговая, М.Ю. Клевещ, Е.А. Кондратюк, В.О. Мотузный, Г.В. Островская, Т.В. Рыбальченко, А.Я. Скляров. Под. ред. В.К. Рыбальченко. — К.: Фитоцентр, 2002. — С. 366.
10. *Грициняк І.І.* Науково-практичні основи раціональної годівлі риб / І.І. Грициняк. — К.: Рибка моя, 2007. — 306 с.
11. *Желтов Ю.А.* Организация кормления разновозрастного карпа в фермерских рыбных хозяйствах / Ю.А. Желтов. — К.: ИНКОС, 2006. — 282 с.
12. *Калитка В.В.* Фактори антиоксидантного захисту у крові та печінці фазанів під час онтогенезу / В.В. Калитка, О.А. Єременко // Укр. біохім. журн. — 2004. — Т. 76, № 6. — С. 70–75.
13. *Олексієнко О.О.* Внутрішньопорідна структура українських коропів / О.О. Олексієнко, І.І. Грициняк // Рибогосподарська наука України. — 2007. — № 1. — С. 21–27.
14. *Олексюк Н.П.* Визначення вітамінів А та Е у біологічних матеріалах і кормах методом високо-ефективної рідинної хроматографії: Методичні рекомендації / Н.П. Олексюк, Л.Г. Левківська, Г.Г. Денис, Ю.Т. Салига. — Львів, 2007. — 20 с.
15. *Скурихин В. Н., Шабаев С.В.* Методы анализа витаминов А, Е, Д и каротина в кормах, биологических объектах и продуктах животноводства. — М.: Химия, 1996. — С. 37–41.
16. *Kakela Anne.* Vitamins A1 and A2 in mink fed fish-based diets and exposed to polychlorinated biphenyls. — University of Joensuu, PhD Dissertations in Biology. — 2002. — 116 p.

ДИНАМІКА АКТИВНОСТІ НЕФЕРМЕНТАТИВНОГО ЗВЕНА СИСТЕМИ АНТИОКСИДАНТНОЇ ЗАЩИТИ КРОВІ КАРПОВ НЕСВИЦЬКОГО ЗОНАЛЬНОГО ТИПА В ПРОЦЕСЕ ОНТОГЕНЕЗА

І.А. Особа, І.І. Грициняк

Проведен сравнительный анализ состояния неферментативного звена системы антиоксидантной защиты в сыворотке крови годовиков и двухлеток карпов несвицкого зонального типа. Установлено, что в начале вегетационного периода содержание ретинола в сыворотке крови годовиков было в следовых количествах, а за содержанием токоферола

исследованные группы рыб отличаются между собою. Охарактеризованы особенности активности неферментативного звена системы антиоксидантной защиты в крови карпов в процессе онтогенеза.

THE DYNAMICS OF ACTIVITY OF NON ENZYMATIC LINK IN THE SYSTEM OF ANTIOXIDANT PROTECTION IN CARPS' BLOOD OF NESVICH ZONAL TYPE IN THE PROCESS OF ONTOGENESIS

I. Osoba, I. Grytsyniak

The comparative analysis of state of non enzymatic link in the system of antioxidant protection of one and two years old scaled and framed carps' sera blood of nesvich zonal type have been carried out. In the beginning of vegetation period the contents of retinol in the blood of one year old fish was in track quantity and according to the contents of tocopherol the groups of fish which are under investigation are different between each other have been determined. Have been characterized peculiarities of the activity of non enzymatic link in the system of antioxidant protection in carps' blood in the processes of ontogenesis.

УДК 597-1.044:628.394

ВИКОРИСТАННЯ ЕМБРІОНІВ *DANIO RERIO* У ТОКСИКОЛОГІЧНИХ ДОСЛІДЖЕННЯХ

В.О. Черепнін

Інститут рибного господарства НААН

*Висвітлені основні сучасні методи використання *Danio rerio* для токсикологічних досліджень*

В Європі на даний час зареєстровано близько 100 тис. хімічних сполук, що мають комерційне застосування [1]. Згідно з новим законодавством ЄС [2] всі хімічні сполуки (як ті, що вже використовуються, так і ті, що проходять сертифікацію), сировина для їх отримання та проміжні продукти, щорічний об'єм виробництва яких перевищує 1000 кг, підлягають перевірці на токсичність. Під ці вимоги підпадають приблизно 30 тис. сполук.

Для дослідження їх токсичності Організація з економічного партнерства і розвитку (OECD) рекомендує використання відповідних модельних організмів та ряд біологічних тестів. Ці методики поділяються на гострі (96 год) та хронічні (14 діб). Смертність організмів у ході досліду є досить невизначеним інтегральним показником і залежить від концентрації і токсичності речовин, що перевіряються.

Запропоновані тести є доволі малоінформативними, позаяк дають змогу

визначити смертельну концентрацію, але нічого не говорять про механізм дії токсиканта. Крім того, проведення експериментів на дорослих тваринах спричиняє багато нарікань з погляду біоетики. Тому основною метою дослідників було створення такої методики, яка б дала можливість проводити оперативне тестування з визначенням механізму токсичного впливу на молекулярному рівні без використання дорослих тварин [3]. Очевидні переваги тест-систем *in vitro* включають короткі експозиції і обмежену кількість біологічного матеріалу. Проте неможливість екстраполювати на хребетних тварин результати, отримані при тестуванні на безхребетних організмах, потребувала вдосконалення існуючих методик біотестування.

Токсикологічні дослідження з використанням ембріонів данію (*Danio (Brachydanio) rerio*) почались уже досить давно [4]. Використання її як успішної моделі відоме з початку нового тисячоліття. На сьогодні це загальновизнана