

86. Sreedevi P, Sivaramakrishna B, Suresh A., Radhakrishnaiah K. Effect of nickel on some aspects of protein metabolism in the gill and kidney of the freshwater fish, *Ciprinus carpio* L. // *Environ Pollut* — 1992. — Vol 77, N 1 — P. 59-63
87. Teylor I. A modified procedure for the microdetermination of citric acid // *Biochem J* — 1953 — Vol. 54, N 1 — P. 62-65
88. Walton M J, Cowey C B. Aspects of intermediary metabolism in salmonid fish // *Comp Biochem Physiol* — 1982 — Vol 73B, N 1 — P. 59-79.
89. Wu G., Thompson J R. Ketone bodies inhibit leucine degradation in chick skeletal muscle // *Int. J Biochem* — 1987 — Vol 19, N 10 — P. 937-942

*V.V. Grubinko, V.O. Arsan, I.M. Konovets'*

## THE ENERGY STATUS OF FISHES' ORGANISMS AT INTOXICATION BY AMMONIA

The pollution of intrinsic reservoirs, including fish-farming, is one of the limiting factors of functioning of aqueous ecosystems and their bioeffecting. In this connection the study of physiologically-biochemical mechanisms of acclimatization and fishes' metabolic processes in polluted aqueous ecosystems is one of the main conditions for development of effective methods of increasing stability of water organisms to new conditions of existence

*Надійшла 23.02.2001*

УДК 636.2:599.323.41:576.344

**В.З. Курані, С.В. Бродін, Ю.В. Синюк**

Тернопільський державний педагогічний університет ім. Володимира Гнатюка  
46027 Тернопіль, вул. М. Кривоноса, 2

## ВПЛИВ ІОНІВ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ НА МЕТАБОЛІЗМ ГЛІЦИНУ В ОРГАНІЗМІ КОРОПА В УМОВАХ *IN VIVO*

*прісноводні риби, важкі метали, метаболізм, гліцин*

Серед вільних амінокислот гліцину належить особлива функціональна роль. Це пояснюється його надзвичайною метаболічною лабільністю та швидкістю перетворення. Відома активна участь гліцину у синтезі білків та нуклеїнових кислот, в субстратному забезпеченні ліпогенезу та глюконеогенезу, а також використання як енергетичного субстрату [2]. Різноманітну функціональну роль гліцину в організмі риб. Він регулює осмотичний тиск в м'язових клітинах риб, накопичуючись в цій тканині в значних кількостях. Зокрема, у коропа гліцин є домінуючою амінокислотою м'язів [9]. Ця амінокислота виконує у риб роль харчового стимулятора, а також підвищує їх стійкість до низьких температур. Разом з глюкозою гліцин зв'язує вільну воду в м'язах та інших тканинах риб і тим самим знижує температуру її замерзання на десяті частки градуса [7].

Численними дослідженнями, проведеними на різних видах риб, було показано, що вільні амінокислоти в організмі цих пойкилотермних тварин є добрим і доступним джерелом енергії [8,11]. Особливо важливого значення вільні амінокислоти, особливо гліцин, набувають в період зимового голодування [10]. Показано також участь гліцину в адаптації гідробіонтів до дії іонів важких металів [5]. Саме тому метою нашої роботи стало вивчення ролі гліцину та продуктів його метаболізму у забезпеченні опірності та адаптації організму коропа до дії підвищених концентрацій у водному середовищі іонів марганцю, цинку, міді та свинцю.

### Матеріали і методи досліджень

Досліди проводили на дворічках коропа (*Cyprinus carpio* L.) масою 250-300г. Вивчали вплив на риб іонів  $Mn^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$  та  $Pb^{2+}$  в концентраціях 2, 4 та 6 мг/л, 2 і 5 мг/л, 0,1 і 0,5

мг/л та 0,2 і 0,5 мг/л відповідно, що становить 2 і 5 рибогосподарських ГДК. Metали вносили у вигляді солей  $MnCl_2$ ,  $ZnSO_4$ ,  $CuSO_4$  та  $Pb(NO_3)_2$ .

Період аклімації становив 14 діб. В останній день експерименту риbam внутрішньочеревно вводили  $[U^{14}C]$  гліцин в кількості 1 мБк/100г живої маси і через 3 години тварин забивали. Після цього відбирали проби тканин печінки та спинних м'язів для визначення включення міченого гліцину в біосинтез білків, ліпідів та вуглеводів. Ферментативні процеси в гомогенатах припиняли додаванням 10 % ТХОК. Ліпіди з гомогенатів тканин екстрагували сумішшю хлороформ-метанол (2:1) за методом Folch J. [12]. Радіоактивність білків визначали після виділення ліпідів, глікогену, глюкози та інших водорозчинних речовин за методом Schorf F. [14]. Радіоактивність вуглеводів визначали за методом Прохорової М. І. [6]. Вилучення нуклеїнових кислот здійснювали кип'ятінням гомогенатів у 5% розчині ТХОК. Вимірювання радіоактивності проб проводили на сцинтиляційному лічильнику ЛКБ (Швеція). Одержані дані опрацьовували статистично [4].

### Результати досліджень та їх обговорення

З приведених у таблиці даних видно, що у нормальних умовах існування риб гліцин використовується на біосинтез білків, ліпідів та вуглеводів як в печінці так і в м'язах коропа. При цьому у печінці 66,4 % його іде на синтез білків, 27,6 % на синтез ліпідів і 5,9 % на синтез вуглеводів. У м'язах, відповідно, 28,6 % гліцину використовується на синтез білків, 53,9 % на синтез ліпідів та 17,4 на синтез вуглеводів. Слід відмітити, що максимальна кількість досліджуваного субстрату в печінці виявлена в складі білків, в той час, як в м'язовій тканині максимум радіоактивної мітки знайдено у складі ліпідів. Найменше  $[U^{14}C]$  гліцину як в печінці, так і в м'язах використовується на синтез вуглеводів.

Таблиця

**Радіоактивність білків, ліпідів та вуглеводів, синтезованих в тканинах коропа при використанні  $[U^{14}C]$  гліцину в умовах *in vivo* (тис. імп. /хв. на 100 мг сухої тканини,  $M \pm m$ ,  $n=5$ )**

Групи риб	Білки	Ліпиди	Вуглеводи
<b>Печінка</b>			
Контроль	15,60±1,12	6,50±0,37	1,40±0,13
Марганець	9,70±0,66*	4,20±0,38*	1,02±0,13
Цинк	10,50±0,95*	2,16±0,19*	1,20±0,11
Мідь	11,30±0,70*	4,80±0,40*	2,85±0,19*
Свинець	4,47±0,35*	3,69±0,31*	0,81±0,05*
<b>М'язи</b>			
Контроль	3,34±0,35	6,30±0,45	2,03±0,17
Марганець	2,63±0,18	6,20±0,50	1,30±0,12*
Цинк	3,00±0,27	6,80±0,50	0,98±0,06*
Мідь	2,40±0,22	5,80±0,35	1,52±0,13*
Свинець	2,88±0,17	7,50±0,67	2,83±0,16*

Примітка \* -- Різниця вірогідна порівняно з контролем ( $P < 0,05$ )

У результаті дії іонів важких металів змінюється співвідношення інтенсивності ступеня використання гліцину в синтезі кожного з досліджуваних сполук. Так, в печінці та м'язах під впливом усіх досліджуваних металів зменшується включення радіоактивної мітки у фракцію білків. Найбільші відхилення від контролю спостерігаються в результаті дії іонів свинцю (71,3%), а найменші — іонів цинку (32,6%). Причиною цього може бути як різний вплив іонів металів на біосинтетичну здатність клітин, так і регуляторна функція самого гліцину в процесі біосинтезу білків [1].

Щодо ліпідів, то частка гліцину, який використовується на їх синтез в печінці в результаті дії іонів усіх досліджуваних металів, зменшується, в той час як в м'язах цей показник зростає, за винятком міді, де спостерігається його незначний спад. Наші дані узгоджуються з даними авторів [3], які показали, що взаємодія гліцину з певними інтермедіатами в тканинах щурів приводить до активації використання гліцину в синтезі

ліпідів в одних тканинах (в нашому випадку в м'язах) та до пригнічення цього процесу в інших (в даному досліді в печінці).

Найменшою мрою гліцин в тканинах риб використовується на синтез вуглеводів. Це, ймовірно, пояснюється тим, що риби для енергетичних потреб, в основному, використовують жири, білки та амінокислоти [10]. Крім того, в цих гідробіонтів дуже низька тексокиназна активність [13], що не дає змоги їм активно перетворювати вуглеводи, зокрема глюкозу. У результаті дії іонів досліджуваних металів відбувається зниження включення міченого гліцину у вуглеводи в печінці під впливом марганцю (на 27,1%), цинку (на 14,3%) та свинцю (на 42,1%), і зростання під впливом міді (на 103,6%). У м'язах спостерігається подібна закономірність: зниження активності цього процесу в результаті дії іонів марганцю (на 35,9%), цинку (на 51,7%) та міді (на 25,1%), і зростання під впливом іонів свинцю (на 39,4%).

Відмінності у реакції тканин риб на дію іонів важких металів, можливо, пов'язані із різними шляхами перетворення гліцину у печінці та м'язах. Ця амінокислота в організмі коропа піддається окислювальному дезамінуванню як гліцинооксидазою, так і дезамінуючими NAD- і NADPH- залежними дегідрогеназами. Перший фермент більш активний в м'язовій тканині коропа, в той час в печінці більш активними є названі дегідрогенази [9]. Продуктом цих перетворень є гліоксилова кислота, яка окислюється до CO<sub>2</sub> та H<sub>2</sub>O, забезпечує організм риб енергією. Енергетична цінність цього процесу менша порівняно з вуглеводами та жирами, однак за дії стресових факторів, якими зокрема є високі концентрації у воді важких металів гліцин, акумульований у м'язах риб, має важливе значення у забезпеченні їх організму енергією під час адаптаційних перебудов.

### Висновки

Встановлено участь гліцину в біосинтезі білків, ліпідів та вуглеводів у печінці і м'язах коропа, а також вплив іонів важких металів на активність цих процесів. Дія іонів марганцю, цинку, міді та свинцю в концентрації 21 ДК приводить до посилення використання цієї амінокислоти в субстратному забезпеченні енергетичних процесів у тканинах риб при вказаному токсикозі.

### ЛІТЕРАТУРА

1. Гулий М. Ф. О регуляторной роли аминокислот в биосинтезе и формировании структуры белка // Укр биохим журн — 1978. — Т. 50, №2 — С. 243-260
2. Гулий М. Ф., Голубева Л. И., Бойко В. Б. Некоторые метаболические реакции глицина в организме животных // Укр биохим журн — 1983 — Т. 55, № 4 — С. 372-375
3. Гулий М. Ф., Голубева Л. И., Бойко В. Б., Криворот Н. И. Изучение условий включения <sup>14</sup>C из глицина в липидную фракцию тканей крыс // Укр биохим. журн — 1983 — Т. 55, № 4 — С. 376-379
4. Лакин Г. Ф. Биометрия. — М. Высшая школа, 1990. — 351 с.
5. Никаноров А. М., Жулидов А. В., Покаржевский А. Д. Биомониторинг тяжелых металлов в пресноводных экосистемах. — Л.: Гидрометеорадат. 1985. — 144 с.
6. Прохорова М. И. Методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен). — Л.: Изд-во Ленинградского у-та. 1982. — 272 с.
7. Сорвачев К. Ф. Азотсодержащие вещества мышц однолетнего карпа во время зимовки // Биохимия — 1959 — Т. 24, № 2 — С. 241-247
8. Явоненко О. Ф., Яковенко Б. В. Роль цикла дикарбоновых кислот та гліцину в енергозабезпеченні риб // Науково-технічний бюлетень інституту землеробства і біології тварин УААН — Львів, 1999 — Вип. 1 (3) — С. 84-88
9. Яковенко Б. В. Особливості метаболізму гліцину в організмі коропа лускатого. Автореф. дис. . докт. біол. наук 03.00.04. Інститут біології тварин УААН — Львів, 1993 — 37 с.
10. Яковенко Б. В., Курант В. З., Явоненко А. Ф. Влияние голодания на белковый обмен в мышечной ткани карповых рыб // Гидробиол. журн. — 1982. — Т. 18, № 5 — С. 100-105
11. Creac'h Y. Importance des besoins azotes chez les poissons // Ann. Inst. M. Pacha — 1976. — Vol. 9 — P. 91-92
12. Folch J., Lees M. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues // J. Biol. Chem. — 1957. — Vol. 226, N 1 — P. 497-501

13. Nagavama G., Ohshima H., Umezawa K. Distribution of glucose-6-phosphate metabolizing enzymes in fish // *Nippon Suisan Gakkaishi* — 1972 — Vol 38 — P 589-593.
14. Schort F. A. Protein synthesis by red and white muscle in vitro: effect of insulin and animal age // *Am J Physiol.* — 1969 — Vol 217 N 1 — P 307-309

V.Z. Kurant, S.V. Brodin, Y.V. Synyuk

## INFLUENCE OF IONS OF HEAVY METALS ON METABOLISM OF GLYCINE IN ORGANISM OF CARP IN VIVO

The inclusion of glycine in proteins, lipids and carbohydrates under the influence of ions of manganese, zinc, copper and lead on carp organism in vivo has been studied. It is shown that the intoxication of fish organisms by the ions of heavy metals leads to the intensification of glycine metabolism in fish tissues, which proves the important role of this amino acid in the substrate supply of the energy processes.

Надійшла 12.03.2001

УДК 612.015.3:577.17:597.554.3

**Р.Б. Балабан**

Тернопільський державний педагогічний університет ім. Володимира Гнатюка  
46027 Тернопіль, вул. М. Кривоноса, 2

## СТАН РІВНОВАГИ У ГЛУТАМАТДЕГІДРОГЕНАЗІЙ РЕАКЦІЇ ЗА ДІЇ ІОНІВ МАРГАНЦЮ, ЦИНКУ ТА МІДІ В ТКАНИНАХ КОРОПА

*прісноводні риби важкі метали глутаматдегідрогеназа*

Глутаматдегідрогеназа (ГДГ) — ключовий фермент біосинтезу глутамату в клітинах. У більшості організмів виявлено ГДГ двох типів, які відрізняються спорідненістю до певного кофактору NAD (H) чи NADP (H), молекулярною масою, властивостями і метаболічною роллю [7]. Напрямок глутаматдегідрогеназної реакції регулюється співвідношенням у клітинах концентрації її субстратів 2-оксиглутарату та глутамату. Зміщення рівноваги в реакції (зв'язування аміаку 2-оксиглутаратом в глутамат чи навпаки), яка каталізується одним ферментом, визначає тип коферменту [11,14]. Тому про спрямованість процесу синтезу-розщеплення глутамату судять за співвідношенням активностей ГДГ з NAD (H) та NADP (H). В організмі риб дезамінування глутамату здійснює NAD(H) залежна ГДГ [1,5,8], а його синтез - NADP (H) -залежний фермент [3,14]. При цьому обидві форми локалізовані у мітохондріях [1]. Співвідношення їх активностей регулює рівень 2-оксиглутарату, глутамату та аміаку.

У літературі існує ряд даних про зміни дегідрогеназної активності за дії різних екстремальних чинників, так, підвишена активність ГДГ спостерігалась при отруєнні плямистою змієголова сублетальними концентраціями ртуті [20], тляпці атразином і сатурном [19]. Активність ГДГ збільшується у гамбузі при токсичній дії  $\text{NaNO}_3$  (100 мг/л) або  $\text{NaNO}_2$  (0,12 мг/л) [18] і в цирках фореті при дії  $\text{NaCl}$  [16].

ГДГ здатна зміщувати рівновагу "α-кетоглутарат-глутамат" в той чи інший бік в залежності від співвідношення концентрацій NAD- і NADP в середовищі. Так, у зимуючої молоді коропа рівновага зміщена в бік NADP-залежної реакції. Вважають, що це є додатковим шляхом детоксикації аміаку, що веде до відтоку α-кетоглутарату з пулу проміжних продуктів циклу Кребса [4]. За рахунок активного функціонування глутаматдегідрогеназної системи у коропа здійснюється детоксикація надлишкового аміаку, а також забезпечується необхідним субстратом ферментна система синтезу амінів [6].

Відомі також вікові зміни активності NADP-залежних дегідрогеназ в печінці коропа [10]. Максимальний рівень активності цих ферментів у статевозрілих особин був констатований напередодні нересту. Загальною закономірністю було зниження активності усіх ферментів в печінці після гіпофізарних ін'єкцій і після нересту.