

УДК 577 352.38:577 64

Н.Г. Зіньковська

Тернопільський державний педагогічний університет ім. Володимира Гнатюка
46027 Тернопіль вул. М. Кривоноса, 2**ВИВЧЕННЯ АНТИОКСИДАНТНО — ПРООКСИДАНТНОГО
СТАТУСУ КРОВІ КОРОПА ПРИ ДІЇ ЙОНІВ ЦИНКУ В
СУБЛЕТАЛЬНИХ КОНЦЕНТРАЦІЯХ***короп, цинк, кров, продукти перекисного окислення ліпідів, гемоглобін, каталаза*

Одним із найкраще вивчених з точки зору біологічної дії в організмі гідробіонтів важких металів є цинк [1]. Він є есенціальним мікроелементом, що входить до складу білків, стабілізує їх структуру і бере безпосередню участь у ферментативному каталізі [4]. Поряд з цим, даний метал є поширеним забруднювачем водойм [3]. Тому на вивчення впливу його токсичних рівнів на антиоксидантно-прооксидантний стан організму звертається велика увага [7, 11, 13]. Відомо, що цинк у сублетальних концентраціях змінює активність ферментів антиоксидантного захисту та концентрації продуктів вільнорадикального окислення, зокрема перекисного окислення ліпідів (ПОЛ), проте є менш токсичним ніж мідь [3, 7, 11, 13]. Однак залежність дії цинку від його концентрації та механізм його впливу на деструкцію біомолекул вивчені недостатньо. Зокрема, не з'ясовано, яку роль в прояві токсичної дії металу має зв'язана (металопротеїни) та вільна його форма.

Метою нашої роботи стало вивчення дії йонів цинку в концентраціях, які відповідають 0,1, 2 і 5 ГДК, на ферментативні і неферментативні процеси перекисного окиснення ліпідів та вміст гемоглобіну в крові коропа.

Матеріали і методи досліджень

Дослиди проведені на коропі лускатому (*Surgimus carpio* L.) масою 200-250 г, попередньо адаптованому до акваріумних умов. Рибу утримували протягом 14 днів у басейнах об'ємом 200 л при температурі близько 18 °С у відстояній, добре аерованій воді. Воду в басейнах міняли кожні дві доби, поповнюючи в ній вміст металу. Концентрація йонів цинку, який вносили у вигляді сульфату, відповідали 0,1, 2 і 5 рыбогосподарським ГДК, що становило 0,1, 2,0 і 5,0 мг/л [1].

Для аналізу брали кров з серця риби з додаванням гепарину. Всі процедури по виділенню і обробці зразків проводились на холоді.

Стан ферментних антиоксидантних систем оцінювали за активністю супероксиддисмутази (СОД) (КФ 1.15.1.1) плазми крові та еритроцитів, каталази (КФ 1.11.1.6) крові та плазми крові, церулоплазміну (ЦП) (КФ 1.16.3.1) плазми крові. Рівень неферментного антиоксидантного захисту оцінювали за вмістом відновленого глутатіону (низькомолекулярних тіолів) в еритроцитах. Визначали вміст продуктів ПОЛ: первинних — дієнових кон'югатів, кінцевого — малонового діальдегіду (МДА), а також глікозильованого гемоглобіну та метгемоглобіну в крові.

Активність СОД, каталази, ЦП, вміст загального гемоглобіну і метгемоглобіну, малонового діальдегіду (МДА) в крові, загальний вміст білків в плазмі крові визначали як описано в [12], концентрацію низькомолекулярних тіолів (відновленого глутатіону) в крові — за допомогою реактиву Елмана [12], глікозильованого гемоглобіну — колориметричним методом [12]. За вмістом МДА характеризували спонтанне, ферментне і неферментне ПОЛ, а також стан (індекс) антиоксидантної активності крові [8]. Кров витримували в інкубаційному середовищі 30 хв при 25 °С; для визначення інтенсивності спонтанного ПОЛ — без додатків, для оцінки виходу МДА в неферментативній системі перекислення — з доданням аскорбінової кислоти, — з метою визначення продукування МДА в ферментативній NADPH-залежній системі ПОЛ — з додаванням NADPH. Інкубаційна суміш для визначення неферментного ПОЛ містила 80 мМ аскорбінової кислоти, 0,2 мМ ADP, 0,012 мМ FeSO₄, а

ферментного ПОЛ — замість аскорбінової кислоти — 0,5 мМ NADPH [5, 6]. Результати обробляти статистично [9].

Результати досліджень та їх обговорення

Антиоксидантно-прооксидантний статус крові при дії 0,1 ГДК цинку на організм вивчався нами найбільш повно, оскільки в літературі немає відомостей про дію низьких концентрацій цього металу на ПОЛ в організмі риб. Результати дослідження показали, що вміст білків в крові зазнає істотних змін навіть при такій незначній концентрації металу у воді (табл. 1) Спостерігається збільшення вмісту білків у плазмі крові. Концентрація гемоглобіну і метгемоглобіну істотно зменшується Раніше було показано, що при дії 2 і 5 ГДК цинку на коропа вміст білків у плазмі крові, гемоглобіну і метгемоглобіну зростає [11] Отже, при дії різних концентрацій цинку спостерігаються протилежно спрямовані зміни показників. Аналогічне явище ми спостерігали і при дії міді [12]

До показників крові коропа, досліджених нами раніше при дії вищих доз цинку, належать активність СОД в еритроцитах і плазмі крові, каталази в плазмі крові, вміст церулоплазмину в плазмі крові [11] При дії 0,1 мг/л цинку активність СОД плазми зменшується. СОД еритроцитів порівняно з контролем не змінюється. Рівень церулоплазмину в плазмі крові істотно зростає, як і при дії вищих доз цинку [11] Активність каталази у плазмі крові не змінюється порівняно з контролем, що свідчить про відсутність істотних пошкоджень функції гелатинакреасу та еритроцитів, як і при дії вищих рівнів цинку [11]

Таблиця 1

Активність систем антиоксидантного захисту та вміст білків в крові коропа при дії на організм 0,1 мг/л цинку, $M \pm m$, $n=5$.

Показник	Контроль	Дослід
СОД плазми крові, у а /мг білку	76,0±9,0	14,5±3,8*
СОД еритроцитів, у а /л гемоглобіну	4,65±0,25	3,99±0,37
Каталаза плазми крові мг Н ₂ О ₂ /мл плазми	0,98±0,11	1,21±0,12
Церулоплазмин плазми крові, мг/л плазми	28,6±0,7	81,2±1,2*
Церулоплазмин плазми крові, мг/г білка плазми	0,72±0,04	1,71±0,05*
Білки плазми крові, мг/мл плазми	39,0±1,3	47,0±2,1*
Гемоглобін, г/100 мл крові	0,82±0,72	5,80±0,40*
Метгемоглобін, % від загального	9,45±2,10	1,89±0,37*

Примітка до табл. 1-3 * — відмінності порівняно з контролем вірогідні ($p < 0,05$) X — показник не визначався

Більш детально вивчення показників антиоксидантного захисту крові коропа при дії цинку показало, що 0,1 ГДК цинку викликають ті ж зміни, що і вищі дози (табл. 2).

Таблиця 2

Вміст окиснених продуктів та активність каталази в крові коропа при дії цинку, $M \pm m$, $n=5$

Вміст цинку у воді, мг/л	Глікозильований гемоглобін, % від загального	Деннові кофактори, мкмоль/мл крові	Малодіючий диальдегід, мкмоль/мл крові	Відновлений глутатіон еритроцитів, нмоль/мл крові	Каталаза крові, мг Н ₂ О ₂ /мл крові за хв
0,1	Контроль	5,99±0,20	42,8±3,6	X	4,96±0,76
	Дослід	6,25±0,27	78,0±9,8*	X	12,2±2,9*
2,0	Контроль	9,61±0,64	17,5±4,7	5,86±0,60	4,50±0,61
	Дослід	12,51±0,49*	29,1±4,4*	4,36±0,65	6,25±0,99
5,0	Контроль	5,75±0,75	X	1,01±0,11	15,7±3,2
	Дослід	4,58±0,51	X	11,3±0,5*	17,3±3,3

До складу неферментних антиоксидантних факторів крові належить відновлений глутатіон [10] Його вміст при дії 0,01 мг/л цинку зростає в чотири рази порівняно з контролем, а при дії вищих доз не зазнає істотних змін. Каталаза крові також виявилася чутливою до дії 0,1 мг/л цинку, тіж до вищих доз

Йони цинку здійснюють вплив і на утворення в крові пероксидних продуктів (табл. 2). Спостерігається збільшення концентрації глікозильованого гемоглобіну і продуктів ПОЛ — дієнових кон'югатів та малонового діальдегіду.

Ґрунтовніше пояснити отримані результати вдаюся при дослідженні реакції ПОЛ-системи за доз 2 і 5 ГДК цинку (табл. 3).

Таблиця 3

Метаболічні особливості утворення продуктів ПОЛ в крові коропа при дії цинку, $M \pm m, n=5$

Вміст цинку в воді мг/л		С поитанне ПОЛ, мкмоль/мл крові	Ферментне ПОЛ, мкмоль/мл крові	Неферментне ПОЛ, мкмоль/мл крові	Співвідношення ферментного і неферментного ПОЛ	Індекс антиоксидантної активності
2,0	Контроль	5,91±0,42	42,5±1,7	47,8±3,2	0,98±0,08	1,15±0,11
	Дослід	5,29±0,80	37,9±1,9	42,1±1,5	0,90±0,08	0,87±0,08
5,0	Контроль	1,65±0,33	43,7±1,7	44,8±1,3	0,98±0,06	3,11±0,38
	Дослід	2,50±0,67	50,9±2,8*	130,9±5,9*	0,37±0,01*	1,33±0,12*

Як виходить із одержаних результатів при дії 2 ГДК цинку активність ПОЛ порівняно з контролем змінюється незначно. Рівень цинку 5 ГДК викликає істотне зростання як вмісту в крові малонового діальдегіду, так і швидкості його накопичення, особливо в умовах індукції з йонами Fe^{2+} і аскорбіновою кислотою (неферментне ПОЛ). У результаті співвідношення інтенсивності ферментного і неферментного ПОЛ істотно зменшується. Індекс антиоксидантної активності крові, який визначається за співвідношенням продуктів ПОЛ залежно від розведення крові, також зменшується.

Отже, не зважаючи на те, що цинк є одним з найбільш поширених в організмі металів, зростання його рівня в водному середовищі навіть на порядок порівняно з природним вмістом [4] впливає на стац антиоксидантно-прооксидантної системи організму, а при подальшому зростанні його концентрації викликає істотне зміщення її рівноваги в бік активації неферментних оксидантних процесів. Очевидно, що при дозі 0,1 ГДК металу має місце адаптація системи крові до дії цього чинника, а при дії 5 ГДК виявляється неспецифічне порушення антиоксидантно-прооксидантного гомеостазу.

Як відомо, цинк володіє стабільним ступенем окислення і не бере участі в окисно-відновних процесах в організмі [4]. Однак йони цинку утворюють комплексні сполуки з амінокислотами, білками, нуклеотидами і нуклеїновими кислотами. Очевидно, надлишок цинку в організмі риб протягом 14 діб викликає зміну активності ферментних систем, які проявляються у відзначених нами порушеннях антиоксидантно-прооксидантного статусу крові.

Висновки

Підвищення вмісту іонів цинку до 0,1: 2 і 5 мг/л активує функціонування складових системи антиоксидантного захисту крові: збільшує активність церулоплазміну і каталази крові та відновленого глутатіону в еритроцитах; збільшує концентрацію метгемоглобіну і глікозильованого гемоглобіну, дієнових кон'югатів і МДА. Активация антиоксидантного захисту найбільша при дії 0,1 ГДК цинку. За зростання вмісту цинку в воді та крові риб активність ферментних системи антиоксидантного захисту крові зменшується.

ЛІТЕРАТУРА

- 1 Воробьев В. И. Микроэлементы и их применение в рыбководстве — М., Пищ. пром. — 1979 — 183 с.
- 2 Грубинко В. В., Леус Ю. В., Арсан О. М. Перекисное окисление липидов в тканях карпа при действии аммиака. // Гідробіол журн. — 1996 — т. 32, № 4 — С. 52-57
- 3 Грушко Я. М. Ядовитые металлы — М. Медицина 1972 - - 160 с
- 4 Ершов Ю. А., Плетенева Т. В. Механизмы токсического действия неорганических соединений — М. Медицина — 1989 — 272 с.

- 5 Кричовская А. А., Лукаш А. И., Кесельман Н. А. Изменение перекисного окисления и содержание фосфолипидов в мозге при гипероксии и защитное действие мочевины // Укр биохим журн — 1976 Т. 48, №3 — С 120-124
- 6 Кухтина Е. Н., Глушенко П. П. Влияние железа, цинка, меди на процессы перекисного окисления липидов печени in vivo // Биохимия - 1996 - Т. 61, № 6 — С 993-997
- 7 Леус Ю. В., Грубнко В. В. Активность антиоксидантной системы карпа при действии тяжелых металлов // Гидробиол журн 1998 - №2 - С 59-63
- 8 Мартынюк В. Б., Ковальчук С. Н., Тымочко М. Ф., Панасюк Е. Н. Индекс ангиокислительной активности биологического материала // Лаб дело — 1991 -- №3 - С 12-22
- 9 Ойвинн И. А. Статистическая обработка результатов экспериментальных исследований // Патол физиология и эксперим терапия -- 1960 - №4 - С 76-85
- 10 Осипов А. П., Азизова О. А., Владимиров Ю. А. Активные формы кислорода и их роль в организме — Усп биол химии -М: Наука, 1990 — Т. 31 — С. 180-208
- 11 Столяр О. Б., Зиньковська Н. Г., Грубнко В. В. та ін. Вплив йонів міді і цинку на перекисне окислення липидів і антиоксидантний статус в організмі коропа // Біологія тварин 1999 — Т. 1, № 2 - С 84-89
- 12 Столяр О. Б., Зиньковська Н. Г., Мулра А. Є. та ін. Ангіоксидантно-прооксидантний статус організму коропа при дії сублетальної концентрації міді (II) // Наукові записки Тернопільського національного університету Серія Біологія — 2000 — №3 (10) -С 72-78
- 13 Radl A. A. R., Matkovic B. Effects of metal ions on the antioxidant enzyme activities, protein contents and lipid peroxidation of carp tissues // Comp Biochem Physiol — 1988 — 90C, N 1 — P 69-72

N.H. Zin'kovs'ka

THE STUDY OF ANTIOXIDANT-PROOXIDANT STATUS OF CARP BLOOD UNDER THE INFLUENCE OF SUBLETHAL CONCENTRATIONS OF ZINC IONS ON THE ORGANISM

The influence of exposure to 0,1, 2,0 and 5,0 mg zinc ion/l for up 14 days on the antioxidant-prooxidant status of carp blood has been investigated. The results show that the zinc concentration 0,1 mg/l activates the compounds of antioxidant protection system: catalase, ceruloplasmin, reduced glutathione. The doses 2,0 and 5,0 mg zinc/l doses provokes the increase of peroxidation activity in the blood (the content of malonic dialdehyd, lipid hydroperoxides, glycosidative hemoglobin) and the decrease of antioxidant activity of blood. Thus the dose of 0,1 mg/l is the most propitious for the stimulation of protection systems in the carp blood.

Надійшла 12.04.2001

УДК 676-008.9-085.272.4/355 — 092.9

Л.С. Фіра¹, Б.Р. Бойчук¹, Д.В. Козак¹, О.І. Кривокульський¹, О.Б. Столяр²

¹Тернопільська державна медична академія ім. І.Я. Горбачевського

46001 Тернопіль, Майдан Воли, 1

²Тернопільський державний педагогічний університет ім. Володимира Гнатюка

46027 Тернопіль, вул. М. Кривоноса, 2

ВИКОРИСТАННЯ ФОСФАТИДИЛХОЛІНОВИХ ЛІПОСОМ З ІНКОРПОРОВАНИМ КРЕЗАЦИНОМ ДЛЯ КОРЕКЦІЇ ПОРУШЕНЬ В ОРГАНІЗМІ ЩУРІВ, ВИКЛИКАНИХ РЕНТГЕНІВСЬКИМИ ПРОМЕНЯМИ, ТЕТРАХЛОРМЕТАНОМ ТА НІТРИТОМ НАТРІЮ

ліпосоми з інкорпорованим крезацином, фосфоліпиди, середні молекули, ендокенна інтоксикація, перекисне окислення, бициури, нітрит натрію, тетрахлорметан, рентгенівське опромінення

В останні роки в літературі зустрічаються окремі повідомлення про ліпосоми як носії лікарських речовин з метою їх цілеспрямованого транспорту до певного органу [4]. Доцільним є застосування лікарських ліпосом при хворобах, що супроводжуються порушеннями