

# БІОХІМІЯ

УДК [546.711:(591.04:597.551.2)]

В.О. АРСАН

Українська лабораторія якості і безпеки продукції АПК Національного Університету біоресурсів і природокористування України  
вул. Героїв Оборони, 15, Київ, 03041

## **ВМІСТ ПІРУВАТУ, ЛАКТАТУ ТА СПІВВІДНОШЕННЯ ВІЛЬНИХ НАД-ПАР В ТКАНИНАХ КОРОПА ЗА ДІЇ ЙОНІВ МАРГАНЦЮ**

Досліджували вплив іонів марганцю в різних концентраціях (5; 20; 50 і 100 мкг/дм<sup>3</sup>) на вміст пірувату, лактату і співвідношення вільних НАД-пар в печінці, зябрах і м'язах коропа. Встановлено, що іони марганцю водного середовища в концентраціях 5-50 мкг/дм<sup>3</sup> не є токсичними для риб, а підсилюють аеробний шлях генерування енергії в їх організмі. Високі концентрації іонів марганцю (100 мкг/дм<sup>3</sup>) пригнічують аеробне окислення вуглеводів і підсилюють гліколіз.

*Ключові слова:* риба, піруват, лактат, співвідношення вільних НАД-пар, гліколіз, аеробне дихання

Вміст марганцю у воді внутрішніх водойм коливається в досить широких межах [1, 4], створюючи небезпечну ситуацію для життєдіяльності гідробіонтів, включно риб.

Необхідно зазначити, що наявна у фаховій літературі інформація щодо дії іонів марганцю в різних концентраціях на риб не містить пояснень про їх вплив на фізіолого-біохімічні процеси в організмі. Виходячи з цього, метою дослідження було з'ясування впливу йонів марганцю в різних концентраціях на вміст пірувату, лактату та співвідношення вільних НАД-пар в тканинах коропа.

### **Матеріал і методи досліджень**

Досліди проводили на коропі (*Cyprinus carpio* L.), які були вирощені на Білоцерківській гідробіологічній станції Інституту гідробіології НАН України, та попередньо аклімовані 2 місяці до умов аквакомплексу інституту. По 6 екземплярів риб масою 200-220 г поміщали у 100 л – акваріуми, заповнені відстояною водопровідною водою та обладнані термо – і газорегуляторами. Концентрації іонів марганцю 5; 20; 50 і 100 мкг/дм<sup>3</sup>, які відповідали 0,5; 2; 5 і 10 рибогосподарським ГДК досягались додаванням у воду акваріумів розрахункових по катіону кількостей  $MnSO_4 \times 5H_2O$ . Фоновий вміст марганцю у воді контрольних акваріумів становив  $2,38 \pm 0,24$  мкг/дм<sup>3</sup>. Період аклімації риб до таких умов водного середовища складав 14 діб. Такий час, на думку [5], є необхідним для формування адаптивних механізмів до дії абіотичних факторів водного середовища, включно іонів важких металів.

З метою запобігання впливу екзометаболітів на риб та підтримання на постійному рівні певних концентрацій іонів марганцю у воді акваріумів раз на два дні проводили її заміну з додаванням відповідних кількостей іонів даного металу.

Контролем були величини досліджуваних показників в тканинах риб, які знаходились у воді акваріумів без додавання марганцю. Вміст – O<sub>2</sub> у воді акваріумів становив  $7,52 \pm 0,19$  мг/л; CO<sub>2</sub> –  $2,34 \pm 0,13$  мг/л, а величина рН –  $7,64 \pm 0,13$ . Температура води в акваріумах під час проведення дослідів підтримувалась автоматично на рівні 20<sup>0</sup>С.

Досліджували печінку, зябра та м'язи риб, які заморожували в рідкому азоті, розтирали в порошок. Вміст пірувату і лактату в тканинах риб визначали загальноприйнятими ферментними методами [6, 7]. Вміст пірувату виражали в мкмольх на 100 г сирової тканини.

Значення  $[НАД^+]/[НАДН]$  в цитоплазмі клітин тканин розраховували за формулою  $[НАД^+]/[НАДН] = 1 / K_{лдг} \times [\text{піруват}] / [\text{лактат}]$ , де  $K_{лдг}$  – константа лактатдегідрогеназної системи. Вона дорівнює  $0,9 \times 10^{-4}$  [2]. Отримані дані оброблені статистично з застосуванням відповідно методики та t-критерію Стьюдента [3].

### Результати досліджень та їх обговорення

За дії на коропів протягом 14 діб іонів марганцю в концентрації  $5 \text{ мкг/дм}^3$  у м'язах зростає (на 41,7%) вміст пірувату, а у печінці і зябрах спостерігається тільки тенденція до підвищення (відповідно на 12,0 і 19,8%) величини цього показника (табл.1).

Таблиця 1

Вміст пірувату (мкмоль/100г) в тканинах коропа за дії іонів марганцю водного середовища ( $M \pm m, n=5$ )

Концентрація іонів марганцю, мкг/дм <sup>3</sup>	ПЕЧІНКА	ЗЯБРА	М'ЯЗИ
контроль	8,04±1,17	5,34±0,89	4,15±1,08
5	9,01±1,0*	6,40±0,55*	5,88±1,11
20	11,01±1,0	7,20±0,84	6,89±1,11
50	13,21±1,10	9,00±1,00	8,92±1,11
100	6,00±0,71	3,60±0,55	3,25±1,11

Примітка. \*- різниця невірогідна порівняно з контролем

В печінці, зябрах і м'язах коропа вміст лактату зменшується, відповідно на 21,0; 33,6 і 15,9% (табл. 2) порівняно з контролем. Вказні зміни показників свідчать про посилення функціонування в цих умовах в тканинах риб аеробного шляху генерування енергії і пригнічення гліколізу.

Таблиця 2

Вміст лактату (мкмоль/г) в тканинах коропа за дії іонів марганцю водного середовища ( $M \pm m, n=5$ )

Концентрація іонів марганцю, мкг/дм <sup>3</sup>	ПЕЧІНКА	ЗЯБРА	М'ЯЗИ
контроль	3,00±0,14	2,09±0,13	5,86±0,26
5	2,37±0,13	1,42±0,11	4,93±0,26
20	1,94±0,11	1,30±0,07	3,99±0,55
50	1,32±0,07	1,17±0,07	2,50±0,19
100	4,89±0,24	3,37±0,13	8,01±0,30

Це підтверджується також зростанням в цих тканинах відношення вільних  $НАД^+/НАДН$  (табл. 3). Нікотинамідні коферменти, як відомо, є регуляторними чинниками метболізму. На підставі співвідношення їх окиснених і відновлених форм у цитоплазмі клітин можна судити про зміни інтенсивності і спрямованості гліколітичних і аеробних процесів, стану лактатдегідрогеназної реакції та динаміки пірувату і лактату.

Таблиця 3

Співвідношення нікотинамідних коферментів ( $[НАД^+]/[НАДН]$ ) в тканинах коропа за дії іонів марганцю водного середовища ( $M \pm m, n=5$ )

Концентрація іонів марганцю, мкг/дм <sup>3</sup>	ПЕЧІНКА	ЗЯБРА	М'ЯЗИ
контроль	300,0±34,2	275,9±31,6	74,8±1,2
5	422,6±40,3	502,2±35,3	131,2±24,5
20	630,1±50,5	615,1±47,6	191,9±18,0
50	1111,9±136,2	835,1±81,0	414,3±44,2
100	137,2±21,0	119,2±20,5	44,8±14,2

Необхідно зауважити, що за дії на риб підвищених ( $20 \text{ мкг/дм}^3$ ) концентрацій іонів марганцю водного середовища подібні зміни стають значнішими. За таких умов в печінці, зябрах і м'язах коропа відмічено зростання рівня пірувату (відповідно на 36,9; 34,8 і

66,0%)(табл.1) та зменшення вмісту лактату (відповідно на 35,3; 39,2 і 31,9%)(табл.2) порівняно з контролем. Наведені результати дають підставу стверджувати, що енергозабезпечення адаптації риб до таких умов здійснюється, в основному, за рахунок аеробних процесів, оскільки роль гліколізу при цьому значно послаблена. На користь цього твердження свідчить також і зростання співвідношення нікотинамідних коферментів в тканинах риб (табл.3), які характеризують їх окисну здатність.

Найістотніші зміни величин досліджуваних показників спостерігаються в тканинах за дії 50 мкг/дм<sup>3</sup> іонів марганцю водного середовища. При цьому в печінці, зябрах і м'язах риб значно зростає вміст пірувату (відповідно на 64,3; 68,5 і 114,9%)(табл.1) та знижується вміст лактату (відповідно на 56,0; 45,3 і 57,3%)(табл.2), порівняно з контролем. Одержані дані свідчать про посилення ролі більш ефективного шляху генерування енергії, яким є цикл трикарбонових кислот, та пригнічення функціонування енергетично менш ефективного – гліколізу. Це підтверджується, зокрема, зростанням в печінці, зябрах і м'язах риб співвідношення вільних нікотинамідних коферментів (відповідно на 270,6, 202,7 і 453,9%) порівняно з контролем (табл. 3).

Необхідно наголосити, що шляхи енергозабезпечення адаптації коропа до зростання вмісту іонів марганцю у водному середовищі (до 100 мкг/дм<sup>3</sup>) дещо відрізняються від описаних вище. У м'язах знижується рівень пірувату (відповідно на 21,7%)(табл.1) та зростає вміст лактату (відповідно на 36,7%)(табл.2) порівняно з контролем. Ці дані свідчать про те, що основним шляхом енергозабезпечення процесів адаптації риб до таких умов є гліколіз, оскільки іони марганцю в концентрації 100 мкг/дм<sup>3</sup> пригнічують функціонування іншого більш ефективного з точки зору генерування енергії шляху – циклу трикарбонових кислот. Підтвердженням цього є також зростання відновленості НАД-пар в цитоплазмі тканин щодо контролю (табл. 3).

Аналіз отриманих нами даних показав, що найбільшим вмістом пірувату харктеризується печінка контрольних і дослідних риб. Наступними за кількістю метаболіту є зябра і м'язи. Такий розподіл величин вказаних показників пояснюється тканинною специфікою процесів, що протікають в організмі риб за дії іонів марганцю. Щодо лактату, то найвищий його рівень був зафіксований в м'язах контрольних і дослідних риб. Це пов'язано з тим, що саме в цій тканині активно функціонує гліколіз.

## Висновки

Енергозабезпечення адаптації коропа до змін іонів марганцю у водному середовищі в діапазоні концентрацій 5-50 мкг/дм<sup>3</sup> здійснюється, в основному, за рахунок аеробного окислення, а за вищих концентрацій (100 мкг/дм<sup>3</sup>) головну роль в цьому процесі відіграє гліколіз.

1. *Варенко Н.И.* Динамика содержания марганца в Днепродзержинском и Днепровском водохранилищах / Н.И. Варенко, В.Т. Чуйко // Гидрохим. мат.-лы. – 1975. – Т. 64. – С. 71–76.
2. *Великий Н.Н.* Роль окислительно-восстановительного состояния никотинамидных коферментов в регуляции клеточного метаболизма / Н.Н. Великий, П.К. Пархомец // Витамины. – 1976. - №9. – С. 3–15.
3. *Лакин Г.Ф.* Биометрия / Г.Ф. Лакин. – М.: Высшая школа, 1990. – 351 с.
4. *Линник П.Н.* Формы миграции металлов в пресных поверхностных водах / П.Н. Линник, Б.И. Набиванец. – Л.: Гидрометеиздат, 1986. – 270 с.
5. *Хлебович В.В.* Акклимация животных органов змов / В.В. Хлебович. – Л.: Наука, 1981. – 135 с.
6. *Hohorst H.J., Beim M.L.* // Methods of enzymatic analysis. – Weinheim: Chemie, 1963. – P. 328–332.
7. *Hohorst H.J.* Determination with lactic dehydrogenase and DPN / H.J. Hohorst // Methods of enzymatic analysis. – Weinheim: Chemie, 1963. – P. 266-270.

*В.О. Арсан*

Украинская лаборатория качества и безопасности продукции АПК Национального Университета биоресурсов и природопользования Украины, Киев

## СОДЕРЖАНИЕ ПИРУВАТА, ЛАКТАТА И СООТНОШЕНИЕ СВОБОДНЫХ НАД-ПАР В ТКАНЯХ КАРПА ПОД ВЛИЯНИЕМ ИОНОВ МАРГАНЦА

Исследовали влияние ионов марганца в различных концентрациях (5; 20; 50 и 100 мкг/дм<sup>3</sup>) на содержание пирувата, лактата и соотношение свободных НАД-пар в печени, жабрах и мышцах карпа. Установлено, что концентрации ионов марганца водной среды 5-50 мкг/дм<sup>3</sup> не являются токсическими для рыб. Они усиливают аэробный путь генерирования энергии в их организме.

Высокие (100 мкг/дм<sup>3</sup>) концентрации ионов марганца подавляют процессы аэробного окисления углеводов и усиливают гликолиз.

*Ключевые слова: рыба, пируват, лактат, соотношение свободных НАД-пар, гликолиз, аэробное дыхание*

*V.O. Arsan*

Ukrainian Laboratory of Quality and Safety of AIC Products, Kyiv, Ukraine

#### THE CONTENT OF PIRUVATE, LACTATE, NAD-CORRELATION IN CARP TISSUES UNDER THE INFLUENCE OF MANGANESE IONS

The impact of different concentration (5; 20; 50 и 100 мкг/л) of manganese ions on content of piruvate, lactate, NAD-correlation in carp tissues (liver, branchiae, muscle) was researched. It has been found out that concentrations of manganese ions (5-50 мкг/л) in water are not toxic for fish. These concentrations strengthen the aerobic way of energy generation in fish. High concentrations (100 мкг/л) of manganese ions are toxic for fish. The supression of processes of aerobic oxidation of carbohydrates and strengthening of glycolisis was shown.

*Key words: fish, piruvate, lactate, NAD-correlation, glycolisis, aerobic oxidation*

Рекомендує до друку

Надійшла 15.09.2010

В.В. Грубінко

УДК 616.345-092: [612.015.113+612.015.14]-085.356-092.9

І.Б. ГРЮК<sup>1</sup>, Н.Р. ШАМРО<sup>2</sup>, О.Я. СКЛЯРОВ<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Тернопільський національний педагогічний університет ім. Володимира Гнатюка  
вул. М. Кривоноса, 2, Тернопіль, 46027

<sup>2</sup>Рівненський державний гуманітарний університет  
вул. С. Бандери, 12, Рівне, 33028

<sup>3</sup>Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького  
вул. Пекарська, 69, Львів, 79010

### **ЗМІНА АКТИВНОСТІ NO-СИНТАЗ ТА ВМІСТУ ПРОДУКТІВ ТІОБАРБІТУРОВОЇ КИСЛОТИ У СЛИЗОВІЙ ОБОЛОНЦІ ТОВСТОЇ КИШКИ ЗА ПОЄДНАНОЇ ДІЇ ВІТАМІНУ С ТА L-АРГІНІНУ ПРИ СТРЕСІ**

В експериментах на щурах визначали вплив вітаміну С на активність NO-синтаз і вміст тіобарбітурової кислоти в умовах самостійної і сумісної з L-аргініном дії в слизовій оболонці товстого кишечника щурів при стресі. Стрес моделювали інтраперитонеальним введенням адреналіну в дозі 2 мг/кг. Вітамін С і L-аргінін вводили самостійно і сумісно в дозі 150 і 300 мг/кг, відповідно, внутрішньом'язово, за 15 мін до моделювання впливу стресу. Встановлено, що введення вітаміну С супроводжується зменшенням вмісту оксиду азоту, активності iNOS і процесів ліпопероксидації в СOTК та збільшенням вмісту L-аргініну в плазмі крові. Сумісна дія вітаміну С і L-аргініну на тлі стресу викликає зниження активності загальної NOS, незначне зменшення активності iNOS і виражене зменшення активності cNOS. Концентрація L-аргініну в плазмі крові збільшується в порівнянні з впливом вітаміну С.

*Ключові слова: адреналін, вітамін С, L-аргінін, NO-синтаза, СOTК, стрес, ТБК, щури*

Стрес може бути причиною багатьох захворювань різних органів, включно товстої кишки [10]. До чинників стресу належить адреналін [3]. Одним з найважливіших біологічних медіаторів,