

УДК 639.3:576.7:577.15:577.115:577.16

Б. В. ЯКОВЕНКО, О. П. ТРЕТЯК, О. Б. МЕХЕД, Г. Д. ХАЙТОВА, Н. А. СИМОНОВА

Чернігівський національний педагогічний університет імені Т. Г. Шевченка

вул. Гетьмана Полуботка, 53, Чернігів 14037

ВПЛИВ КСЕНОБІОТИКІВ НА АКТИВНІСТЬ ФЕРМЕНТІВ АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ В ТКАНИНАХ КОРОПА

Наведені дані про активність антиоксидантних ферментів - супероксиддисмутази (СОД), глутатіонпероксидази (ГП) і каталази у печінці та білих м'язах коропа за дії зенкору та натрій лаурилсульфату.

Ключові слова: пероксидне окиснення ліпідів, антиоксидантні ферменти, короп, печінка, білі м'язи, зенкор, натрій лаурилсульфат

Поверхнево активні речовини (ПАР) широко застосовуються у господарській діяльності та побуті як мийні засоби, антикорозійні речовини, емульгатори і суспензатори пестицидів, у виробництві мінеральних добрив і кормових добавок, компонентів лікарських препаратів і косметики [2]. Одним із представників ПАР є натрій лаурилсульфат, що є сумішшю алкілсульфатів, та містить від 55 до 85% додецилсульфату натрію [6]. Механізм сенсibiliзуючої дії препаратів на основі ПАР полягає в тому, що детергенти взаємодіють з мембранами клітин органів і тканин, що супроводжується зміною ферментної активності та різким збільшенням проникності клітинних мембран [8]. Гербіцид зенкор (метрибузин, 4-аміно-3-метилмеркапто-6-трет-бутил-1,2,4-триазинон-5) широко використовується для боротьби з рослинами-шкідниками картоплі. Отруєння зенкором призводить до поведінкових, гістологічних та енергетичних змін в організмі риб. Потрапляння пестициду до водойми призводить до накопичення додаткової кількості токсиканта на фоні вже наявного та до прояву токсичної дії в результаті синергізму [1].

Відповідь організму на дію токсиканту є результатом взаємодії двох процесів: пошкодження (деструктивний) та захисту (компенсаторно-адаптивний). Їх співвідношення визначає рівень токсичності водного середовища для риб [7].

В сучасній біології активація перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) розглядається як універсальна відповідь живої системи на дію екстремальних факторів. Вплив екстремальних чинників, включно токсикантів, призводить до зміщення рівноваги бік у прооксидантних процесів і розвитку так званого "окиснювального стресу". Інтенсивність утворення продуктів ПОЛ у тканинах риб залежить від вмісту в них природних антиоксидантів та активності антиоксидантних ферментів (супероксиддисмутази, глутатіонпероксидази, каталази).

Мета роботи: дослідження впливу токсичних умов утримання на активність антиоксидантних ферментів білих м'язів, печінки коропа лускатого (*Cyprinus carpio* L.).

Матеріал і методи досліджень

Об'єктом дослідження слугував короп (*Cyprinus carpio* L.). Риб відбирали з природної водойми (зимувальний ставок ВАТ «Чернігіврибгосп»). Маса риб коливалась в межах 160-210 г.

Впродовж усього періоду досліджень контролювався гідрохімічний режим води. Вміст кисню коливався у межах 9,6-12,5 мг/дм³; рН – 7,4-8,4; вміст аміаку – 0,014 мг/дм³. Вказані умови не викликали розвитку в організмі коропа гіпоксії, гіперкапнії, гіпотермії. За даними іхтіопатологічних спостережень риб нашкірних збудників паразитичних хвороб не виявлено. Стрічкових паразитів також не зафіксовано.

Досліди з вивчення впливу ксенобіотиків проводили в 200-літрових акваріумах з відстояною водопровідною водою, в які рибу розміщували з розрахунку 1 екземпляр на 40 л води. Температуру витримували близькою до природної. Дослідження проводили впродовж листопада-грудня 2013 року. Концентрацію досліджуваних ксенобіотиків, що відповідає 2 ГДК_{риб.-госп.} створювали шляхом внесення розрахункових кількостей 70%-ного порошку зенкору та лаурилвмісного синтетичного мийного засобу. Дослідження проводили з додержанням вимог Міжнародних принципів Гельсінської декларації про гуманне ставлення до тварин [10].

Визначення активності глутатіонредуктази засноване на вимірюванні швидкості окислення NADPH, реєстрували спектрофотометрично по зменшенню оптичної густини при довжині хвилі 340 нм [5]. Активність каталази визначали згідно методичних рекомендацій [9]. Визначення активності СОД здійснювали згідно [4] у модифікації [3]. Вміст білків визначали за методом Лоурі і співавт. Статистична обробка результатів здійснена з використанням програми “Excel” з пакету “Microsoft Office–2003”.

Результати досліджень та їх обговорення

За результатами проведенного дослідження печінки та білих м'язів коропа (рис. 1), встановлено, що під дією зенкору активність супероксиддисмутази (СОД) в печінці збільшилась на 46,15% порівняно з контролем, а в білих м'язах зросла всього на 4,81 %.

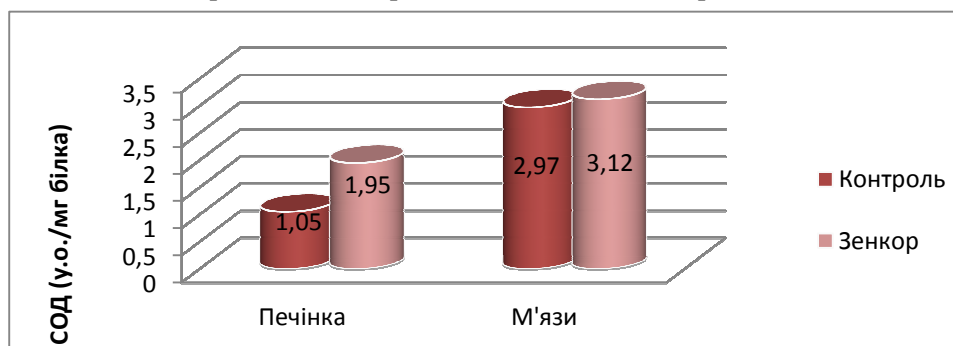


Рис. 1. Активність супероксиддисмутази коропа за дії зенкору, у.о./мг білка ($M \pm m$, $n=5$)

Активність каталази за дії зенкору (рис. 2) в печінці збільшилась на 19,75%, а в білих м'язах на 26% порівняно з контролем. При аналізі змін активності глутатіонпероксидази (рис. 3) спостерігаємо тенденцію до підвищення активності ензиму в печінці на 22,05 % та 34,65% у білих м'язах порівняно з показником у риб контрольної групи.

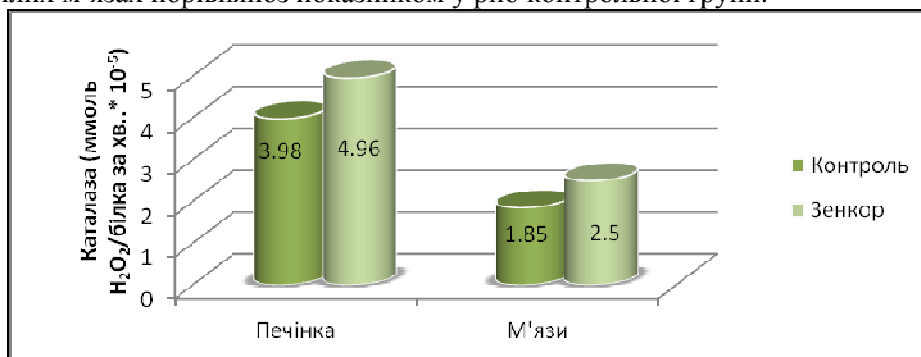


Рис. 2. Активність каталази коропа за дії зенкору, мкмоль H_2O_2 /мг білка за хв.* 10^{-5} ($M \pm m$, $n=5$)

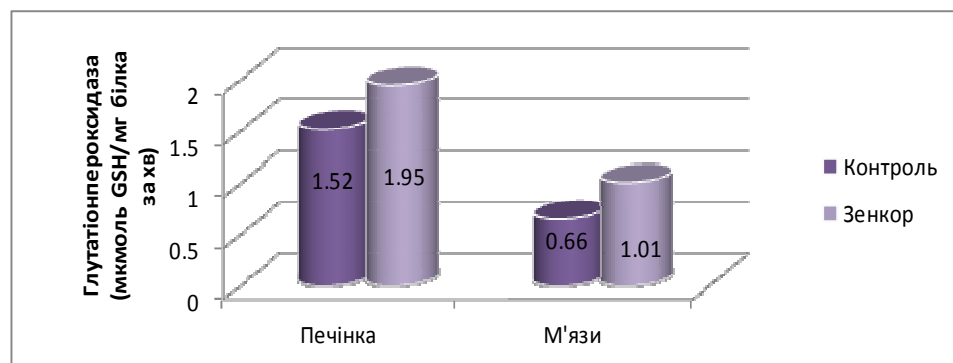


Рис. 3. Активність глутатіонпероксидази коропа за дії зенкору, мкмоль GSH/мг білка за хв ($M \pm m$, $n=5$)

Отримані дані свідчать про чутливість до гербіциду всіх трьох досліджених ензимів.

За впливу лаурилсульфатвмісної речовини активність СОД порівняно з контролем в печінці збільшилась на 51,38%, а в білих м'язах на 4,81% (рис.4). Активність каталази в печінці зросла на 28,92% порівняно з контролем, а в білих м'язах – на 21,27%. (рис. 5)

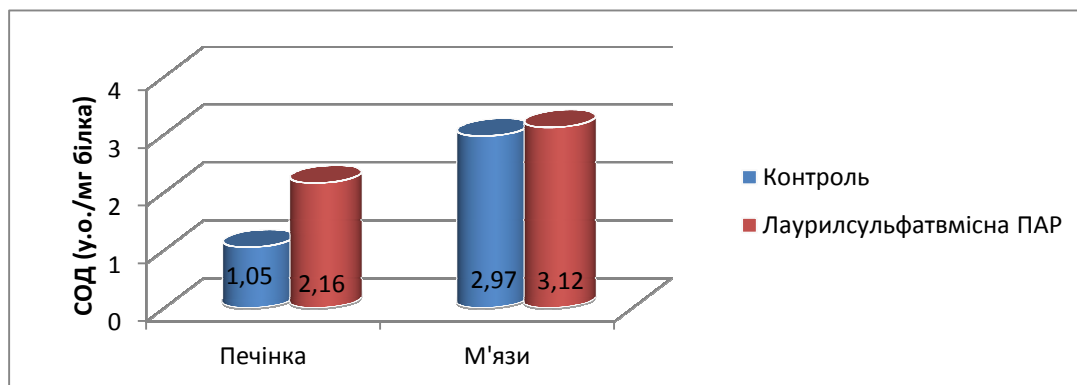


Рис. 4. Активність СОД у коропа в умовах дії лаурилсульфатвмісної ПАР, у.о. /мг білка ($M \pm m$, $n=5$)

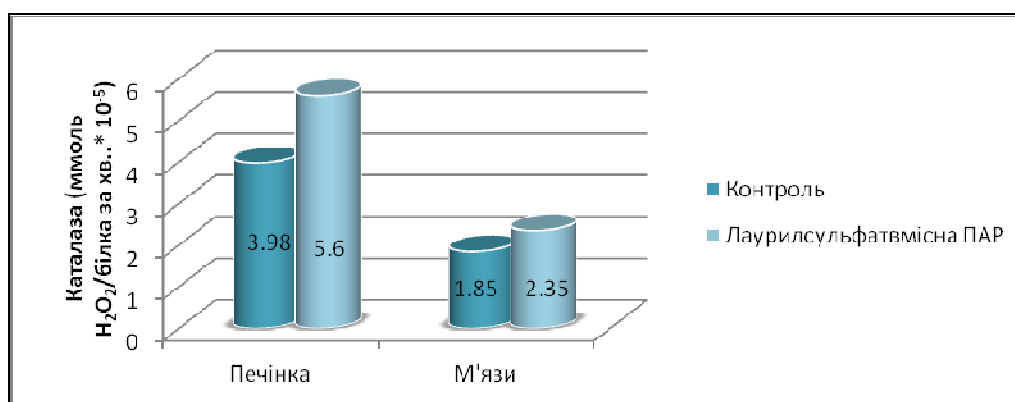


Рис. 5. Активність каталази у коропа за дії лаурилсульфатвмісної ПАР, ммоль H_2O_2 /білка за хв. $\cdot 10^{-5}$ ($M \pm m$, $n=5$)

Активність глутатіонпероксидази в тканинах печінки (рис. 6), зросла на 26,92% порівняно з контролем, у білих м'язах – на 25,84 % щодо показника у риб контрольної групи.

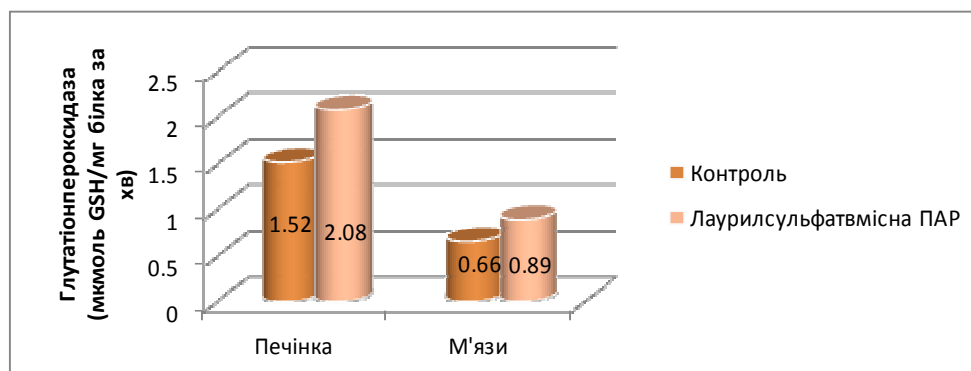


Рис. 6. Активність глутатіонпероксидази печінки та білих м'язів коропа за дії лаурилсульфатвмісної ПАР, мкмоль GSH/мг білка за хв ($M \pm m$, $n=5$)

Найзначнішу активність ензимів спостерігається в тканинах печінки за дії лаурилсульфатвмісної ПАР у СОД, яка зростає на 51,38% порівняно з іншими ензимами. Білі м'язи також реагують підвищенням активності антиоксидантних ензимів, що виявляється, зокрема у збільшенні активності глутатіонпероксидази на 25,84 % порівняно з показником у риб контрольної групи.

Висновки

За експериментального внесення зенкору та лаурилсульфатвмісної поверхнево-активної речовини у воду акваріумів у тканинах коропа відбуваються зміни активності всіх трьох досліджених ензимів – СОД, каталази та глутатіонпероксидази. Максимальна активація ферментів за токсичного впливу зенкору спостерігається для СОД печінки (на 46,15% порівняно з контролем). Ензими білих м'язів менше реагують на гербіцид. Лаурилсульфатвмісна синтетична миюча речовина викликає найбільші зміни активності печінкової СОД. Ферменти білих м'язів коропа виявилися більш чутливими до дії зенкору.

Отже, ензимна частина антиоксидантної системи риб активно реагує на отруєння дослідженими токсикантами як захист на їх дію.

1. *Врочинский К. К.* Применение пестицидов и охрана окружающей среды / К. К. Врочинский, В. Н.Маковский. — Киев: Вища школа. — 1979. — 208 с.
2. Грабовська О. С. Біологічний вплив поверхнево активних речовин на живий організм / [О.С. Грабовська, С. С. Грабовський, В. В. Каплінський та ін.] // Біологія тварин. — 2006. — 8, № 1/2. — С. 63—71.
3. *Доценко О. И.* Активность супероксиддисмутазы и каталазы в эритроцитах и некоторых тканях мышей в условиях низкочастотной вибрации / О.И. Доценко, В.А. Доценко, А.М. Мищенко // Физика живого, — Т. 18, № 1, 2010. — С. 107—113.
4. *Костюк В. А.* Простой и чувствительный метод определения активности супероксиддисмутазы, основанный на реакции окисления кверцетина / В. А. Костюк, А. И. Потапович, Ж. В. Ковалева // Вопр. мед.химии. — 1990. — № 2. — С. 88—91.
5. *Левадная О. В.* Соотношение между величинами активности ферментов антиоксидантной системы в различных тканях интактных крыс / [О. В. Левадная, Г. В. Донченко, В. М. Валущина та ін.] // Укр. биохим. журн. — 1998. — Т. 70, № 6. — С. 53—58.
6. *Мурадян Х. К.* Коррелятивные связи между активностью супероксиддисмутазы, каталазы и глутатионпероксидазы печени мышей / [Х. К. Мурадян, Н. А. Утко и др.] // Укр. біохім. журн. — 2003. — Т. 75, №1. — С. 33—37.
7. *Филенко О. Ф.* Основы водной токсикологии / О. Ф. Филенко, И. В. Михеева. — Учебное пособие — М.: Колос, 2007. — 144 с.
8. *Юсфина Э.* Физиологическая роль ПАВ / Э. Юсфина, З. Леонтьева // Тезисы докладов Всесоюзного симпозиума. — Черновцы. — 1975. — С. 120—122
9. *Ou P.* Erythrocyte catalase inactivation (H₂O₂ production) by ascorbic acid and glucose in presence of aminotriazole: role of transition metals and relevance to diabetes / Ou P., Wolf S.P. // Biochem. J. — 1994. — Vol. 303. — P. 935—940.
10. *World Medical Association Declaration of Helsinki: Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects.* — UMS. — 2002. — P. 42—46.

Б. В. Яковенко, А. П. Третяк, О. Б. Мехед, А. Д. Хайтова, Н. А. Симонова
Черниговский национальный педуниверситет имени Т. Г.Шевченко

ВЛИЯНИЕ КСЕНОБИОТИКОВ НА АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ В ТКАНЯХ КАРПА

Приведены данные об активности антиоксидантных ферментов - супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы и каталазы в печени и белых мышцах карпа при разных условиях содержания.

Ключевые слова: перекисное окисление липидов, антиоксидантные ферменты, карп, печень, белые мышцы, зенкор, натрий лаурилсульфат

B. V. Yakovenko, O. P. Tretiak, O. B. Mekhed, G. D. Haytova, N. A. Simonova
Chernihiv National Taras Shevchenko Pedagogical University, Ukraine

INFLUENCE OF XENOBIOTICS ON ANTIOXIDANT ENZYMATIC ACTIVITIES
IN CARP TISSUES

The article provides the data obtained in the study of antioxidant enzymatic activities - superoxide dismutase, glutathione peroxidase and catalase in the liver and white muscle of carp under different conditions.

The aim of the research is to analyze the influence of toxic conditions of maintenance the activity of antioxidant enzymes of white muscles and a liver of a carp (*Cyprinus carpio* L.). Xenobiotics is commonly used in agriculture and everyday life. The subject of the research is the carp (*Cyprinus carpio* L.). One of the representatives of surfactants is sodium lauryl sulfate. It is a mixture of alkyl sodium sulfate and contains 55-85% of sodium dodecyl sulfate. The main feature of the mechanism of sensibilizing action of preparation on the basis of surfactants is that the detergents interact with a cell membrane of the organs and the muscles and this process is accompanied by the replacement of enzymatic activity and sudden increase in permeability of cell membrane.

Herbicide zenkor (metribuzin, 4-amino-3-methylmercapto-6 tert-butyl-1,2,4-triazine-5) is known as an efficient potato pest control agent. Intoxication of zenkor affects the behavior, causes histological and energetical changes of the fish organism. Adding zenkor and surfactants containing sodium lauryl sulfate into the water of the aquarium triggers changes of activity of all three enzymes under research - superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase in the muscles of the capr. The peak of enzymatic activities under toxic influence of zenkor is observed on the example of superoxide dismutase of the liver (up to 46.15% in comparison with the control). The enzymes of white muscles show less favourable effect of the herbicide (increase of the activity of the glutathione peroxidase to 34.65% in comparison with the control). As a result of the research study, sodium lauryl sulfate synthetical detergent causes the greatest changes of enzymatic activities of the liver superoxide dismutase (the activity increasing up to 51.38% in comparison with the control group of fish). The enzymes of the white muscles of the carp proved to be more sensitive to the influence of zenkor (34.65%). The multistage antioxidant system securing the cell protection relies on complex biochemical processes and thus enables the optimal metabolic balance of the cell.

Keywords: lipid peroxidation, antioxidant enzymes, carp, liver, white muscle, zenkor, sodium lauryl sulfate

Рекомендує до друку
В. В. Грубінко

Надійшла 15.02.2017