

УДК 159.9.075/597.55:577.12:546.3

В. О. ХОМЕНЧУК, В. Я. БИЯК, Б. З. ЛЯВРІН, В. З. КУРАНТ

Тернопільський національний педагогічний університет імені Володимира Гнатюка
вул. М. Кривоноса, 2, Тернопіль, 46027

КОРЕЛЯЦІЙНИЙ АНАЛІЗ ВМІСТУ МЕТАЛІВ ТА ПОКАЗНИКІВ БІЛКОВО-НУКЛЕЇНОВОГО ОБМІНУ В ОРГАНІЗМІ ПРІСНОВОДНИХ РИБ

Проаналізовано кореляційні зв'язки (коефіцієнт кореляції Пірсона) між кількістю акумульованих металів в тканинах риб (короп – *Cyprinus carpio* L., карась – *Carassius carassius* L., окунь – *Perca fluviatilis* L., щука – *Esox lucius* L.) та окремими метаболічними показниками в їх тканинах (вміст рибонуклеїнової кислоти (РНК), активності аланінамінотрансферази (АлАТ), аспартатамінотрансферази (АсАТ) і сукцинатдегідрогенази (СДГ)). Встановлено, що показники кореляції між вмістом металу та окремими метаболічними параметрами у прісноводних риб залежать від природи металу і є видо- та тканиноспецифічними. Отримані показники можуть бути використані для оцінки забруднення водних екосистем металами.

Ключові слова: риби, метали, рибонуклеїнова кислота, амінотрансфераза, сукцинатдегідрогеназа, кореляція

Підвищення концентрації йонів металів у водному середовищі призводить, як правило, до надмірного їх надходження в організм гідробіонтів, включно риб [14]. Кількість акумульованого металу в органах та тканинах визначається природою металу та його фізіологічною роллю в організмі [11].

Зростання концентрації металів в організмі риб змінює процеси синтезу макромолекул, функціонування ферментативних систем та співвідношення метаболітів. Біохімічна адаптація до несприятливих умов середовища передбачає формування компенсаторно-адаптивної відповіді трьома шляхами: зміна активності метаболічних систем, підтримання необхідної кількості функціональних макромолекул та синтез їх нових типів [13].

Тому в даній роботі нами було вирішено проаналізувати кореляційні зв'язки між рівнем накопичення металів та окремими показниками білково-нуклеїнового і енергетичного обміну в тканинах прісноводних риб.

Матеріал і методи досліджень

Для експерименту використовували коропа (*Cyprinus carpio* L.), карася (*Carassius carassius* L.), окуня (*Perca fluviatilis* L.) та щуку (*Esox lucius* L.) масою 290-330 г, 150-230 г, 170-230 г та 200-350 г відповідно. Для дослідження риб брали з водойм Тернопільського рибокомбінату безпосередньо перед експериментом.

Досліджували тканини білих м'язів спини, передньої долі печінки та зябер. Після препаратії органів риб проби на холоді розтирали і використовували для приготування гомогенатів.

Нуклеїнові кислоти визначали спектрофотометрично за Цанєвим Р. Г. і Марковим Г. Г. [10], враховуючи рекомендації авторів [3].

Активність аланінамінотрансферази та аспартатамінотрансферази (КФ 2.6.1.2 і 2.6.1.1) визначали за Пасхіною Т. С. [9]. Активність сукцинатдегідрогенази визначали ферриціанатним методом [8]. Для визначення вмісту заліза, кобальту, марганцю, цинку та міді в тканинах, останні спалювали в перегнаній нітратній кислоті у співвідношенні 1:5 (маса:об'єм). Вміст зазначених металів визначали на атомно-адсорбційному спектрофотометрі С-115 і виражали в міліграмах на кілограм сирової маси.

Коефіцієнт кореляції обчислювали за формулою Пірсона. Одежані дані обробляли статистично за загальноприйнятою методикою з використанням t-критерію Стьюдента [7].

Результати досліджень та їх обговорення

Аналіз показників кореляції між кількістю накопичених металів в тканинах риб та метаболічними показниками білкового, енергетичного та нуклеїнового обміну може допомогти опосередковано оцінити стан забруднення навколишнього середовища йонами металів. Для досягнення поставленого завдання нами було розраховано коефіцієнт кореляції Пірсона між кількістю акумульованих металів у тканинах риб та вмістом РНК, активностями амінотрансфераз і сукцинатдегідрогенази.

Відомо, що кореляційні зв'язки між вмістом металу та кількістю нуклеїнових кислот у тканинах риб більш виражені для РНК. Результати підтверджуються в роботі [4], де в експериментах на плідниках коропа за дії міді та марганцю встановлено вірогідні зміни вмісту РНК, на фоні стабільного рівня ДНК, в печінці та зябрах риб.

При аналізі кореляційних зв'язків між вмістом металу у тканинах та кількістю рибонуклеїнової кислоти в печінці коропа слід відмітити зменшення вмісту РНК за збільшення кількості акумульованого заліза, марганцю і міді та зростання її вмісту за умов нагромадження кобальту і цинку (рис. 1).

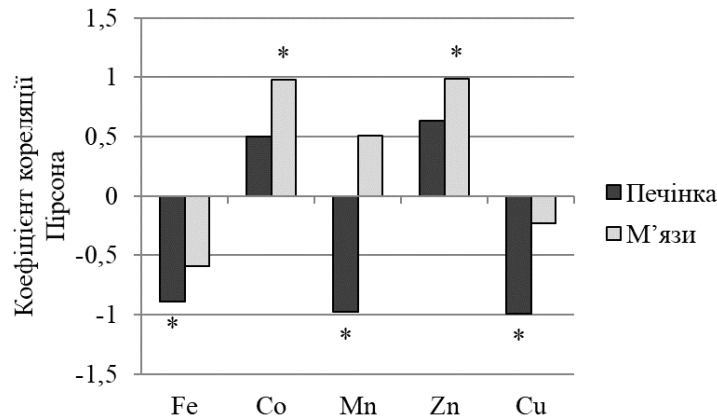


Рис. 1. Коефіцієнт кореляції Пірсона між вмістом йонів металів у тканинах коропа та вмістом РНК (* - $p < 0,05$)

Між вмістом металів у м'язах коропа та РНК спостерігається підвищення рівня нуклеїнової кислоти при збільшенні вмісту кобальту, марганцю та цинку, а за збільшення вмісту заліза та міді у м'язах рівень РНК знижується.

У тканинах карася (рис. 2) позитивна кореляція спостерігається між вмістом РНК та вмістом заліза, кобальту і цинку у печінці та цієї ж нуклеїнової кислоти і усіх досліджуваних металів, за винятком заліза, у м'язах.

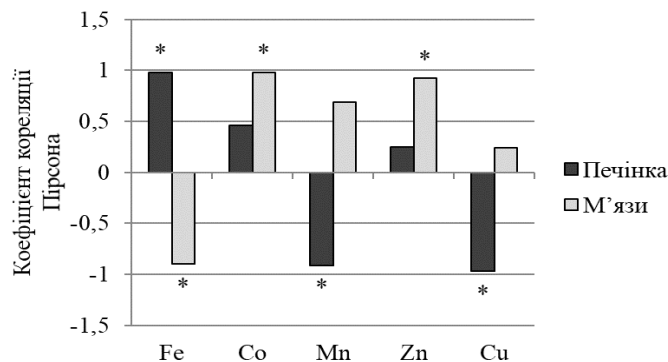


Рис. 2. Коефіцієнт кореляції Пірсона між вмістом йонів металів в тканинах карася та вмістом РНК (* - $p < 0,05$)

У печінці окуня зміна кількості кобальту та цинку веде до підвищення вмісту РНК (рис. 3), а накопичення заліза та марганцю – до зниження концентрації рибонуклеїнової кислоти. В м'язах підвищення вмісту досліджуваних металів, за винятком міді, впливає на зростання кількості РНК у цій тканині.

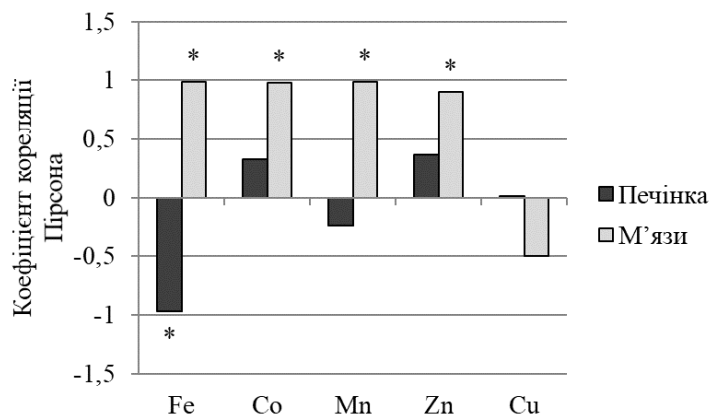


Рис. 3. Коефіцієнт кореляції Пірсона між вмістом йонів металів та вмістом РНК в тканинах окуня (* - $p < 0,05$)

У тканинах щуки підвищення вмісту РНК, як і у печінці, так і у м'язах спостерігається за накопичення у цьому ж органі кобальту та цинку (рис. 4).

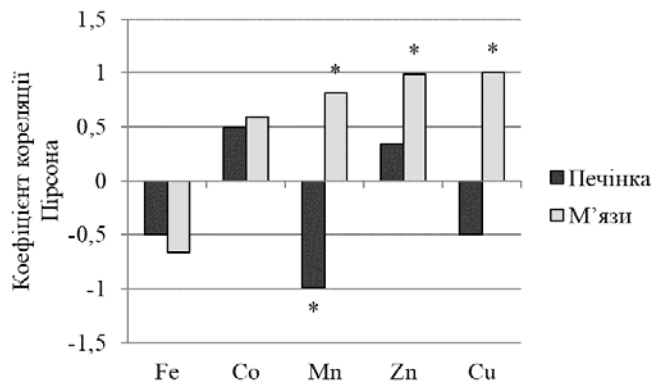


Рис. 4. Коефіцієнт кореляції Пірсона між вмістом йонів металів в тканинах щуки та вмістом РНК (* - $p < 0,05$)

Негативна кореляція у тканинах печінки та м'язів спостерігається у відношенні заліза. Зміна вмісту марганцю та міді веде до зниження концентрації нуклеїнової кислоти у печінці та підвищення її вмісту у м'язах щуки.

Між вмістом металів та рибонуклеїнової кислоти у тканинах риб простежуються чіткі кореляційні зв'язки. Так, спостерігається позитивна кореляція між кількістю акумульованих кобальту, марганцю і цинку та рівнем нуклеїнових кислот у м'язах всіх досліджуваних видів риб. Встановлено наявність позитивної кореляції між вмістом кобальту і цинку та кількістю РНК в печінці усіх досліджуваних видів риб. Негативні кореляції для всіх видів риб відмічено між кількістю марганцю та вмістом РНК у печінці.

Слід сказати, що біогенні метали, внесені у воду в низьких концентраціях, стимулюють обмін нуклеїнових кислот в тканинах риб. При дослідженні впливу марганцю (0,1 мг/л) на вміст нуклеїнових кислот в організмі коропа [6] було виявлено збільшення вмісту РНК в м'язах. Аналогічну стимулюючу дію на нуклеїновий обмін в риб проявляють йони цинку [5]. Отже, метали, навіть в незначних концентраціях у воді, активно впливають на обмін нуклеїнових кислот, зокрема РНК, в тканинах риб і можуть бути використані як ефективний засіб направленої дії на метаболічні процеси в організмі гідробіонтів.

Як показують результати нашого аналізу (рис. 5), активність АлАТ печінки коропа позитивно корелює з вмістом у цьому органі йонів кобальту та цинку і негативно — з вмістом заліза, марганцю і міді. Активність АсАТ негативно корелює із вмістом усіх досліджуваних металів.

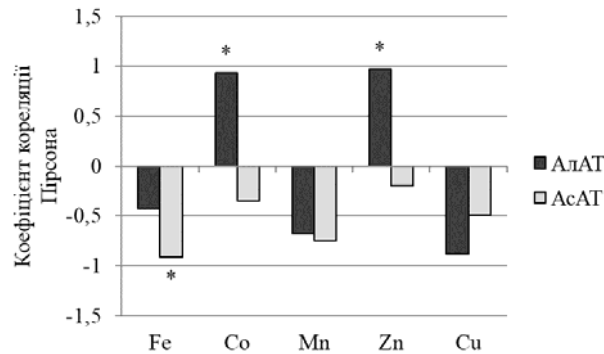


Рис. 5. Коефіцієнт кореляції Пірсона між вмістом йонів металів в печінці коропа та активністю трансаміназ (* - $p < 0,05$)

Для АлАТ печінки карася характерна позитивна кореляція для заліза і кобальту та негативна для марганцю, цинку і міді (рис. 6). Активність АсАТ знижується за збільшення вмісту заліза і цинку та зростає — за впливу кобальту, марганцю та міді.

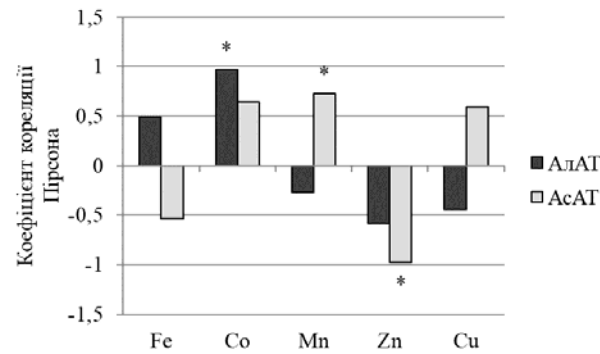


Рис. 6. Коефіцієнт кореляції Пірсона між вмістом йонів металів в печінці карася та активністю трансаміназ (* - $p < 0,05$)

Результати кореляційного аналізу між активністю ферментів переамінування у окуня (рис. 7) показали негативний взаємозв'язок із вмістом металів у тканинах та активністю аланінамінотрансферази та позитивний взаємозв'язок із активністю аспаратамінотрансферази.

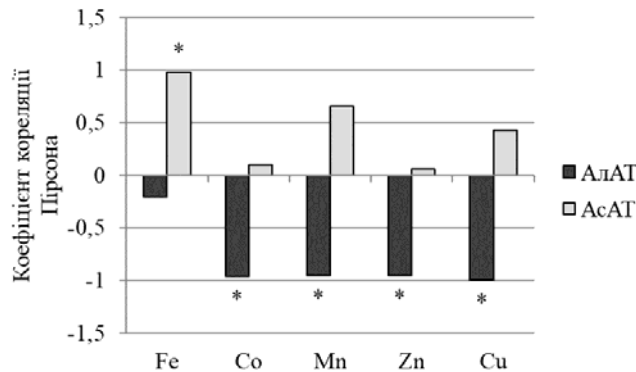


Рис. 7. Коефіцієнт кореляції Пірсона між вмістом йонів металів в печінці окуня та активністю трансаміназ (* - $p < 0,05$)

У печінці шуки аналіз кореляцій між металами та функціонуванням амінотрансфераз показав (рис. 8) негативний взаємозв'язок між вмістом кобальту, марганцю, цинку і активністю АлАТ та кількістю цинку та активністю АсАТ. Позитивна кореляція виявлена між показниками активності АлАТ і вмістом заліза та міді, а також між активністю АсАТ та кількістю заліза, кобальту і міді.

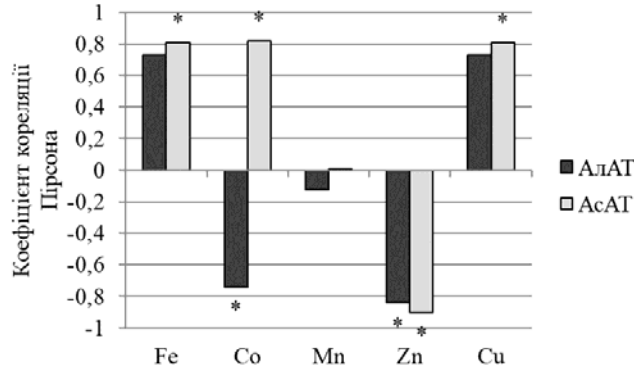


Рис. 8. Коефіцієнт кореляції Пірсона між вмістом йонів металів в печінці шуки та активністю трансаміназ (* - $p < 0,05$)

Кореляційні взаємозв'язки між активністю АсАТ та вмістом йонів металів у печінці досліджуваних видів риб складні. Слід відмітити зниження активності ферменту зі зростанням вмісту цинку в печінці карася і шуки та зростання активності АсАТ з підвищеним акумулюванням заліза, кобальту і міді в печінці шуки. Беручи до уваги значний вміст марганцю і цинку у воді досліджуваних малих річок (Серет, Стрипа, Золотої Липа) [1], значне накопичення вищевказаних металів в тканинах риб та зниження активності трансаміназ, отримані результати кореляційного аналізу можуть бути використані для оцінки забруднення водного середовища йонами цинку та марганцю. Слід відзначити, що більш чутливою є кореляція між вмістом металів та активністю АлАТ печінки (особливо у окуня), де чітко простежується зниження ферментативної активності на фоні зростання кількості акумульованого металу.

Як показали результати нашого аналізу, між вмістом марганцю і міді в печінці та зябрах коропа (рис. 9), цинку в обох досліджуваних тканинах карася (рис.10), міді в печінці та зябрах окуня (рис. 11), марганцю в печінці і зябрах шуки (рис. 12) та активністю сукцинатдегідрогенази відмічено слабкі кореляційні зв'язки.

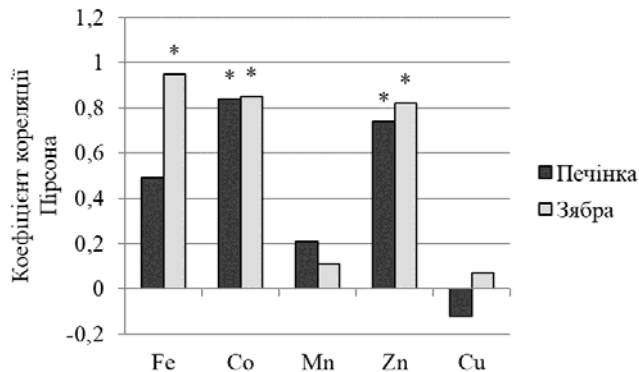


Рис. 9. Коефіцієнт кореляції Пірсона між вмістом йонів металів в тканинах коропа та активністю сукцинатдегідрогенази (* - $p < 0,05$)

Разом з тим, у коропа відмічено позитивну кореляцію між вмістом заліза, кобальту, цинку та активністю сукцинатдегідрогенази в обох досліджуваних тканинах (рис. 9). Відмічено

також, що підвищені кількості марганцю та міді у печінці і кобальту у зябрах викликали зниження ферментативної активності у карася (рис. 10).

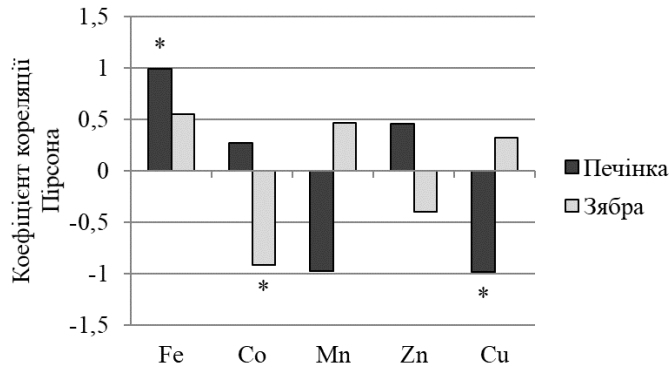


Рис. 10. Коефіцієнт кореляції Пірсона між вмістом йонів металів в тканинах карася та активністю сукцинатдегідрогенази (* - $p < 0,05$)

Для окуня позитивні кореляційні зв'язки спостерігали між вмістом кобальту і цинку та активністю ферменту у досліджуваних тканинах (рис. 11).

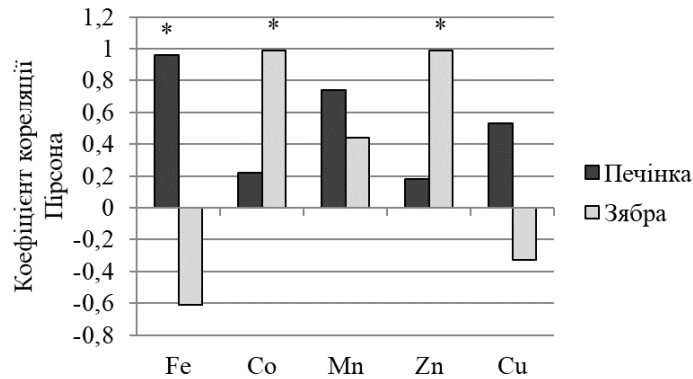


Рис. 11. Коефіцієнт кореляції Пірсона між вмістом йонів металів в тканинах окуня та активністю сукцинатдегідрогенази (* - $p < 0,05$)

У щуки між активністю сукцинатдегідрогенази та вмістом цинку і кобальту в печінці та зябрах простежується позитивна кореляція. Негативну кореляцію було відмічено між вмістом заліза і міді та активністю сукцинатдегідрогенази в печінці щуки.

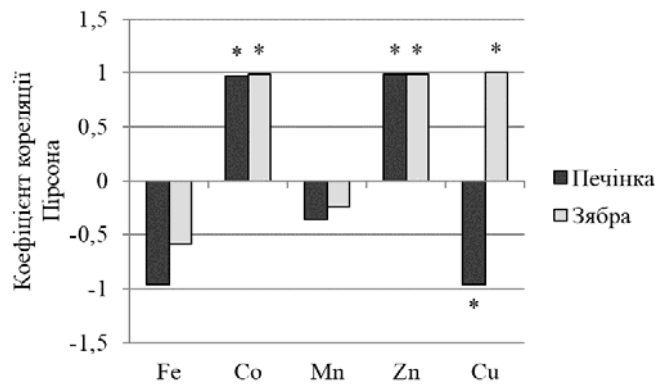


Рис. 12. Коефіцієнт кореляції Пірсона між вмістом йонів металів в тканинах щуки та активністю сукцинатдегідрогенази (* - $p < 0,05$)

В загальному можна відмітити, що для печінки досліджуваних видів риб більшою мірою простежуються вірогідні кореляційні зв'язки між накопиченням металів та активністю

сукцинатдегідрогенази. Це може обумовлюватись тим, що печінка є органом, який депонує значні кількості металів [2]. Зазначене явище може суттєво порушувати роботу ферментів енергетичного обміну [18] шляхом неспецифічної взаємодії з активними групами ензимів, пошкоджувати конформаційні структури білкової молекули [15], вести до зміни йонного гомеостазу в результаті металічної інтоксикації чи стимуляції утворення активних форм кисню [16]. Окрім того, дія йонів металів викликає інгібування сукцинатдегідрогенази за рахунок того, що до складу активного центру ферменту входить —SH група, яка володіє високою спорідненістю до більшості вказаних металів [17].

Таким чином, отримані результати кореляційного аналізу можуть бути використані як високочутливі тести реакції відповіді організму риб на дію йонів металів.

Висновки

Отже, показники кореляції між вмістом металу та окремими метаболічними показниками у прісноводних риб залежать від природи металу, виду риб та є тканиноспецифічними. На підставі аналізу кореляційних зв'язків між кількістю акумульованого кобальту, марганцю і цинку та рівнем РНК в м'язах, вмісту кобальту та цинку і кількістю рибонуклеїнової кислоти печінки, активністю ферментів переамінування та йонів цинку і марганцю можна певним чином оцінити стан забруднення оточуючого водного середовища зазначеними металами.

1. *Аналіз окремих гідрохімічних показників деяких малих річок Західного Поділля* / [В. Я. Бияк, Б. З. Ляврін, В. О. Хоменчук та ін.] // Наукові записки Тернопільського національного педагогічного університету імені Володимира Гнатюка. Серія: Біологія. — Тернопіль, 2010. — № 4 (45). — С. 115—121.
2. *Вплив деяких факторів водного середовища на накопичення важких металів в організмі коропа* / [В. О. Хоменчук, В. З. Курант, І. М. Коновець та ін.] // Доп. НАН України. — 2000. — № 5. — С. 97—100.
3. *Галкин В. В.* К вопросу о количественном определении нуклеиновых кислот биохимическими методами в тканях различных животных / В. В. Галкин, Г. Д. Бердышев // Биохимия. — 1968. — Т. 33, №1. — С. 66—76.
4. *Евтушенко Н. Ю.* Влияние тяжелых металлов водной среды на содержание нуклеиновых кислот и активность нуклеаз некоторых органов и тканей производителей карпа в репродуктивный период / Н. Ю. Евтушенко, А. С. Потрохов, О. Г. Зинковский // Материалы II Всес. конф. по рыбохоз. токсикол. (С.-Петербург, ноябрь, 1991 г.). — С.-Петербург, 1991. — Т. 1. — С. 177—178.
5. *Курант В. З.* Влияние цинка на содержание белков и нуклеиновых кислот в тканях карпа / В. З. Курант, О. М. Арсан // Гидробиол. журн. — 1991. — Т. 27, № 6. — С. 45—48.
6. *Курант В. З.* Вплив марганцю на вміст нуклеїнових кислот і білків у тканинах коропа / В. З. Курант, О. М. Арсан // Доповіді АН УРСР. — 1990. — № 9 Б. — С. 60—62.
7. *Лакин Г. Ф.* Биометрия / Г. Ф. Лакин. — М. : Высшая школа, 1990. — 351 с.
8. *Определение активности сукцинатдегидрогеназы* // Современные методы в биохимии / [под ред. В.Н. Ореховича.] — М. : Медицина, 1977. — С. 44.
9. *Пасхина Т. С.* Инструкция по определению глутамикоаспарагиновой и глутамикоаланиновой трансминазы (аминофераз) в сыворотке крови человека / Т. С. Пасхина. — М. : Здоровье, 1974. — 22 с.
10. *Цанев Р. Г.* К вопросу о количественном спектрофотометрическом определении нуклеиновых кислот / Р. Г. Цанев, Г. Г. Марков // Биохимия. — 1960. — Т. 25, № 1. — С. 151—159.
11. *Avenant-Oldewage A.* Bioaccumulation of chromium, copper and iron in the organs and tissues of *Clarias gariepinus* in the Olifants River, Kruger National Park / A. Avenant-Oldewage, H.M. Marx // Water SA. — 2000. — Vol. 26. — No. 4. — P. 569—582.
12. *Chapman P.M.* Issues in ecological risk assessment of inorganic metals and metalloids / P.M. Chapman, F. Wang // Hum. Ecol. Risk Assess. — 2000. — Vol. 6. — P. 965—988.
13. *Hochachka P. W.* Biochemical Adaptation: Mechanism and Process in Physiological Evolution / P. W. Hochachka, G. N. Somero. — Oxford : Oxford University Press, 2002. 466 p.
14. *Homeostasis and Toxicology of Essential Metals* / Wood C. M., Farrel A. P., Brauner C. J., Eds.; Academic Press: London, 2012. — 497 p.
15. *Ochiai E. I.* Toxicity of heavy metals and biological defense: principles and application in bioinorganic chemistry / E. I. Ochiai // J. Chem. Educ. — 1995. — Vol. 72, № 6. — P. 479—484.
16. *Popper H. H.* Comparison of chromate and vanadate toxicity and its relationship to oxigen radical formation / H. H. Popper, A. Woldrich, E. Grigar // Zbl. Hyg. Und Umweltmed. — 1991. — Vol. 194, № 4. — P. 373—379.
17. *Sonawane S.M.* Effect of heavy metals on SDH and LDH enzymes activity of Bivalve *Lamellidens marginalis*. . . . / Sandhya M. Sonawane // IOSR J. Pharm. — 2017. — Vol.7. — P. 32—39

18. Wells T. Inhibition of phosphomanose isomerase by mercury ions / T. Wells, M. Payton, A. Proudfoot // Biochem. — 1994. — Vol. 33, № 24. — P. 7641—7647.

В. А. Хоменчук, В. Я. Бьяк, Б. З. Ляврин, В. З. Курант

Тернопольский национальный педагогический университет имени Владимира Гнатюка

КОРРЕЛЯЦИОННЫЙ АНАЛИЗ СОДЕРЖАНИЯ МЕТАЛЛОВ И ПОКАЗАТЕЛЕЙ БЕЛКОВО-НУКЛЕИНОВОГО ОБМЕНА В ОРГАНИЗМЕ ПРЭСНОВОДНЫХ РЫБ

Проанализированы корреляционные связи (коэффициент корреляции Пирсона) между количеством аккумулированных металлов в тканях рыб (каrp – *Cyprinus carpio* L., карась – *Carassius carassius* L., окунь – *Perca fluviatilis* L., щука – *Esox lucius* L.) и отдельными метаболическими показателями в их тканях (содержание рибонуклеиновой кислоты (РНК), активности аминотрансфераз (АЛаТ, АСаТ) и сукцинатдегидрогеназы (СДГ)). Показано, что показатели корреляции между содержанием металла и отдельными метаболическими показателями в пресноводных рыб зависят от природы металла и являются видо- и тканеспецифическими. Полученные показатели могут быть использованы для оценки загрязнения водных экосистем металлами.

Ключевые слова: рыбы, металлы, рибонуклеиновая кислота, аминотрансфераза, сукцинатдегидрогеназа, корреляция

V. O. Khomenchuk, V. Ya. Biyak, B. Z. Lyavrin, V. Z. Kurant

Volodymyr Gnatyuk Ternopil National Pedagogical University, Ukraine

CORRELATIONAL ANALYSIS OF CONTENTS OF METALS AND INDICATORS OF PROTEIN-NUCLEIN METABOLISM IN ORGANISM OF FRESHWATER FISH

Correlational relations (Pearson correlation coefficient) between the amount of accumulated metals in fish tissues (carp – *Cyprinus carpio* L., crucian carp – *Carassius carassius* L., perch – *Perca fluviatilis* L., pike – *Esox lucius* L.) and the individual metabolic parameters in their tissues (the content of ribonucleic acid (RNA), the activity of the alanine aminotransferase (AIT), aspartate aminotransferase (AspAT) and succinate dehydrogenase (SDH)). It has been established that there is a clear correlation between the content of metals and RNA in fish tissues. A positive correlation between accumulated amount of cobalt, manganese and zinc and the level of nucleic acids in the muscles of all fish species under research was shown. There is a positive correlation between the content of cobalt, manganese and zinc and the amount of RNA in the liver of all investigated fish species. Negative correlations of all species are indicated between the amount of manganese and the content of RNA in a liver. There are complex correlational relations between the activity of AspAT and the content of metal ions in the liver of investigated species of fish. It should be noted that the activity of the enzyme decreases zinc content in the liver of crucian carp and pike, increasing activity of AspAT with an increased accumulation of iron, cobalt and copper in the liver of the pike. It should be noted that the more sensitive is the correlation between the content of metals and the activity of the AIT in the liver (especially in the perch), where it is clearly observed reduction of enzymatic activity against the background of the growth of the amount of metals. It is indicated that for liver, in comparison with gills of investigated species fish, the probable correlation relations are more likely to be traced between the accumulation of metals and the activity of succinate dehydrogenase. This may be due to the fact that the liver is an organ that stores significant amounts of metals. A correlations coefficient between the amount of metals and individual metabolic parameters in tissues of freshwater fish can be used to evaluate the pollution by metals in water ecosystems.

Key words: fish, metals, ribonucleic acid, aminotransferase, succinate dehydrogenase, correlation

Рекомендує до друку

Надійшла 06.03.2018

О. Б. Столяр