УДК 577.15:639.215: 576.72

ВПЛИВ СЕЗОНУ НА АКТИВНІСТЬ СИСТЕМИ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ В ПЕЧІНЦІ І СКЕЛЕТНИХ М'ЯЗАХ ТОВСТОЛОБИКА

Н. П. Олексюк, В. Г. Янович

Інститут біології тварин УААН

Наведені дані про вміст продуктів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) — дієнових кон'югатів, гідроперекисів і малонового діальдегіду — та активність антиоксидантних ферментів — супероксиддисмутази, глутатіонпероксидази і каталази — у печінці та скелетних м'язах товстолобика у різні пори року. Встановлено, що у літній період активність супероксиддисмутази та глутатіонпероксидази у досліджуваних тканинах товстолобика вища, а вміст продуктів ПОЛ — нижчий, ніж у зимовий період.

Ключові слова: ПЕРЕКИСНЕ ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ, ПРОДУКТИ ПОЛ, АНТИОКСИДАНТНІ ФЕРМЕНТИ, СЕЗОН, ТОВСТОЛОБИК.

У процесі метаболізму в організмі тварин, у тому числі у риб, утворюються активні форми кисню (АФК), які характеризуються високою реакційною здатністю. Вони окиснюють поліненасичені жирні кислоти фосфоліпідів клітинних мембран, внаслідок чого утворюються гідроперекиси, які проявляють деструктивну дію на клітинні мембрани і біополімери (білки, нуклеїнові кислоти, ліпіди) [1–3]. Вміст продуктів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) у скелетних м'язах і печінці ставкових риб, зокрема у товстолобика, значно змінюється протягом сезону [4], проте біохімічні механізми цих змін з'ясовані недостатньо. Відомо, що захист поліненасичених жирних кислот від перекисного окиснення забезпечує антиоксидантна система, яка включає дві ланки: ферментну і неферментну. У ферментну ланку входять супероксиддисмутаза, глутатіонпероксидаза і каталаза, у неферментну — природні антиоксиданти, найбільш активними з яких є вітаміни Е, С, А та каротиноїди [3]. Проведені нами раніше дослідження показали обернену залежність між змінами вмісту продуктів ПОЛ й активністю ферментів супероксиддисмутази (СОД) і глутатіонпероксидази (ГП) у печінці і скелетних м'язах коропа протягом річного циклу вирощування [5]. Метою даної роботи було дослідження вмісту продуктів ПОЛ — дієнових кон'югатів, гідроперекисів і малонового діальдегіду — та активності антиоксидантних ферментів — супероксиддисмутази, глутатіонпероксидази і каталази — у печінці та скелетних м'язах товстолобика на різних стадіях річного циклу вирощування. Даних про сезонні зміни активності системи антиоксидантного захисту в організмі товстолобика ми в літературі не виявили.

Матеріали і методи

У дослідженнях використані зразки печінки і скелетних м'язів дворічок строкатого товстолобика на різних стадіях річного циклу вирощування: в кінці літнього періоду (вересні), у період зимової перетримки (грудні і березні) і в середині літнього періоду (червні). Риби вирощувалися у дослідних ставах Львівського відділення Інституту рибного господарства УААН. Відібрані зразки тканин після декапітації виловлених риб заморожували в рідкому азоті та зберігали у такому стані до початку досліджень. У тканинах визначалась активність супероксиддисмутази (КФ 1.15.1.1) [6], глутатіонпероксидази (КФ 1.11.1.9) [7] і каталази (КФ 1.11.1.6) [8], а також вміст дієнових кон'югатів [9], гідро перекисів [10] та малонового діальдегіду [11]. Отримані цифрові дані опрацьовували статистично за допомогою програми *Microsoft* EXCEL.

Результати й обговорення

Проведені нами дослідження показали, що активність системи антиоксидантного захисту у печінці і скелетних м'язах товстолобика зазнає суттєвих змін протягом річного циклу вирощування.

З наведених у таблиці 1 даних видно, що вміст дієнових кон'югатів у печінці і скелетних м'язах товстолобика в середині (червні) і кінці (вересні) літнього періоду був у 1,5–2 рази менший (P<0,001), ніж на початку (грудень) і в кінці (березень) зимового періоду. При цьому виявлено також вірогідно більший (P<0,05–0,01) вміст гідроперекисів ліпідів в обох тканинах товстолобика у зимовий період, ніж у літній, а аналогічні різниці у вмісті малонового діальдегіду виражені меншою мірою. Ці дані свідчать про значно вищу інтенсивність перекисного окиснення ліпідів в організмі товстолобика у зимовий період, ніж у літній. При цьому початкові стадії перекисного окиснення ліпідів виражені значно більше, ніж проміжні і особливо кінцеві стадії. Ці різниці можна пояснити, з одного боку, гіпоксією риб у зимовий період [12], з другого — зменшенням вмісту природних антиоксидантів (вітамінів А, Е та каротиноїдів) [13] і активності антиоксидантних ферментів [5] у тканинах товстолобика, подібно до того, як це виявлено у коропа [5].

Таблиця 1

Вміст продуктів ПОЛ у тканинах товстолобика (M±m, n=4)

Місяці року	Печінка			Скелетний м'яз		
	Дієнові кон'югати, мкмоль/кг тканини	Гідроперекиси, од. опт. густ./ г тканини	Малоновий діальдегід, нмоль/ г тканини	Дієнові кон'югати, мкмоль/кг тканини	Гідроперекиси, од. опт. густ./ г тканини	Малоновий діальдегід, нмоль/ г тканини
Вересень	119,22±4,69	5,67±0,23	26,00±1,26	56,14±1,36	6,19±0,20	14,55±0,52
Грудень	177,32±5,82	6,82±0,12	32,92±1,02	133,98±1,75	7,51±0,17	16,52±0,73
Березень	185,1±6,74	7,26±0,19	28,69±1,31	104,5±2,97	7,56±0,12	14,26±0,83
Червень	106,79±5,97	5,69±0,10	23,44±0,19	51,84±0,97	4,32±0,13	11,57±0,63

З наведених у таблиці 2 даних видно, що активність супероксиддисмутази і глутатіонпероксидази у печінці і скелетних м'язах товстолобика у зимовий період, особливо в кінці нього, була значно нижча (P<0,001), ніж у літній період. Подібні сезонні зміни активності цих антиоксидантних ферментів нами виявлені у печінці і скелетних м'язах коропа [5]. Це можна пояснити тим, що збільшення вмісту продуктів перекисного окиснення ліпідів разом з гіпоксією у зимовий період приводить до зниження активності СОД і ГП. Після зимової перетримки у риб настає період відносної гіпероксигенації, що приводить до адаптивного збільшення активності супероксиддисмутази і глутатіонпероксидази у тканинах. Цим можна пояснити високу активність їх у печінці і скелетних м'язах товстолобика на початку літнього періоду. Збільшення активності ключових ферментів антиоксидантної системи СОД і ГП, а також вмісту вітамінів А, Е та каротиноїдів [13] у тканинах товстолобика у літній період приводить до зниження в них вмісту продуктів ПОЛ. Найвища активність супероксиддисмутази і глутатіонпероксидази у печінці товстолобика виявлена в кінці, а у скелетних м'язах — на початку літнього періоду.

Таблиця 2

Активність антиоксидантних ферментів у тканинах товстолобика (M±m, n=4)

Місяці року	Печінка			Скелетний м'яз		
	СОД, у.о./мг білка	Глутатіон-пероксидаза, мкмоль GSH/мг білка за хв.	Каталаза, ммоль H_2O_2/мг білка за хв.*10^{-5}	СОД, у.о./мг білка	Глутатіон-пероксидаза, мкмоль GSH/мг білка за хв.	Каталаза, ммоль H_2O_2/мг білка за хв.*10^{-5}
Вересень	4,70±0,20	4,35±0,06	8,62±0,09	5,87±0,17	2,59±0,12	2,75±0,15
Грудень	1,64±0,07	2,46±0,02	4,60±0,10	3,04±0,06	1,53±0,08	1,59±0,12
Березень	-	0,733±0,033	7,28±0,13	-	0,394±0,007	0,558±0,018

Червень	3,92±0,13	3,27±0,24	4,42±0,14	6,41±0,21	3,21±0,10	1,93±0,10

На відміну від СОД і ГП активність каталази у печінці товстолобика у кінці зимової перетримки (у березні) була досить високою. Високу активність каталази в цей період виявлено нами також при дослідженні печінки коропа [5]. Це зумовлено тим, що під впливом гіпоксії в тканинах риб активуються вільнорадикальні процеси, в яких утворюється ендогенний кисень внаслідок каталітичної дії каталази [14]. Високою активністю каталази у печінці товстолобика у кінці зимової перетримки можна пояснити зменшення в ній вмісту малонового діальдегіду. Проте вміст дієнових кон'югатів і гідроперекисів у цей час є найвищим. Активність каталази у скелетних м'язах товстолобика найнижча у кінці зимової перетримки, а найвища — у кінці літнього періоду.

Активність супероксиддисмутази у скелетних м'язах товстолобика у всі пори року є вища, а активність каталази — значно нижча, ніж у печінці, тоді як різниці в активності глутатіонпероксидази при цьому виражені значно менше. Ці різниці можна пояснити органо-тканинними особливостями метаболізму, в тому числі перекисного окиснення ліпідів в організмі риб.

З цих даних випливає, що виявлене нами збільшення вмісту продуктів перекисного окиснення ліпідів у печінці та скелетних м'язах товстолобика у зимовий період значною мірою обумовлена зниженням активності антиоксидантних ферментів — супероксиддисмутази та глутатіонпероксидази.

Загалом, одержані результати свідчать про значні зміни активності антиоксидантних ферментів у печінці та скелетних м'язах товстолобика залежно від сезону, про зв'язок між цими змінами і змінами продуктів ПОЛ у цих тканинах протягом річного циклу вирощування.

Висновки

У зимовий період вміст продуктів перекисного окиснення ліпідів у печінці та скелетних м'язах товстолобика значно вищий, а активність супероксиддисмутази і глутатіонпероксидази — значно нижча, ніж у літній період.

У кінці зимового періоду у печінці товстолобика виявлена висока активність каталази.

N. P. Oleksjuk, V. G. Yanovich

THE INFLUENCE OF SEASON ON ANTIOXIDANT ENZYMES ACTIVITY IN LIVER AND SKELETAL MUSCLES OF BIG HEAD CARP

S u m m a r y

The data about content of lipid peroxidation products — diene conjugates, lipid hydroperoxides, malonic dialdehyde — and activity of antioxidant enzymes — superoxide dismutase, glutathione peroxidase and catalase — in liver and skeletal muscles are presented in the article.

In winter the content of lipid peroxidation products in liver and skeletal muscles of big head carp was significantly higher and the activity of superoxide dismutase and glutathione peroxidase was significantly lower than in summer. In the end of winter the high activity of catalase was revealed.

The Institute of Animal Biology of the Academy of Agrarian Sciences of Ukraine, Lviv

1. *Winston G. W.* Oxidant and antioxidant in aquatic animals // Comp. Biochem. Physiol. C — 1991. — V. 100, № 1–2. — P. 173–176.

2. *Martines-Alvarez R. M., Morales A. E., Sanz A.* Antioxidant defenses in fish: biotic and abiotic factors // Rev. Fish Biol. Fish. —2005. — V. 15, № 1. — P. 75–88.

3. *Данчук В. В.* Пероксидне окиснення у сільськогосподарських тварин і птиці. — Кам'янець-Подільський: «АБЕТКА», 2006. — 190 с.

4. *Олексик Н. П., Янович В. Г.* Вплив сезону на перекисне окиснення ліпідів у тканинах ставкових риб // Біологія тварин. — Львів, 2003. — Т. 5, № 1–2. — С. 180–183.

5. *Олексик Н. П., Янович В. Г.* Вплив сезону на активність антиоксидантних ферментів у тканинах коропа // Біологія тварин. — Львів, 2006. — Т. 8, № 1–2. — С. 145–148.

6. *Дубинина Е. Е., Сальникова Л. Я., Ефимова Л. Ф.* Активность и изоферментный спектр СОД эритроцитов // Лаб. дело. — 1983. — № 10. — С. 30–33.

7. *Моин В. М.* Простой и специфический метод определения активности глутатионпероксидазы в эритроцитах // Лаб. дело. — 1986. — № 12. — С. 724–727.

8. *Королюк М. А., Иванова Л. И., Майорова И. Г., Токарев В. Е.* Метод определения активности каталазы // Лаб. дело. — 1988. — № 1. — С. 16–18.

9. Методи досліджень з фізіології і біохімії сільськогосподарських тварин. — Львів, 1998. — 92 с.

10. А. с. № 1084681 СССР, МКИ G № 33/48. Способ определения гидроперекисей липидов в биологических тканях / В. В. Мирончик (СССР). — № 3468369/28–13; Заявлено 08.07.82; Опубл. 07.04.84, оф. Бюл. № 13.

11. *Коробейникові Э. Н.* Модификация определения продуктов перекисного окисления липидов в реакции с тиобарбитуровой кислотой // Лаб. дело. — 1989. — В. 7. — С. 8–9.

12. *Goran E. Nilsson, Gillian M. C. Renshaw* Hypoxic survival strategies in two fishes: extreme anoxia tolerance in the North European crucian carp and natural hypoxic preconditioning in a coral-reef shark // J. Exp. Biol. — 2004. — № 207. — P. 3131–3139.

13. *Олексюк Н. П., Янович В. Г.* Вміст вітамінів А, Е і каротиноїдів у печінці і скелетних м’язах ставкових риб різних видів // Наук.-техн. бюл. Інституту біології тварин. — Львів, 2002. — В. 4, № 1. — С. 108–111.

14. *Тимочко М. Ф., Єлисєєва О. П., Кобилянська Л. І., Тимочко І. Ф.* Метаболічні аспекти формування кисневого гомеостазу в екстремальних станах. — Львів, 1998. — 142 с.