

ВПЛИВ СЕЗОНУ НА АКТИВНІСТЬ СИСТЕМИ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ У ПЕЧІНЦІ І СКЕЛЕТНИХ М'ЯЗАХ БІЛОГО АМУРА (*Stenopharyngodon idella*)

Н. П. Олексюк, Б. М. Куртяк, 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 білого амура (*Stenopharyngodon idella*) у різні пори року. Встановлено, що у літній період активність супероксиддисмутази та глутатіонпероксидази у досліджуваних тканинах білого амура вища, а вміст продуктів ПОЛ — нижчий, ніж у зимовий період. Виявлено високу активність каталази у печінці білого амура в кінці зимового періоду. Припускається, що у риб активація перекисного окиснення ліпідів спрямована на підтримку у їх тканинах високого рівня кисню, необхідного для аеробного метаболізму у зимовий період.*

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, 2]. Вміст продуктів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) у скелетних м'язах і печінці ставкових риб, зокрема у білого амура, значно змінюється залежно від сезону [3], 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 А, С, Е та каротиноїди [2]. 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 і товстолобика протягом річного циклу вирощування [4, 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 білого амура на різних стадіях річного циклу вирощування. Даних про сезонні зміни активності системи антиоксидантного захисту в організмі білого амура ми в літературі не виявили.

Матеріали і методи. У дослідженнях використані зразки печінки і скелетних м'язів дворічок білого амура 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 визначались 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], гідроперекисів [10] та малонового діальдегіду [11].

Одержані цифрові дані опрацьовували статистично за допомогою програми *Microsoft EXCEL*, використовуючи коефіцієнт Стюдента.

Результати та обговорення. Проведені нами дослідження показали, що активність системи антиоксидантного захисту у печінці і скелетних м'язах білого амура

(*Ctenopharyngodon idella*) значно змінюється протягом річного циклу вирощування, що свідчить про залежність її від сезону. Зокрема, з наведених у таблиці 1 даних видно, що на початку і в кінці зимового періоду (у грудні і березні відповідно) спостерігався значно більший вміст дієнових кон'югатів (у 1,5-2 рази), малонового діальдегіду (у 1,5-2 рази у печінці) і в меншій мірі гідроперекисів ліпідів у печінці і скелетних м'язах білого амура у порівнянні з літнім періодом (червень, вересень). Дані свідчать про вищу інтенсивність процесів перекисного окиснення у тканинах білого амура у зимовий період, ніж у літній. Аналогічні різниці, залежні від сезону, у вмісті продуктів ПОЛ виявлені у печінці і скелетних м'язах коропа і товстолобика [4, 5]. Це пояснюється, з одного боку, гіпоксією риб у зимовий період [12], а з другого — зменшенням вмісту природних антиоксидантів – вітамінів А, Е та каротиноїдів у тканинах білого амура [13].

Таблиця 1

Вміст продуктів ПОЛ у тканинах білого амура (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	77,77±4,93	5,72±0,04	20,38±1,43	67,21±1,06	5,28±0,13	16,09±0,71
Грудень	115,00±5,66	6,38±0,20	28,40±0,88	82,43±2,42	7,34±0,23	19,87±0,25
Березень	147,0±6,87	6,00±0,20	27,16±0,14	89,22±3,96	7,40±0,09	19,44±0,84
Червень	76,76±4,20	5,45±0,15	13,68±0,31	67,98±2,31	4,87±0,14	13,17±0,14

Активність антиоксидантних ферментів у печінці і скелетних м'язах білого амура (*Ctenopharyngodon idella*) також зазнає суттєвих змін протягом річного циклу вирощування. На відміну від продуктів ПОЛ, активність супероксиддисмутази та глутатіонпероксидази у печінці і скелетних м'язах білого амура у зимовий період, особливо у кінці нього (березні), значно нижча, ніж на початку літнього періоду (червні). Аналогічні сезонні зміни активності СОД і ГП спостерігаються також у печінці і скелетних м'язах коропа та товстолобика [4, 5]. Вплив гіпоксії у зимовий період приводить до збільшення вмісту продуктів ПОЛ, що, в свою чергу, пригнічує активність антиоксидантних ферментів в організмі риб. Після зимової перетримки у риб настає період відносної гіпероксигенації, що спричиняє адаптивне збільшення активності ключових ферментів антиоксидантної системи — СОД і ГП у тканинах [14]. Цим пояснюється висока активність цих ферментів у печінці і скелетних м'язах білого амура у літній період, особливо на початку нього. Підвищення активності супероксиддисмутази та глутатіонпероксидази одночасно із збільшенням вмісту природних антиоксидантів — вітамінів А, Е та каротиноїдів [13] у тканинах білого амура на початку літнього періоду приводить до зниження в них вмісту продуктів ПОЛ.

На відміну від СОД і ГП, активність каталази у печінці білого амура у кінці зимової перетримки була найвищою. Високу активність каталази виявлено також у печінці коропа і товстолобика у зимовий період [4, 5]. Це зумовлено тим, що під впливом гіпоксії в тканинах риб активуються вільнорадикальні процеси, в яких утворюється ендogenousний кисень внаслідок каталітичної дії каталази [15]. Можна припустити, що у риб активація перекисного окиснення ліпідів спрямована на підтримку у їх тканинах високого рівня кисню, необхідного для аеробного метаболізму у зимовий період.

Таблиця 2

Активність антиоксидантних ферментів у тканинах білого амура (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 ₂ O ₂ /мг білка за хв. *10 ⁻⁵	СОД, у.о./мг білка	Глутатіон-пероксидаза, мкмоль GSH/мг білка за хв.	Каталаза, ммоль H ₂ O ₂ /мг білка за хв. *10 ⁻⁵
Вересень	2,66±0,27	2,95±0,01	5,61±0,16	5,56±0,16	2,24±0,08	1,45±0,13

Грудень	1,85±0,09	2,55±0,16	5,64±0,10	3,06±0,15	1,39±0,20	1,46±0,08
Березень	—	1,50±0,07	7,29±0,18	—	0,390±0,007	0,403±0,017
Червень	5,63±0,05	4,08±0,12	4,59±0,03	6,64±0,28	3,74±0,11	0,630±0,10

Активність супероксиддисмутази у скелетних м'язах товстолобика у всі пори року 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. Крім того, показано, що дихальні гемопротеїди крові та скелетних м'язів тварин при дії стресорних факторів здатні виконувати функцію генераторів супероксиданіонів, які, після знешкодження СОД, забезпечують утворення резерву молекулярного кисню у вигляді пероксиду водню [15].

З одержаних нами даних випливає, що виявлене нами збільшення вмісту продуктів перекисного окиснення ліпідів у печінці та скелетних м'язах білого амура у зимовий період значною мірою обумовлено зниженням активності антиоксидантних ферментів — супероксиддисмутази та глутатіонпероксидази. Одержані результати свідчать про значні зміни активності антиоксидантних ферментів у печінці та скелетних м'язах білого амура залежно від сезону, про зв'язок між цими змінами і змінами вмісту продуктів ПОЛ у цих тканинах протягом річного циклу вирощування.

В И С Н О В К И

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

У кінці зимового періоду у печінці білого амура виявлена висока активність каталази.

ВЛИЯНИЕ СЕЗОНА НА АКТИВНОСТЬ СИСТЕМЫ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ В ПЕЧЕНИ И СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦАХ БЕЛОГО АМУРА (*Ctenopharyngodon idella*)

Н. П. Олексюк, Б. М. Куртяк, В. Г. Янович

А Н Н О Т А Ц И Я

Представлены данные о количестве продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) – диеновых конъюгатов, гидроперекисей липидов, малонового диальдегида, и активности антиоксидантных ферментов – супероксиддисмутаза, глутатіонпероксидазы и каталазы – в печени и скелетных мышцах белого амура (*Ctenopharyngodon idella*) в разные времена года. Установлено, что в летний период активность супероксиддисмутаза и глутатіонпероксидазы в исследуемых тканях белого амура выше, а количество продуктов ПОЛ ниже, чем в зимний период. Обнаружено высокую активность каталазы в печени белого амура в конце зимнего периода. Допускается, что у рыб активация перекисного окисления липидов направлена на поддержку в их тканях высокого уровня кислорода, необходимого для аэробного метаболизма в зимний период.

THE INFLUENCE OF SEASON ON ANTIOXIDANT DEFENSES ACTIVITY IN LIVER AND SKELETAL MUSCLES OF CARP (*Ctenopharyngodon idella*)

N. P. Oleksjuk, B. M. Kurtjak, V. G. Yanovich

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 of carp (*Ctenopharyngodon idella*) are presented in the article.

In winter the content of lipid peroxidation products in liver and skeletal muscles of carp (*Ctenopharyngodon idella*) was significantly higher and the activity of superoxide dismutase and glutathione peroxidase was significantly lower than in summer. In the end of winter in carp's liver (*Ctenopharyngodon idella*) the high activity of catalase was observed. It is assumed that the activation of lipid peroxidation in fish is directed on supporting the high level of oxygen in their tissues and is necessary for aerobic metabolism in winter period.

ЛІТЕРАТУРА

1. Halliwell B. Free radicals in biology and medicine [Text] / B. Halliwell, J. M. C. Gutteridge. — Oxford : Oxford University Press, 1999. — 968 p. — 1000 c. — ISBN 0198500440.

2. Данчук В. В. Пероксидне окиснення у сільськогосподарських тварин і птиці [Текст] / В. В. Данчук. — Кам'янець-Подільський : Абетка, 2006. — 192 с. — 300 пр. — ISBN 966-682-305-5.

3. Олексюк Н. П. Вплив сезону на перекисне окиснення ліпідів у тканинах ставкових риб [Текст] / Н. П. Олексюк, В. Г. Янович // Біологія тварин. — 2003. — Т. 5, № 1–2. — С. 180–183.

4. Олексюк Н. П. Вплив сезону на активність антиоксидантних ферментів у тканинах коропа [Текст] / Н. П. Олексюк, В. Г. Янович // Біологія тварин. — 2006. — Т. 8, № 1–2. — С. 145–148.

5. Олексюк Н. П. Вплив сезону на активність системи антиоксидантного захисту в печінці і скелетних м'язах товстолобика [Текст] / Н. П. Олексюк, В. Г. Янович // Біологія тварин. — 2007. — Т. 9, № 1–2. — С. 123–126.

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

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

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

9. Влізла В. В. Фізіолого-біохімічні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині : Довідник / Під ред. В. В. Влізла, Р. С. Федорука, І. А. Макара та ін. — Львів : ВМС, 2004. — 399 с. — 300 пр.

10. А. с. № 1084681 СССР, МКИ G № 33/48. Способ определения гидроперекисей липидов в биологических тканях / В. В. Мирончик (СССР). — № 3468369/28–13 ; заявл. 08.07.82 ; опубл. 07.04.84, оф. бюл. № 13. — 2 с.

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

12. Lushchak V. I. Hypoxia and recovery perturb free radical processes and antioxidant potential in common carp (*Cyprinus carpio*) tissues [Text] / V. I. Lushchak, T. V. Bagnyukova, O. V. Lushchak, J. M. Storey, K. B. Storey // Int. J. Biochem. Cell Biol. — 2005. — 37, № 6. — P. 1319–1330.

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

14. Ritola O. Effect of *in vitro* exposure ozone and/or hyperoxia on superoxide dismutase, catalase, glutathione and lipid peroxidation in red blood cells and plasma of rainbow trout,

Oncorhynchus mykiss (Walbaum) [Text] / O. Ritola, L. D. Peters, D. R. Livingston, P. Lindstrom-Seppa // Aquacult. Res. — 2002. — 33. — P. 165–175.

15. Тимочко М. Ф. Метаболічні аспекти формування кисневого гомеостазу в екстремальних станах [Текст] / М. Ф. Тимочко, О. П. Єлісеєва, Л. І. Кобилінська, І. Ф. Тимочко. — Львів, 1998. — 142 с. — 1000 пр. — ISBN 5-8326-0061-4.