

ВІКОВА ДИНАМІКА І СЕЗОННІ ОСОБЛИВОСТІ СТАНУ СИСТЕМИ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ У ТКАНИНАХ САЗАНА АМУРСЬКОГО

С. І. Крась, А. Е. Маріуца С. І. Тарасюк

Інститут рибного господарства НААН України, Київ

Наведені дані про активність ключових ферментів антиоксидантного захисту (АОЗ): каталази, супероксиддисмутази, глутатіонпероксидази і вмісту малонового діальдегіду у печінці, міокарді і крові статевонезрілого і статевозрілого сазана амурського в осінній і весняний періоди. Встановлено, що у осінній період активність каталази у тканинах статевонезрілого сазана є нищою ніж у статевозрілого. Дійшли висновку, що антиоксидантний статус тканин статевозрілого сазана амурського є вищим. Сезонні зміни у активності ферментів АОЗ є більш виражені у статевонезрілих особин.

Фізіологічний стан організму, як багаторівневої і складної системи визначається сукупністю процесів, які протікають на молекулярному рівні, саме останні забезпечують динамічну стійкість організму в цілому під час їх реалізації.

Особлива роль у забезпеченні механізмів адаптації організму до навколишнього середовища і нормальної життєдіяльності належить білкам-ферментам, які прискорюють у багато разів перебіг хімічних реакцій в організмі. Ферменти є складовою частиною різноманітних за біологічною функцією систем, зокрема системи антиоксидантного захисту, яка є невід'ємною ланкою, що забезпечує перебіг адаптативних процесів, що невинно протікають у організмі на молекулярному рівні.

Система АОЗ [1] протидіє процесам, що мають місце в живих тканинах за участю активованих кисневих метаболітів, зокрема реакціям перекисного окиснення ліпідів біологічних мембран [2, 3], які в нормі виконують життєво важливі функції: підтримання гомеостазу, всебічний вплив на процеси обміну білків-ферментів, підтримання енергетичного потенціалу клітини, матричного біосинтезу ДНК, РНК і білків та багатьох інших процесів. У літературі наведені дані про сезонні зміни у активності ферментів АОЗ і інтенсивності перебігу процесів ПОЛ, зокрема показана обернена залежність між змінами вмісту продуктів ПОЛ і активністю супероксиддисмутази (СОД) і глутатіонпероксидази (ГП) у печінці і скелетних м'язах коропа [4], товстолобика [5] і білого амура [6], тоді як відсутні дані про функціональні вікові і сезонні зміни системи антиоксидантного захисту і інтенсивності процесів ПОЛ у тканинах сазана амурського. Тому метою даної роботи було дослідити вікові і сезонні особливості у активності ферментів АОЗ — супероксиддисмутази, глутатіонпероксидази, каталази, та інтенсивності ПОЛ у печінці, міокарді і крові сазана амурського.

Матеріали і методи. У дослідженнях використані зразки печінки, міокарда і крові різних вікових груп сазана (2-ох і 7-ми років) на двох стадіях річного циклу: в кінці літнього періоду (вересень) і на початку вегетаційного періоду (квітень). Риб вирощували у дослідних ставах Львівського відділення Інституту рибного господарства НААН України. Відібрані зразки тканин після декапітації риб заморожували. У тканинах визначали активність супероксиддисмутази (КФ 1.15.1.1) [7], каталази (КФ 1.11.1.6) [8] і глутатіонпероксидази (КФ 1.11.1.9) [9], а також вміст діє нових кон'югатів [10], та малонового діальдегіду [11]. Вміст білка визначали за Lowry et al. [12]. Отримані дані опрацьовували статистично за допомогою програми Microsoft EXCEL.

Результати та обговорення. Результати наших досліджень показали, що з віком у тканинах сазана амурського активність СОД і ГП мають тенденцію до зростання, так з наведених у таблиці 1 даних бачимо, що у крові семиліток активність СОД зростає у 2,9 раза ($P < 0,001$). Активність каталази у всіх тканинах семиліток була значно вищою порівняно із дволіткою ($P < 0,001$). Отже, у сазана після періоду статевого дозрівання, у якому остаточно формується репродуктивна система, істотно змінюється гуморальний вплив на перебіг біохімічні процесів. У статевозрілий період зростає, у порівнянні до періоду росту, антиоксидантний статус тканин сазана. Виходячи із вмісту МДА, можна стверджувати, що після статевого дозрівання у тканинах сазана процеси обміну не сповільнюються, а перебувають на високому рівні. Також потрібно зазначити, що антиоксидантний статус у сазана, як і у інших риб має тканинно специфічний характер, зокрема можна стверджувати, що не залежно від віку у міокарді сазана інтенсивність процесів аеробного окиснення і енергообміну перебувають на високому рівні. Так, як ми бачимо із наведених нижче даних (табл. 1), у міокарді активність всіх ключових ферментів антиоксидантного захисту з віком не зазнає істотних змін, а інтенсивність ПОЛ є високою. Це можна пояснити тим, що міокард, у порівнянні з іншими видами м'язової тканини багатший фосфоліпідами при окисненні яких, ймовірно, утворюється значна частина енергії, яка необхідна для скорочення міокарда.

Таблиця 1

Активність антиоксидантних ферментів, та вміст ТБК-активних продуктів у печінці, міокарді і крові амурського сазана різного віку ($M \pm m$, $n=6$)

Групи	Тканини	СОД, од. акт/хв на 1 мг білка	Каталаза нмоль H_2O_2 /хв на 1 мг білка	Глутатіон-пероксидаза GSH/хв на 1 мг білка	ТБК-активні продукти мкмоль МДА на 1 мг білка
Дволітка (вересень)	Печінка	2286,75±517,9	0,405±0,1	26,8±10,8	57,8±8,45
	Міокард	2253,2±1160	0,84±0,24	109,9±34,5	142,3±48,2
	Кров	1310,4±290	0,89±0,11	2,4±0,25	11,5±0,8
Семилітка (вересень)	Печінка	1403±77,8	12,6±1,1***	61,5±15,2*	68,7±3,6
	Міокард	2477,7±308	38,8±7,8***	139±3,3*	307,4±53,3
	Кров	3871,5±60,8***	8,2±0,2***	21,5±4,6***	21,9±2,4*

Примітка: * — різниці в досліджуваних показниках у тканинах семиліток щодо дволіток: * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$; *** — $P < 0,001$

З наведених у таблиці 2 даних бачимо, що ніяких статистично достовірних сезонних змін у активності СОД і ГП у тканинах дволітнього сазана не спостерігалось. Тоді як активність каталази весною була значно вищою в порівнянні до осені. Така активність каталази є результатом адаптації системи АОЗ до умов гіпоксії, що має місце в зимовий і ранньовесняний періоди, під час яких спостерігається зниження вмісту природних антиоксидантів — вітамінів А, Е і каротиноїдів [13] і підвищення вмісту продуктів ПОЛ [4–6] у тканинах риб. Гіпоксія сприяє активації вільнорадикальних процесів у тканинах [14, 15], результатом яких є продукція перекису водню, який під впливом каталази утилізується утворює ендогенний кисень, який забезпечує перебіг аеробних біохімічних реакцій у період гіпоксії.

Концентрація МДА у тканинах сазана весною (табл. 2), яка статистично не відрізняється від такої ж у вересні, узгоджується з даними по активності ГП і СОД. Отже, можна стверджувати, що весною із оптимізацією кисневого режиму водойм відбувається відносна гіпероксигенація тканин сазана, що спричиняє зростання активності ГП і СОД.

Таблиця 2

Активність антиоксидантних ферментів, та вміст ТБК-активних продуктів в тканинах дволітнього амурського сазана у різні пори року (M±m, n=6)

Пори року	Тканини	СОД, од. акт/хв на 1 мг білка	Каталаза нмоль H ₂ O ₂ /хв на 1 мг білка	Глутатіон-пероксидаза GSH/хв на 1 мг білка	ТБК-активні продукти 3 мкмоль МДА на 1 мг білка
Осінь (вересень)	Печінка	2286,75±517,9	0,405±0,1	26,8±10,8	57,8±8,45
	Міокард	2253,2±1160	0,84±0,24	109,9±34,5	142,3±48,2
	Кров	1310,4±290	0,89±0,11	2,4±0,25	11,5±0,8
Весна (квітень)	Печінка	1998,14±143,5	11,4±1***	23,3±2,5	24±1,6**
	Міокард	3119,1±531,3	39,6±3,5***	70,2±2,3	178,8±11
	Кров	958,8±50,35	8,8±1***	18,6±2,3**	26,1±2,6**

У тканинах семилітнього коропа, як і у дволітнього, активності всіх ферментів системи АОЗ як у вересні, так і у квітні була високою і статистично не відрізнялись між собою (табл. 3). Відсутність різниці у сезонній активності каталази семиліток вказує на те, що механізми адаптації організму (на рівні системи АОЗ) статевозрілого (семилітнього) сазана до умов гіпоксії, яка має місце в зимовий період є більш досконалим в порівнянні до такого у статевозрілих сазанів. Можна припустити, що статевозрілі сазани вже на момент настання зимового періоду, виходячи з активності каталази, більш ефективно утилізують перекис водню і як наслідок їхні тканини більш окиснені.

Вміст малонового діальдегіду у всіх досліджуваних тканинах семилітнього сазана навесні був нижчим ніж восени, це вказує на більшу фізіологічну адаптивність організму статевозрілого сазана до умов гіпоксії.

Таблиця 3

Активність антиоксидантних ферментів, та вміст ТБК-активних продуктів в тканинах семиліток амурського сазана у різні пори року

Пори року	Тканини	СОД, од. акт/хв на 1 мг білка	Каталаза нмоль H ₂ O ₂ /хв на 1 мг білка	Глутатіон-пероксидаза GSH/хв на 1 мг білка	ТБК-активні продукти мкмоль МДА на 1 мг білка
Осінь (вересень)	Печінка	1403±77,8	12,6±1,1	61,5±15,2	68,7±3,6
	Міокард	2477,7±308	38,8±7,8	13,9±3,3	307,4±53,3
	Кров	3871,5±60,8	8,2±0,9	21,5±4,6	21,9±2,4
Весна (квітень)	Печінка	1460,6±149,5	9,26±0,2	26±6,4	39,7±3,3***
	Міокард	4555±413*	26,6±2,5	13,9±1,3	134±12,8**
	Кров	3810,9±169	7,76±0,84	13,9±1,3	16,8±0,7*

В И С Н О В К И

У статевозрілого сазана амурського підвищується антиоксидантний статус тканин в порівнянні до статевонезрілих.

Сезонні зміни активності каталази більш виражені у тканинах дволітнього сазана, тоді як у семилітнього рівень активності ферментів АОЗ був високим як восени, так і на весні.

Перспективи подальших досліджень. У зв'язку із виявленими віковими особливостями функціонування системи антиоксидантного захисту сазана амурського, з метою кращого розуміння вікових змін у системі АОЗ та інтенсивності ПОЛ є доцільним продовжити дослідження цих процесів у тканинах інших вікових груп.

AGE DYNAMICS AND SEASONAL SPECIFICITY OF ANTIOXIDANT PROTECTION CONDITIONS IN TISSUES OF AMURIC WILD CARP

S. I. Kras, A. E. Maryuca, S. I. Tarasjuk

S U M M A R Y

The data about activity of key enzymes of antioxidant protection: catalase, SOD, GP and contents of malon dialdehyde in the liver, in the myocardium and in the blood of the puberal and unpuberal amuric wild carp over the autumn and spring periods are presented in this article. It was established that over the autumn period the activity of catalase in tissue of unpuberal wild carp is lower than in puberal. We have come to a conclusion, that the antioxidant status of the unpuberal amuric wild carp tissue is higher. The unpuberal individuals have more marked seasonal changes of antioxidant protecting enzymes activity.

ВОЗРАСТНАЯ ДИНАМИКА И СЕЗОННАЯ СПЕЦИФИКА СОСТОЯНИЯ СИСТЕМЫ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ В ТКАНЯХ САЗАНА АМУРСКОГО

С. И. Крась, А. Э. Мариуца, С. И. Тарасюк

А Н Н О Т А Ц И Я

Представлены данные по активности ключевых ферментов АОЗ: каталазы, супероксиддисмутазы и глутатионпероксидазы и содержания малонового диальдегида в печени, миокарде и крови половонезрелого и половозрелого сазана амурского в осенний и зимнему гену периоды. Установлено, что в осенний период активность каталазы в тканях половонезрелого сазана была ниже по сравнению с половозрелыми. Пришли к выводу, что антиоксидантный статус тканей половозрелого сазана амурского является более высоким. Сезонные перемены в активности ферментов АОЗ являются зимнему выразительными в половонезрелых зимнему ге.

Л І Т Е Р А Т У Р А

1. Дубинина Е. Е. Антиоксидантная система плазмы крови / Е. Е. Дубинина // Укр. Биохим. Журн. — 1992. — Т. 64, № 2. — С. 3–15.
2. Владимиров Ю. А. Перекисне окисление липидов в биологических мембранах [Текст] / Ю. А. Владимиров, А. И. Арчаков. — М. : Наука, 1972. — 252 с.
3. Зенков Е. К. Активированные метаболиты в биологических системах [Текст] / Е. К. Зенков, Е. Б. Меншиков, В. П. Реумов // Укр. Совр. Биол. — 1993. — Т. 113, вып. 3. — С. 286–296.
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. Олексюк Н. П. Вплив сезону на активність системи антиоксидантного захисту у печінці і скелетних м'язах білого амура [Текст] / Н. П. Олексюк, Б. М. Куртяк, В. Г. Янович. // Наук.-тех. Бюл. Інституту біології тварин. — Львів, 2008. — Вип. 9, № 3. — С. 79–84.
7. Костюк В. А. Простой и чувствительный методопределения активности супероксиддисмутазы, основанный на реакции окисления кверцетина [Текст] / В. А.

- Костюк, А. И. Потапович, Ж. И. Ковалева. // Вопр. Мед. Химии. — 1990. — № 2. — С. 88–91.
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. 16–1.
9. *Моин В. М.* Простой и специфический метод определения активности глутатионпероксидазы в \square имо гену \square л [Текст] / В. М. Моин // Лаб. Дело. — 1986. — № 12. — С. 724–727.
10. *Влізла В. В.* Фізіолого-біохімічні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині : довідник / Під \square имо. В. В. Влізла, Р. С. Федорука, І. А. Макара та \square им. — Львів : ВМС, 2004. — 399 с. — 300 пр.
11. *Гаврилов В. Б.* Анализ методов определения продуктов перекисного окисления липидов в сыворотке крови по тесту с тиобарбитуратовой кислотой [Текст] / В. Б. Гаврилов, Л. М. Мажуль // Вопр. Мед. химии. — 1987. — 33, № 1. — С. 118–122.
12. *Lowry O. H.* Protein measurement with the Folin phenol reagent [Text] / O. H. Lowry, N. I. Rosebroug, A. L. Farr, R. I. Randall // Journal of Biological Chemistry. — 1951. — Vol. 193, No 1. — P. 265–275.
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. *Симоненков А. П.* Аргументы в пользу уточнения классификации гипоксических состояний // БЭБиМ. — 1999. — № 2. — С. 142–151.
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.

Рецензент: доцент кафедри фізіології людини і тварин Львівського національного університету імені Івана Франка, кандидат біологічних наук О. В. Іккерт