

ВМІСТ ПРОДУКТІВ ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНОГО ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ У СКЕЛЕТНИХ М'ЯЗАХ ТА ПЕЧІНЦІ ОДНОРІЧОК ЛУСКАТИХ ТА РАМЧАСТИХ КОРОПІВ НЕСВИЦЬКОГО ЗОНАЛЬНОГО ТИПУ

I. A. Особа

Інститут рибного господарства НААН

Досліджено вміст окремих продуктів вільнорадикального перекисного окиснення ліпідів у організмі одnorічок лускатих та рамчастих коропів несвицького зонального типу. За контроль використали групи одnorічок лускатих та рамчастих коропів любінського внутрішньопородного типу. Проаналізовано інтенсивність перебігу вільнорадикальних процесів у скелетних м'язах та печінці одnorічок лускатих та рамчастих коропів несвицького зонального та любінського внутрішньопородного типів після виходу із зимівлі.

Ключові слова: ПЕРЕКИСНЕ ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ, СКЕЛЕТНІ М'ЯЗИ, ПЕЧІНКА, ОДНОРІЧКИ ЛУСКАТИХ ТА РАМЧАСТИХ КОРОПІВ

У забезпеченні нормальної життєдіяльності організму риб важливу роль відіграють вільнорадикальні процеси. Внаслідок перебігу останніх утворюється ряд продуктів, що являються результатом взаємодії вільних радикалів як між собою, так і з біологічними макромолекулами [1–6]. За рівнем даних продуктів можна судити про інтенсивність вільнорадикального перекисного окиснення у різних біологічних системах організму, що визначає їх роль як фізіолого-біохімічних маркерів [2, 4]. Утворення в організмі вільних радикалів, як і процес перекисного окислення ліпідів (ПОЛ), належить до фізіологічних процесів, які за нормальних умов стабільно відбуваються в організмі та є необхідними для здійснення таких фізіологічних функцій, як піноцитоз, фагоцитоз, регуляція проникності мембран, проведення нервового збудження тощо. Перебіг вільнорадикальних процесів у клітинах та тканинах регламентується функціонуванням системи антиоксидантного захисту (АОЗ), що сприяє забезпеченню вільнорадикального гомеостазу в організмі.

Внаслідок аеробного окиснення енергетичних субстратів утворюються активні форми кисню, що є нормальними продуктами метаболізму, проте вони разом із іншими активними радикалами (діальдегідами, альдегідами, пероксидами, тощо) здатні ковалентно взаємодіяти з окремими функціональними групами білків, що призводить до їх полімеризації і руйнування амінокислотних залишків. Все це може викликати зміну структурних і функціональних властивостей мембран, зміну активності ферментів, спричинити модифікацію ДНК, призвести до спотворення процесів реплікації та транскрипції, а також до багатьох інших негативних наслідків [2, 4–9]. Тому порушення координації швидкості утворення перекисних сполук та відповідної активності ферментативної і неферментативної ланок системи АОЗ може привести до розвитку накопичення вільних радикалів у клітинах, що, у свою чергу, здатне спричинити цілий ряд деструктивних змін [3, 4, 10].

Оскільки перебіг вільнорадикальних процесів у клітинах та тканинах організму значною мірою визначає особливості росту, розвитку, харчову цінність м'яса, а також відображає адаптаційну здатність риб до мобілізації їх організму до навантажень ендогенного та екзогенного характеру, дана робота становить науково-практичний інтерес. А практична відсутність у літературних джерелах даних з характеристики фізіолого-біохімічних особливостей коропів несвицького зонального типу визначає новизну даних досліджень.

Матеріали і методи

Робота виконувалася на базі Львівської дослідної станції Інституту рибного господарства НААН.

Дослідження проводилися на однорічках риб після зимівлі, на початку вегетаційного періоду. Дослідні групи риб складали особини лускатих (НЛК) та рамчастих (НРК) коропів несвицького зонального типу, що восени, на стадії однолітки, були завезені на базу Львівської дослідної станції ІРГ НААН із господарств ВАТ «Волиньрибгосп», та посаджені на зимівлю. Для порівняння використали однорічок лускатих (ЛЛК) та рамчастих (ЛРК) коропів любінського внутрішньопородного типу, вирощених на базі дослідного господарства Львівської дослідної станції ІРГ НААН.

Виконання роботи вимагало контролю умов середовища перебування піддослідної риби, таким чином, щоб максимально знизити вплив факторів екзогенного характеру. Для виключення впливу останніх, дослідні та контрольні групи одноліток зимували в дослідних ставах з однаковим гідрохімічним умовами, які контролювалися протягом всього періоду зимівлі.

Зразки тканин скелетних м'язів та гепатопанкреасу заморожували і зберігали у рідкому азоті до початку досліджень.

У скелетних м'язах та печінці досліджуваних груп риб визначали вміст таких продуктів вільнорадикального перекисного окиснення ліпідів, як гідроперекиси ліпідів, дієнові кон'югати та малоновий діальдегід (МДА) [11, 14]. Вміст гідроперекисів визначали після осадження білків розчином трихлороцтової кислоти та екстракцією ліпідів етанолом з наступною взаємодією досліджуваних екстрактів з тіоціанатом амонію. Досліджувані зразки спектрофотометрували при довжині хвилі $\lambda=480$ нм. Концентрацію гідро перекисів ліпідів виражали в умовних одиницях на 1 г тканини (у.о./г) [9, 11, 14].

В основі методу визначення дієнових кон'югатів лежить утворення системи спряжених подвійних зв'язків, що супроводжується появою нового максимуму поглинання в діапазоні спектру $\lambda_{\max}=233$ нм [12, 14]. Концентрацію дієнових кон'югатів досліджуваних зразків визначали використовуючи коефіцієнт молярної екстинції $103 \text{ мкмоль}^{-1} \cdot \text{мл}^{-1}$ і виражали в нмоль/г тканини [7, 9, 12].

Вміст малонового діальдегіду визначали за реакцією з тіобарбітуровою кислотою, яка при високій температурі в кислому середовищі протікає з утворенням кольорового триметинового комплексу. Оптичну густину досліджуваних зразків вимірювали спектрофотометрично при довжинах хвиль $\lambda=535$ та $\lambda=580$ нм з метою запобігти поглинанню забарвлених комплексів ТБК речовинами не ліпідної природи. Концентрацію ТБК-активних продуктів у пробах виражали в нмоль МДА на грам тканини, використовуючи коефіцієнт молярної екстинції утвореного комплексу $0,156 \text{ мкмоль}^{-1} \cdot \text{мл}^{-1}$ [9, 13, 14].

Одержані результати досліджень опрацьовували статистично.

Результати й обговорення

У процесах росту та розвитку коропа одну із ключових ролей відіграють процеси, які забезпечують вільно-радикальний гомеостаз його клітин та тканин. Такі можливості організму детерміновані генетично, проте піддаються впливу цілої низки факторів ендогенного та екзогенного характеру. Зокрема до останніх можемо зарахувати як еколого-географічні умови існування тієї чи іншої популяції риб, так і умови господарювання, а саме гідрохімічний та гідробіологічний стан водойм, щільність посадки, рівень природних антиоксидантів у раціоні, тощо. Дефіцит останніх є однією із причин низької інтенсивності росту риб [1, 4–8].

Протягом останніх років в літературних джерелах зустрічаються одержані експериментально підтвердження ролі активації ПОЛ у розвитку тканинної гіпоксії за різних умов середовища та у випадку розвитку патологічних станів. Таким чином аналіз вмісту продуктів ПОЛ носить важливий інформаційний характер та виступає своєрідним індикатором функціонального стану організму риб, а також якісним показником, що характеризує рівень господарської діяльності [5–10].

У роботі висвітлено особливості перебігу вільнорадикальних процесів у печінці та скелетних м'язах однорічок чотирьох груп коропів різної селекції (табл.).

Таблиця

Вміст продуктів вільнорадикального перекисного окиснення ліпідів у скелетних м'язах та печінці однорічок коропів різного генезу після виходу із зимівлі, (M±m, n=4)

| тканина | НЛК | НРК | ЛЛК | ЛРК |
|--------------------------------------|------------|------------|------------|------------|
| <i>Дієнові кон'югати, нмоль/г</i> | | | | |
| Скелетні м'язи | 17,00±0,67 | 14,42±0,42 | 15,19±0,49 | 12,36±0,42 |
| Печінка | 20,60±0,42 | 18,80±0,26 | 19,06±0,29 | 16,22±0,26 |
| <i>Гідроперекиси ліпідів, у.о./г</i> | | | | |
| Скелетні м'язи | 1,96±0,04 | 1,65±0,10 | 1,63±0,10 | 1,33±0,05 |
| Печінка | 2,80±0,10 | 2,54±0,10 | 2,39±0,12 | 1,90±0,06 |
| <i>Малоновий діальдегід, нмоль/г</i> | | | | |
| Скелетні м'язи | 1,67±0,10 | 1,31±0,10 | 1,40±0,08 | 1,07±0,13 |
| Печінка | 2,07±0,11 | 1,87±0,10 | 2,00±0,07 | 1,80±0,15 |

Встановлено, що ініціація вільнорадикального окиснення та утворення його продуктів є індивідуальною як для кожної з досліджуваних груп риб, так і для кожної з тканин. Зокрема, з одержаних результатів видно, що вміст дієнових кон'югатів практично у всіх досліджуваних груп риб вірогідно зростає у тканині печінки, порівняно із скелетними м'язами ($0,01 < P < 0,001$; табл.). У групах рамчастих коропів як несвицького зонального, так і в любінського внутрішньопородного типів вміст дієнових кон'югатів нижчий порівняно із таким у лускатих. У несвицьких коропів спостерігається дещо вищий вміст дієнових кон'югатів порівняно із групами любінських коропів, проте ця відмінність не становить вірогідної різниці.

Щодо вмісту гідроперекисів ліпідів, також спостерігаємо тканинну специфічність їх розподілу (табл.). Очевидно, вищий вміст продуктів ліпопероксидації у печінці зумовлений її метаболічною активністю та функціональними особливостями. За вмістом гідроперекисів ліпідів не простежується вірогідних відмінностей між контрольними та дослідними групами, що, на нашу думку, обґрунтовується високою адаптаційною здатністю коропів несвицького зонального типу до нового середовища утримання. А незначне зростання продуктів ПОЛ у тканинах несвицьких коропів, порівняно з любінськими коропами зумовлене стресом внаслідок перевезення їх у віці одноліток та посадки на зимівлю у нові і відмінні для них умови. Лише у групі НРК спостерігається вірогідне зростання вмісту гідроперекисів ліпідів у печінці, порівняно із групою ЛРК ($0,01 < P$; табл.).

Щодо вмісту МДА, нами не встановлено вірогідних відмінностей між дослідними та контрольними групами риб проте, як і у випадку із попередніми продуктами ліпопероксидації, спостерігається виражена тканинспецифічність його вмісту (табл.).

На життєдіяльність організму риб прямо впливає кисневий режим водойм, в яких вона утримується. Від останнього залежить перебіг процесів клітинного дихання. З переносом електронів по дихальному ланцюзі у мітохондріях пов'язане утворення активних форм кисню, які власне, індукують процеси вільнорадикального окиснення. Процес ПОЛ є одним із механізмів, які забезпечують адаптацію організму риб до змін навколишнього середовища. Тому, зниження рівня напруження кисню у водному середовищі є однією з причин виникнення гіпоксії у організмі риб. Відомо, що різнопородні групи риб характеризуються різним рівнем стійкості до гіпоксії [3–7]. У зв'язку з впливом гіпоксії та ряду інших факторів на перебіг процесів дихання, а таким чином, на ріст та розвиток організму риб, актуальним є дослідження біохімічних механізмів адаптації організму риб до екстремальних факторів оточуючого середовища [4, 6, 7].

В умовах зимівлі зростає вірогідність виникнення оксидативного стресу, і, відповідно посилення впливу вільних радикалів на інтенсивність перебігу перекисних процесів в організмі риб. Порушення балансу між активністю дії прооксидантних факторів і ефективністю систем антиоксидантного захисту організму, яке призводить до оксидативного стресу, вважають універсальним молекулярним механізмом розвитку багатьох захворювань [4, 6–10, 14].

Висновки

Вперше проведено визначення продуктів вільно радикального окиснення у тканинах однорічок лускатих та рамчастих коропів несвицького зонального типу.

Встановлено, що ініціація вільнорадикального окиснення та утворення його продуктів є індивідуальною як для кожної з досліджуваних груп риб, так і для кожної з тканин. У печінці вміст всіх трьох досліджуваних продуктів ПОЛ вірогідно вищий, порівняно із тканиною скелетних м'язів. На нашу думку це обумовлено особливостями її метаболічної активності.

Відносно високий вміст продуктів ПОЛ у тканинах однорічок коропів усіх чотирьох груп у після зимовий період, може бути обумовлений як загальним зниженням рівня метаболічних процесів в організмі, зокрема зниженням ферментативної активності та цілого ряду синтетичних процесів, так і факторами екзогенного характеру.

Перспективи подальших досліджень. Дослідити вікову динаміку перебігу вільнорадикальних процесів у тканинах коропів несвицького зонального типу.

I. A. Osoba

THE CONTENT OF FREE RADICAL PRODUCTS OF LIPID PEROXIDATION IN SKELETON MUSCLES AND LIVER OF ONE-YEAR SCALED AND FRAMED CARP OF NESVICH ZONAL TYPE

S u m m a r y

It was investigated the content of certain products of free radical lipid peroxidation in the organism of one-year scaled and framed carp of Nesvich zonal type. As a control group used one-year scaly and framed carp of Luybin internal breed type. It was analyzed the intensity of the flow of free-radical processes in skeleton muscles and liver of one-year scaly and framed carp of Nesvich zonal and Luybin internal breed types after their wintering.

I. A. Osoba

СОДЕРЖАНИЕ ПРОДУКТОВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ В СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦАХ И ПЕЧЕНИ ГОДОВИКОВ ЧЕШУЙЧАТЫХ И РАМЧАСТЫХ КАРПОВ НЕСВИЧСКОГО ЗОНАЛЬНОГО ТИПА

А н н о т а ц и я

Исследовано содержание некоторых продуктов свободнорадикального перекисного окисления липидов в организме годовиков чешуйчатых и рамчастых карпов несвичского зонального типа. В качестве контрольных, использовали группы годовиков чешуйчатых и рамчастых карпов любенского внутривидового типа. Проанализировано интенсивность протекания свободнорадикальных процессов в скелетных мышцах и печени годовиков чешуйчатых и рамчастых карпов несвичского зонального и любенского внутривидового типов после зимовки.

1. Руднева И. И. Применение биохимических маркеров для оценки здоровья рыб : Проблемы иммунологии, патологии и охраны здоровья рыб и других гидробионтов : 2. Разшир. мат. Междунар. научно-практической конференции. Борок-Москва. 2007 г. / И. И. Руднева. — С. 234–238.

2. Шахматова О. А. Активность антиоксидантной системы личинок рыб как показатель качества морской среды / О. А. Шахматова // Экология моря. — 2001. — Вып. 59. — С. 48–50.

3. Гордій С. К. Фізіологічні механізми клітинної інтеграції / С. К. Гордій, І. В. Шостаківська. — Львів : Ред.-вид. гр. Львівського університету. 1983. — 44 с.

4. Особа І. А. Особливості функціонування системи антиоксидантного захисту організму / І. А. Особа // Рибогосподарська наука України. — 2009. — № 1. — С. 133–139.

5. Данчук В. В. Пероксидне окиснення у сільськогосподарських тварин і птиці / В. В. Данчук. — Кам'янець-Подільський : Абетка, 2006. — 192 с.
6. *Martines-Alvarez R. M. Antioxidant defenses in fish: biotic and abiotic factors* / R. M. Martines-Alvarez, A. E. Morales, A. Sanz // *Rev. Fish Biol.* — 2005. — V. 15, № 1. — P. 75–88.
7. Олексюк Н. П. Вплив сезону на перекисне окиснення ліпідів у тканинах ставкових риб / Н. П. Олексюк, В. Г. Янович // *Біологія тварин.* — Львів, 2003. — Т. 5, № 1–2. — С. 180–183.
8. Леус Ю. В. Перекисне окиснення ліпідів та антиоксидантний захист у риб під впливом факторів водного середовища : автореф. дис... канд. біол. наук / Ю. В. Леус; НАН України. Ін-т гідробіології. — К., 1998. — 16 с.
9. Олексюк Н. П. Активність про- і антиоксидантних систем у печінці прісноводних риб у різні пори року / Н. П. Олексюк, В. Г. Янович // *Укр. біохім. журн.* — 2010. — Т. 82, № 3. — С. 41–48.
10. *Меньщикова Е. Б. Антиоксиданты и ингибиторы радикальных окислительных процессов* / Е. Б. Меньщикова, Н. К. Зенков // *Успехи совр. биологии.* — 1993. — Т. 113. — С. 442–455.
11. 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.
12. *Стальная И. Д. Определение диеновых конъюгатов: Современные методы в биохимии* / Под ред. В. Н. Ореховича. — М. : Медицина, 1977. — С. 63–64.
13. *Корабейникова С. Н. Модификация определения ПОЛ в реакции с ТБК* / С. Н. Корабейникова // *Лаб. дело.* — 1989. — В. 7. — С. 8–9.
14. Сибірна Н. О. Дослідження окремих біохімічних показників за умов оксидативного стресу / Н. О. Сибірна, О. М. Маєвська, М. Л. Барська. — Львів : Видавничий центр ЛНУ ім. Івана Франка. — 2006. — 60 с.

Рецензент: докторант, кандидат сільськогосподарських наук, с. н. с. Гавриляк В. В.