

АКТИВНІСТЬ ОКРЕМИХ ТРАНСФЕРАЗ У СИРОВАТЦІ КРОВІ СТЕРЛЯДІ РІЗНОГО ВІКУ

Р. Р. Сулейманова
1992_s_roza@ukr.net

Національний університет біоресурсів і природокористування України,
вул. Героїв Оборони 15, м. Київ, 03041, Україна

У статті наведені дані щодо зміни активності ензимів: аланінамінотрансферази (АлАТ), аспартат-амінотрансферази (АсАТ) та γ -глутамілтрансферази (ГГТ) у сироватці крові стерляді різного віку. Матеріалом для дослідження активності ензимів була сироватка крові стерляді дворічного (масою 0,3–0,4 кг), трирічного (масою 0,5–0,6 кг) та дев'ятирічного (масою 5–6 кг) віку, яку відібрали у весняний період на рибному господарстві «Осетр» у селищі міського типу Українка Обухівського району Київської області. Враховуючи залежність активності ензимів в організмі риб від сезону і кисневого режиму водойми, для мінімізації впливу фактора сезонності відбір зразків тканин проводили на початку травня.

Проведені дослідження показали, що активність ензимів з віком значно змінюється. При дослідженні різних вікових груп стерляді встановлено значне підвищення активності АлАТ у сироватці крові з віком. Активність АлАТ у стерляді трирічного віку на 1,5 %, а статевозрілих — на 50,2 % більша порівняно з дворічною рибою. Аналогічні зміни спостерігали і при дослідженні активності АсАТ. Активність ензиму була найвищою в риб, які досягли статевозрілого віку, де, порівняно з дворічними, вона більша на 42,6 %. Оскільки активація АсАТ є основною ланкою малат-аспартатного човникового шляху, то, очевидно, відбувається посилення його функціонування за стимуляції фізіологічних функцій організму. Шунтування аспартатамінотрансферазою циклу Кребса спричиняє активне окиснення не цитрату, а сукцинату, що, своєю чергою, призводить до швидшого утворення більшої кількості молекул АТФ, ніж при окисненні інших інтермедіатів циклу трикарбонових кислот.

Під час аналізу отриманих даних виявлено значні зміни в активності ГГТ у сироватці крові стерляді різного віку. Зокрема, найбільша активність ГГТ спостерігається у сироватці крові статевозрілих (0,13 мккат/л), дещо нижча у — трирічок (0,06 мккат/л), найменша — у двоохрічних риб (0,05 мккат/л).

Отже, зростання активності таких трансфераз, як АлАТ, АсАт і ГГТ, може бути свідченням перебудови амінокислотного та протеїнового обміну для ймовірного забезпечення енергетичної та пластичної адаптації, пов'язаної зі змінами, характерними для індивідуального розвитку стерляді, та наслідком впливу екологічних і/або аліментарних чинників.

Ключові слова: СТЕРЛЯДЬ, КРОВ, АЛАНІНАМІНОТРАНСФЕРАЗА, АСПАРТАТАМІНОТРАНСФЕРАЗА, γ -ГЛУТАМІЛТРАНСФЕРАЗА

ACTIVITY OF SOME TRANSFERASES IN THE BLOOD SERUM OF STERLET OF DIFFERENT AGE

R. R. Suleimanova
1992_s_roza@ukr.net

National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine,
15 Heroiv Oborony str., Kyiv 03041, Ukraine

The article presents data on changes in the activity of enzymes: alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST) and γ -glutamyltransferase (GGT) in the serum of sterlet of different age groups. As the material for studying the activity of enzymes a serum of one-year-old (weight 0,3–0,4 kg), three-year-old (weight 0.5–0.6 kg) and nine-year-old (weight 5–6 kg) sterlet taken in spring period in the fishery "Osetr" (Ukrayinka village Obukhiv district, Kyiv region) was used. Due to the dependence of the enzymes activity in the fish organism on the season and the oxygen regime of the reservoir, in order to minimize the influence of seasonal factors, the selection of samples of tissues was carried out in early May.

The conducted studies have shown that the activity of enzymes with age varies considerably. The study of different age groups of sterlet has shown a significant increase of the ALT activity in serum with age. The ALT

activity in three- and nine-year-old sterlet is higher by 1.5 % and by 50.2 %, respectively, than in the two-year-old one. Similar changes were observed in the study of AST activity. The highest activity of the enzyme was observed in fish that had reached the mature age, where it was 42.6 % more than in the two-year-old fish. Since the AST activation is the main link of the malate-aspartate shuttle, there is obviously an increase in its functioning by stimulating the physiological functions of the organism. Bypassing the aspartate aminotransferase of the Krebs cycle causes the active oxidation of not citrate, but succinate, which in turn leads to faster formation of a greater number of ATP molecules than when oxidizing other intermediates of the tricarboxylic acid cycle.

During the analysis of the obtained data, significant changes in the activity of GGT of different age sterlet serum were revealed. In particular, in blood serum of the sexually mature, three- and two-year-old sterlet, the greatest, slightly lower and the lowest activity of GGT was 0.13 $\mu\text{cat/l}$, 0.06 $\mu\text{cat/l}$, and 0.05 $\mu\text{cat/l}$, respectively.

Consequently, the growth of activity of such transferases as ALT, AST, and GGT may be evidence of restructuring the amino acid and protein exchange for the probable energy and plastic adaptation associated with the changes (which are characteristic for the individual development of sterlet) and effect of the environmental and/or alimentary factors.

Keywords: STERLET, BLOOD, ALANINE AMINOTRANSFERASE, ASPARTATE AMINOTRANSFERASE, γ -GLUTAMYLTRANSFERASE

АКТИВНОСТЬ ОТДЕЛЬНЫХ ТРАНСФЕРАЗ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ СТЕРЛЯДИ РАЗНОГО ВОЗРАСТА

Р. Р. Сулейманова
1992_s_roza@ukr.net

Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины,
ул. Героев Оборона, 15, г. Киев, 03041, Украина

В статье приведены данные по изменению активности ферментов: аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспаратаминотрансферазы (АСТ) и γ -глутамилтрансферазы (ГГТ) в сыворотке крови стерляди разного возраста. Материалом для исследования активности энзимов была сыворотка крови стерляди двухлетнего (массой 0,3–0,4 кг), трехлетнего (массой 0,5–0,6 кг) и девятилетнего (массой 5–6 кг) возраста, которых отобрали в весенний период на рыбном хозяйстве «Осетр» в селении городского типа Украинка Обуховского района Киевской области. Учитывая зависимость активности энзимов в организме рыб от сезона и кислородного режима водоема, для минимизации влияния фактора сезонности отбор образцов тканей проводили в начале мая.

Проведенные исследования показали, что активность энзимов с возрастом значительно меняется. При исследовании различных возрастных групп стерляди установлено значительное повышение активности АЛТ в сыворотке крови с возрастом. Активность АЛТ в стерляди трехлетнего возраста на 1,5 %, а половозрелых — на 50,2 % больше по сравнению с двухлетней рыбой. Аналогичные изменения наблюдали и при исследовании активности АСТ. Самой большой активностью энзима была у рыб, которые достигли половозрелого возраста, где, по сравнению с двухлетками, она больше на 42,6 %. Поскольку активация АСТ является основным звеном малат-аспаратного челночного пути, по-видимому, происходит усиление его функционирования при стимуляции физиологических функций организма. Шунтирование аспаратаминотрансферазой цикла Кребса вызывает активное окисление не цитрата, а сукцината, что в свою очередь приводит к более быстрому образованию большего количества молекул АТФ, чем при окислении других интермедиатов цикла трикарбоновых кислот.

При анализе полученных данных выявлены значительные изменения в активности ГГТ в сыворотке крови стерляди разного возраста. В частности, самая большая активность наблюдается ГГТ в сыворотке крови половозрелых — 0,13 мккат/л, несколько ниже в трехлетних — 0,06 мккат/л и самая маленькая у двухлетних рыб — 0,05 мккат/л.

Таким образом, рост активности таких трансфераз, как АЛТ, АСТ и ГГТ, может быть свидетельством перестройки аминокислотного и протеинового обмена для вероятного обеспечения энергетической и пластической адаптации, связанной с изменениями, характерными для индивидуального развития стерляди, и следствием влияния экологических и/или алиментарных факторов.

Ключевые слова: СТЕРЛЯДЬ, КРОВЬ, АЛАНИНАМИНОТРАНСФЕРАЗА, АСПАРТАТ-АМИНОТРАНСФЕРАЗА, γ -ГЛУТАМИЛТРАНСФЕРАЗА

Рибне господарство України займає важливе місце у виробництві продукції тваринництва. Інтенсифікація і підвищення наукоємності галузі рибництва вимагають від рибоводів не тільки практичних навичок та досвіду, але й глибоких фундаментальних знань біології риби. Необхідною умовою розробки практичних рекомендацій для рибництва є розуміння механізмів біохімічних процесів [17]. Стерлядь (*Acipenser ruthenus*) — єдина з осетрових, яка живе в прісних водах, внесена до Червоного списку Міжнародного союзу охорони природи і має класифікаційну категорію «вразливий вид», а за даними Червоної книги України є «зникаючим видом» [3]. Ензимну активність в організмі прісноводних риб, зокрема стерляді різновікових груп, вивчено менше, що обумовлює актуальність поглиблення таких досліджень. За різних патологічних станів у крові змінюється якісний і кількісний склад ензимів, що відображає інтенсивність і спрямованість розвитку патологічного процесу. Реакції трансамінування каталізуються ензимами класу трансфераз, найактивнішими серед яких у гідробіонтів є аланінамінотрансфераза (АлАТ) та аспартатамінотрансфераза (АсАТ) [4, 8]. Посідаючи важливе місце серед біокаталізаторів, вони відіграють провідну роль у метаболізмі, об'єднуючи в єдине ціле білковий, вуглеводний, жировий обміни і цикл трикарбонових кислот [2, 9]. Рівень активності АлАТ і АсАТ часто використовують як індикатор порушення функції печінки і серця тварин. Підвищення активності цих ензимів у крові дозволяє діагностувати патологічні стани [7]. Активність ензимів у тканинах залежить від багатьох причин: зовнішніх впливів, стану організму, генетичних факторів, годівлі, сезонності, віку, статі [1, 11, 16]. Вивчення особливостей перебігу активності ензимів у крові риб у віковому аспекті є важливим для оцінки адаптаційних можливостей організму стерляді. У зв'язку з цим, мета роботи полягала в дослідженні активності окремих ензимів класу трансфераз у крові стерляді різного віку.

Матеріали і методи

Об'єктами дослідження була кров стерляді різної вікової групи: дворічки (масою 0,3–

0,4 кг), трирічки (масою 0,5–0,6 кг) та статевозрілі — дев'ятирічки (масою 5–6 кг), яких відібрали у весняний період на рибному господарстві «Осетр» (сmt Українка Обухівського району Київської області).

Величина вибірки становила 7 особин. Враховуючи залежність активності ензимів в організмі риб від сезону і кисневого режиму водойми [14], для мінімізації впливу фактора сезонності відбір зразків тканин проводили на початку травня.

Зразки крові брали у живих особин стерляді з хвостової вени. Кров стабілізували розчином гепарину з розрахунку 25 МО на 1 мл крові і фракціонували центрифугуванням протягом 10 хв при 2000 об./хв.

У сироватці крові досліджували активність аспартатамінотрансферази (АсАТ) (К.Ф.2.6.1.1.) і аланінамінотрансферази (АлАТ) (К.Ф.2.6.1.2.) за методом Райтмана і Френкеля [5] з використанням реагентів «Філісіт». Активність γ -глутамілтрансферази (ГГТ) (КФ 2.3.2.2) визначали за вивільненням *p*-нітроаніліну з γ -глутамілнітроаніліді уніфікованим методом за набором «ГГТ» («Філісіт-Діагностика», Україна) [6].

Усі втручання та забій тварин проводили відповідно до національних «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах» (Україна, 2001) [13] з дотриманням вимог «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985).

Дані представлені у вигляді середнього значення \pm SEM (по 7 риб у групі). Використовували *t*-критерій Стюдента для всіх аналізів і різниці значень із $P \leq 0,05$ розглядали як статистично вірогідні. Всі розрахунки проводили з використанням програмного забезпечення *OriginLab*, *Microsoft Excel* для *t*-тест аналізу.

Результати й обговорення

При дослідженні різних вікових груп стерляді встановлено значне підвищення активності АлАТ у сироватці крові з віком. Активність АлАТ у стерляді трирічного віку на 1,5 %, а статевозрілих — на 50,2 % ($P \leq 0,05$). більша порівняно з дворічною рибою (рис. 1).

Підвищення активності аланінамінотрансферази в сироватці крові риб, можливо, пов'язане з участю цього ензиму у процесах детоксикації аміаку, який утворюється в організмі риб за умов токсикозу, викликаного іонами важких металів [12].

Аналогічні зміни спостерігали і при дослідженні активності АсАТ. Найвищою активність ензиму була у риб, які досягли статевозрілого віку, де, порівняно з дворічними, вона більша на 42,6 % ($P \leq 0,05$). Активація АсАТ є основною ланкою малат-аспартатного цовникового шляху, який посилює своє функціонування при стимуляції фізіологічних функцій організму [10]. Також слід зазначити, що активність АлАТ у крові стерляді зростає більшою мірою, ніж активність АсАТ. Очевидно, це можна пояснити тим, що АсАТ міститься в мітохондріях гепатоцитів і для того,

щоб проникнути у кров, необхідно спочатку проникнути крізь мембрану мітохондрій, а потім — через мембрану клітини.

Під час аналізу отриманих даних виявлено значні зміни у активності ГГТ у сироватці крові стерляді різного віку (рис. 2). Зокрема, найбільша активність ГГТ спостерігається у сироватці крові статевозрілих — 0,13 мккат/л, дещо нижча у трирічок — 0,06 мккат/л та найменша у двохрічних риб — 0,05 мккат/л. Відомо, що ГГТ є мембранозв'язаним та енергозалежним ензимом, який транспортує амінокислоти і пептиди в клітини, бере участь у метаболізмі біогенних амінів [15]. Підвищена активність ГГТ у сироватці крові риб вказує на активацію процесів метаболізму на клітинному рівні.

Висновок

З віком у сироватці крові стерляді спостерігалася зростання активності ензимів класу трансфераз (аланін-, аспартатамінотрансфераз і глутамілтранспептидази), яке поряд з характерними змінами індивідуального розвитку риби могло бути викликане як екологічними, так аліментарними чинниками.

Збільшення активності аланінамінотрансферази у сироватці крові було у статевозрілої — на 50,2 % ($P \leq 0,05$), трирічної — на 1,5 % порівняно з дворічною стерляддю. Аналогічну тенденцію змін було виявлено і для активності аспартатамінотрансферази: у статевозрілих риб вона була вищою на 42,6 % ($P \leq 0,05$), ніж у дворічних особин. З віком стерляді активність γ -глутамілтрансферази у сироватці крові зростала від 0,05 і 0,06 до 0,13 мккат/л відповідно для дво-, трирічних і статевозрілих риб.

Перспективи подальших досліджень.

Слід продовжити дослідження впливу вікових змін та їх динаміки на фізіолого-біохімічні процеси у стерляді різного віку. Особливо потрібно звернути увагу на визначення активності ензимів у печінці, оскільки зростання активності досліджуваних трансфераз можуть вказувати на патологічні зміни цього органу.

1. Arteni O. M., Olteanu Z., Oprică L., Bălan M. Researches on the activity of oxidoreductases from tissues harvested in different stages of development

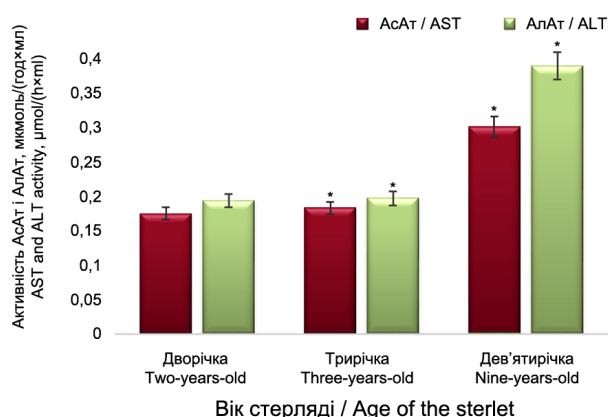


Рис. 1. Активність аспартат- і аланінамінотрансфераз у сироватці крові стерляді, мкмоль/(год×мл) ($M \pm m$, $n=7$)

Fig. 1. Activity of aspartate and alanine aminotransferases in the serum blood of sterlet, $\mu\text{mol}/(\text{h} \times \text{ml})$ ($M \pm m$, $n=7$)

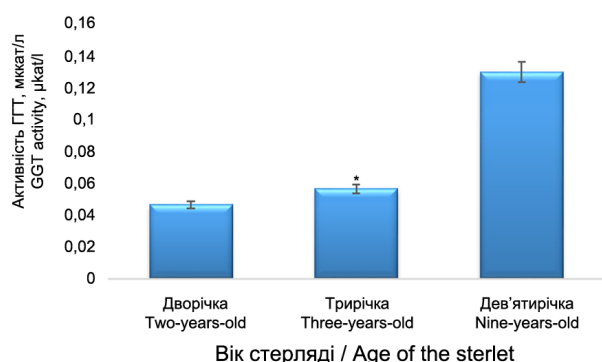


Рис. 2. Активність γ -глутамілтранспептидази у сироватці крові стерляді, мккат/л ($M \pm m$, $n=7$)

Fig. 2. Activity of γ -glutamyl transferase in the serum blood of sterlet, $\mu\text{kat}/\text{l}$ ($M \pm m$, $n=7$)

at *Cyprinus carpio*. *Secțiunea Genetică și Biologie Moleculară*, 2010, vol. 11, pp. 83–86.

2. Bicharareva O. N. Activity of serum amino-transferases in carp fish. *Natural sciences*, 2011, no. 1, issue 34, pp. 96–100. (in Russian)

3. Gesner J., Freyhof J., Kottelat M. *Acipenser ruthenus* (Sterlet). The IUCN Red List of Threatened Species, 2010, e.T227A13039007 <https://doi.org/10.2305/IUCN.UK.2010-1.RLTS.T227A13039007.en>

4. Gryshchenko V., Vovk N., Shlapak O. The pro-antioxidant balance in the liver and muscles of sterlet under carbon dioxide hibernation and anaesthesia. *Ukrainian Journal of Ecology*, 2017, vol. 7 (3), pp. 43–49.

5. Kamyschnikov V. S. *Reference book on clinic and biochemical researches and laboratory diagnostics*. MEDpress-inform, 2004, 589 p. (in Russian)

6. Krishnamurthy H. A. The Serum Gamma Glutamyl Transpeptidase — A Non invasive Diagnostic Bio Marker of Chronic Anicteric Non Alcoholic Liver Diseases. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 2013, vol. 7, no. 4, pp. 691–694.

7. Loboiko Yu. V., Stibel V. V. Activity of amino-transferases in tissues of carp yearlings during ectoparasitic infestation. Proceedings of the VIII Republican Scientific and Practical Conference with international participation “Modern aspects of pathogenesis, clinic, diagnosis, treatment and prevention of parasitic diseases”, Vitebsk, 2012, pp. 103–106. (In Russian)

8. Musaeu B. S., Kurbanova I. K., Magomedzhieva D. N., Muradova G. R., Rabadanova A. I., Margieva A. Z., Shikhamomedova R. M. Dynamics of activity of aminotransferases and creptic phosphatase in the blood of carp thistles during chronic exposure to cadmium and manganese ions. *Biological resources: fauna*, 2010, vol. 1, no. 5, pp. 1321–1324. (in Russian)

9. Nazaruk N. V., Gutty B. V., Gufriy D. F. Influence of metifen and vitamix se on the activity of aminotransferases of bulls' blood serum at cadmium nitrate loading. *Scientific messenger of Lviv National*

University of Veterinary Medicine and Biochemistry named after S. Z. Gzhytsky, 2015, vol. 17, 1 (1), pp. 121–126. (in Ukrainian)

10. Nelson D. L., Cox M. M. *Lehninger Principles of Biochemistry*. New York, W.H. Freeman, 2017, 1328 p.

11. Otto D. M. E., Moon T. W. Endogenous antioxidant systems of two teleost fish, the rainbow trout and the black bullhead, and the effect of age. *Fish Fisiol. Biochem.*, 1996, vol. 15, pp. 349–388. DOI: 10.1007/BF02112362.

12. Rabchenyuk O. O., Byyak V. Ya, Khomenchuk V. O., Kurant V. Z The activity of transaminases in the organism of freshwater fish in the action of iron ions. *Scientific notes of Ternopil National Pedagogical University named after Volodymyr Hnatyuk. Series: Biology*, 2016, no. 1, pp. 130–134. (in Ukrainian)

13. Reznikov O.H. General ethical principles of animal experimentation. *First National Congress on Bioethics. Endocrino.*, 2003, vol. 8, no. 1, pp. 142–145. (in Ukrainian)

14. Rudenko O. P., Vishchur O. I. Vacation and peculiarities of peroxide processes and activity of enzymes of the system of antioxidant protection in carp fish. *The Animal Biology*, 2016, vol. 18, no. 4, pp. 72–77. DOI: 10.15407/animbiol18.04.072. (in Ukrainian)

15. Salem Cs. H., Katz S. A., Feasel M., Ballantyne B. *Encyclopedia of Toxicology*. Third edition. 2014, pp. 1076–1081.

16. Skuratovskaya K. M. The state of the antioxidant enzyme system of the Black Sea fish in conditions of complex chronic contamination. Author's abstract. dis for obtaining sciences, degree of biology sciences candidate: 03.00.04 — “Biochemistry”, Odessa, 2009, 24 p. (in Ukrainian)

17. Smirnova N. V. Lozovskaya M. V. Influence of different concentrations of oxygen, dioxide of carbon, ammonia on survivability of sturgeon finfishes and ways of its increase. *Modern problems of science and education*, 2011, no. 5, pp. 56–71. (in Ukrainian)