

УДК 639.3:576.7:577.15:577.115

СЕЗОННІ ЗМІНИ ПЕРОКСИДНИХ ПРОЦЕСІВ І АКТИВНОСТІ АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ У ЗЯБРАХ ПРІСНОВОДНИХ РИБ

Н. П. Олексюк

Інститут біології тварин НААН

Наведені дані про вміст продуктів пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) – дієнових кон'югатів, гідропероксидів ліпідів, ТБК-активних продуктів та активність антиоксидантних ферментів – супероксиддисмутази (СОД), глутатіонпероксидази (ГП) та каталази у зябрах прісноводних риб різних видів (білого товстолобика, білого амура і коропа) у різні пори року. Встановлено, що інтенсивність процесів ПОЛ і активність системи антиоксидантного захисту у зябрах риб значною мірою залежить від сезону та виду риб. Зокрема, вміст продуктів ПОЛ у зябрах досліджуваних видів риб на початку весняного періоду значно більший порівняно до їх вмісту на початку літнього й осіннього періодів. Активність супероксиддисмутази та глутатіонпероксидази у зябрах досліджуваних видів риб на початку весняного періоду значно нижча, ніж на початку літнього й осіннього періодів, тоді як сезонні зміни активності каталази протилежні за напрямком.

Ключові слова: ПЕРОКСИДНЕ ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ, АНТИОКСИДАНТНІ ФЕРМЕНТИ, КОРОП, БІЛИЙ ТОВСТОЛОБИК, БІЛИЙ АМУР, ЗЯБРА, СЕЗОН.

Фізіологічний стан риб, які належать до пойкилотермних організмів, значною мірою залежить від факторів зовнішнього середовища. Протягом року риби здатні витримувати значні зміни температури води та вмісту в ній розчиненого кисню [1, 2]. Суттєвих змін впродовж року зазнає також рівень метаболізму в організмі риб, який залежить від сезонних факторів [3]. Все це суттєво впливає на інтенсивність пероксидних процесів і систему антиоксидантного захисту в організмі риб упродовж року. Разом з цим, інтенсивність процесів ПОЛ у клітинах риб істотно залежить від вмісту у фосfolіпідах клітинних мембран поліненасичених жирних кислот (ПНЖК), кількість яких збільшується у зимовий період [4]. Проведені раніше дослідження показали обернену залежність між змінами вмісту продуктів ПОЛ й активністю антиоксидантних ферментів супероксиддисмутази (СОД) і глутатіонпероксидази (ГП) у печінці прісноводних риб протягом річного циклу вирощування [5].

Зябра відіграють ключову роль у життєдіяльності риб. Вони є органом дихання у гідробіонтів, мають широку поверхню, пронизану густою сіткою капілярів, що дозволяє розчиненому у воді кисню легко проникати в кров. Антиоксидантна система у зябрах риб пов'язана з функцією дихання і обміну киснем між зовнішнім і внутрішнім середовищами. Тканина зябер багата на кровоносні судини, а еритроцити крові мають власну потужну АОС, яка відіграє важливу роль в антиоксидантному захисті у зябрах [6]. Вони дуже чутливі до процесів окиснення завдяки високій фагоцитарній активності [7], з одного боку, і меншому вмісту природних антиоксидантів, з другого [8].

У зв'язку з наведеними даними метою роботи було дослідження впливу сезону на інтенсивність пероксидних процесів і активність ферментної і неферментної ланок антиоксидантної системи у зябрах трьох видів прісноводних риб – коропа (*Cyprinus carpio* L.), білого товстолобика (*Hypophthalmichthys molitrix*) та білого амура (*Stenopharyngodon idella*), які суттєво відрізняються між собою типом живлення та метаболізмом ненасичених жирних кислот. Зазначені питання в літературі не висвітлені.

Матеріали і методи

Досліджували зразки зябер трьох видів прісноводних риб дворічного віку масою 450–500 г: лускатого коропа (*Cyprinus carpio* L.), білого товстолобика (*Hypophthalmichthys molitrix*) та білого амура (*Stenopharyngodon idella*), які вирощувалися у дослідних ставах Львівського відділення Інституту рибного господарства у смт. Великий Любінь Городоцького р-ну Львівської обл. у різні пори року: на початку весняного (у березні), літнього (у червні), осіннього (у вересні) та зимового (у грудні) періодів (n=4). Рибу виловлювали зі ставів траловим методом. Гідрохімічні показники води та кисневий режим у ставі були в межах норми.

Зразки тканини зябер після декапітації риб заморожували та зберігали у рідкому азоті до початку досліджень. Із заморожених зразків готували гомогенат, який використовували у подальших дослідженнях. У ньому визначали вміст продуктів ПОЛ: дієнових кон'югатів [9], гідропероксидів ліпідів [10], ТБК-активних продуктів [11], активність антиоксидантних ферментів: супероксиддисмутази [12], глутатіонпероксидази [13] та каталази [14]. Вміст білка визначали методом Лоурі [15].

Отримані цифрові дані обробляли статистично за допомогою програми Microsoft EXCEL. Для визначення вірогідних відмінностей між середніми величинами використовували критерій Стьюдента.

Результати й обговорення

Проведені дослідження показали, що інтенсивність процесів пероксидного окиснення ліпідів у зябрах прісноводних риб суттєво змінюється протягом року, що свідчить про її залежність від сезонних факторів. Так, із наведених на рисунках 1–3 даних видно, що вміст усіх продуктів ПОЛ у зябрах коропа, білого товстолобика та білого амура на початку весняного періоду (у березні) значно більший, ніж на початку літнього й особливо осіннього періодів ($P < 0,05$ – $0,001$). Отримані дані свідчать про різке посилення інтенсивності пероксидних процесів у зябрах прісноводних риб у ранній весняний період. Подібні сезонні різниці виявлено у печінці прісноводних риб [5]. Ці результати узгоджуються з даними, отриманими при дослідженні впливу температури на стан антиоксидантної системи у зябрах риб *Liza aurata* [16]. Ранній весняний період найбільш несприятливий та небезпечний для ставових риб внаслідок виснаження енергетичних субстратів, що, в свою чергу, відображається на активності антиоксидантних ферментів, а саме зменшення їх у березні, що є причиною високого вмісту продуктів ПОЛ у зябрах риб. Відомо також, що зниження температури навколишнього середовища у зимовий період призводить до збільшення вмісту ПНЖК в організмі риб, які легко піддаються пероксидному окисненню [4].

На початку літнього й осіннього періодів вміст дієнових кон'югатів і ТБК-активних продуктів у зябрах рослиноїдних видів риб більший, а вміст гідропероксидів ліпідів менший, ніж у зябрах коропа ($P < 0,05$ – $0,001$). На початку весняного періоду вміст дієнових кон'югатів у зябрах коропа значно більший, а вміст гідропероксидів ліпідів і ТБК-активних продуктів – менший, ніж у зябрах білого товстолобика та білого амура ($P < 0,05$ – $0,001$). Подібні видові різниці у вмісті продуктів ПОЛ виявлено у печінці прісноводних риб [5]. Високий вміст продуктів ПОЛ у зябрах рослиноїдних риб у порівнянні з коропом може бути зумовлений особливостями їх живлення. Відомо, що білий товстолобик і білий амур споживають відповідно фітопланктон і вищу водну рослинність, ліпіди котрих містять більшу кількість ПНЖК, ніж штучні корми, які споживає короп [4]. Наявні в літературі дані свідчать про пряму залежність між вмістом цих ПНЖК у ліпідах корму і тканинах риб [17].

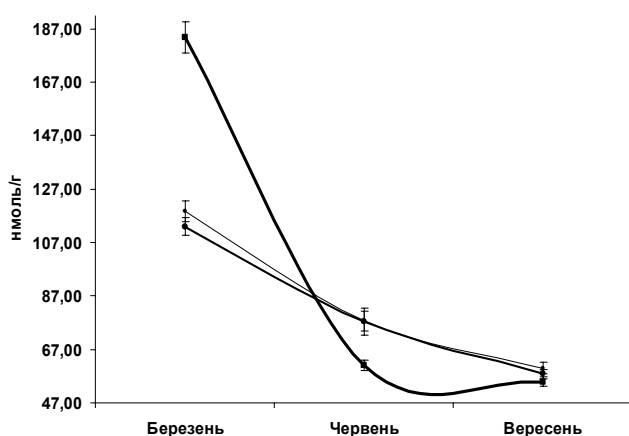


Рис. 1. Вміст дієнових кон'югатів у зябрах прісноводних риб у різні пори року, ($M \pm m$, $n=4$). Тут і на рис. 2–6 – білий товстолобик; – білий амур; – короп. $P < 0,05$ по відношенню до березня.

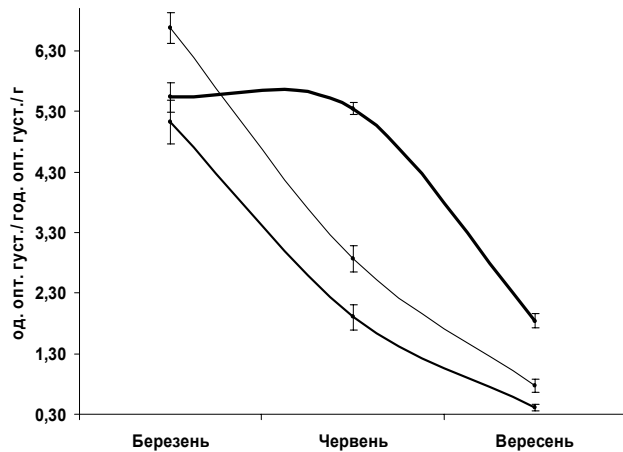


Рис. 2. Вміст гідропероксидів ліпідів у зябрах прісноводних риб у різні пори року, ($M \pm m$, $n=4$).

Активність антиоксидантної системи у зябрах прісноводних риб також суттєво змінюється протягом року (рис. 4–6). Зокрема, активність СОД і ГП у зябрах коропа, білого товстолобика та білого амура на початку літнього періоду значно вища, ніж на початку весняного періоду ($P < 0,05-0,001$). Збільшення температури води призводить до збільшення споживання кисню рибами та підвищення рівня метаболізму в їхньому організмі [18], що дозволяє пояснити високу активність СОД і ГП у зябрах риб на початку літнього й осіннього періодів. Отримані результати узгоджуються з даними такого плану інших авторів [16]. У всіх видів риб найвища активність СОД у зябрах виявлена на початку літнього періоду (у червні), а активність ГП – на початку осіннього (у вересні). З цих даних випливає, що виявлене збільшення вмісту продуктів ПОЛ у зябрах риб усіх видів на початку весняного періоду зумовлено зниженням активності ключових ферментів системи антиоксидантного захисту – СОД і ГП.

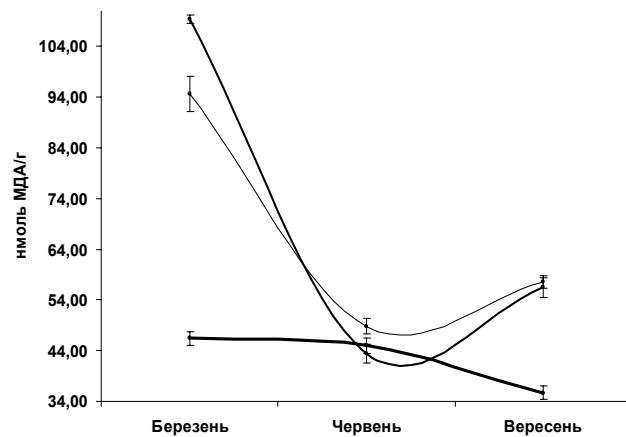


Рис. 3. Вміст ТБК-активних продуктів у зябрах прісноводних риб у різні пори року, ($M \pm m$, $n=4$).

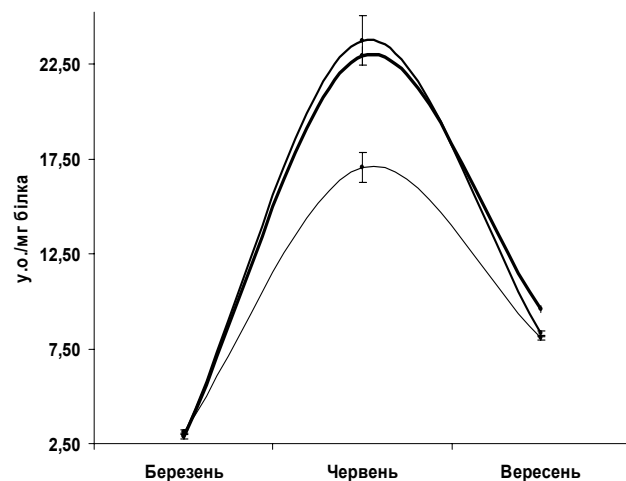


Рис. 4. Активність СОД у зябрах прісноводних риб у різні пори року, ($M \pm m$, $n=4$).

У зябрах білого амура та коропа активність СОД і ГП на початку літнього й осіннього періодів значно вища, а на початку весняного періоду активність ГП значно нижча, ніж у зябрах білого товстолобика ($P < 0,05-0,001$). При цьому виявлено на початку літнього й осіннього періодів дещо менший вміст дієнових кон'югатів і ТБК-активних продуктів у зябрах коропа порівняно до їх вмісту у зябрах рослиноїдних риб.

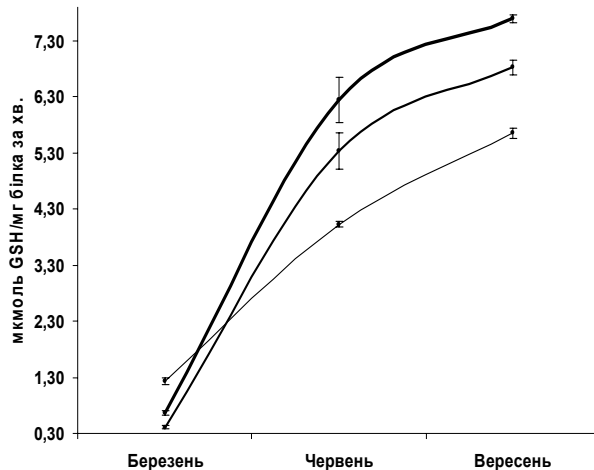


Рис. 5. Активність ГП у зябрах прісноводних риб у різні пори року, ($M \pm m$, $n=4$).

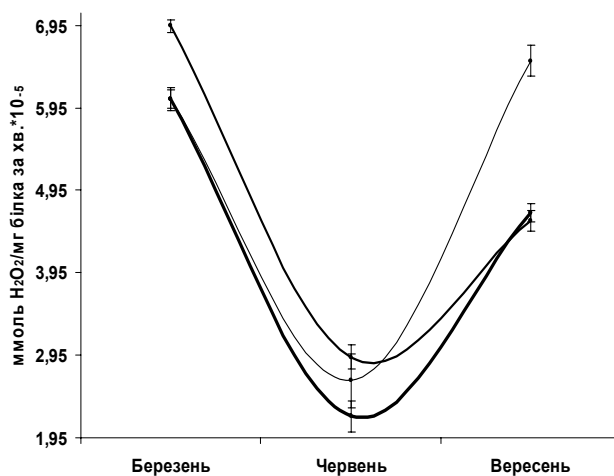


Рис. 6. Активність каталази у зябрах прісноводних риб у різні пори року, ($M \pm m$, $n=4$).

На відміну від СОД і ГП активність каталази у зябрах риб на початку весняного періоду значно вища, ніж на початку осіннього й особливо літнього періодів ($P < 0,05-0,001$). Лише у зябрах білого товстолобика її активність на початку весняного й осіннього періодів майже однакова.

Високу активність каталази у весняний період можна пояснити тим, що під впливом стресовим факторів, якими є гіпоксичні умови, що зазнають риби у цей час, в їхньому організмі активуються вільнорадикальні процеси, що призводять до генерації ендogenous кисню, утворення якого каталізується каталазою. Завдяки цьому відбувається компенсація нестачі кисню в організмі риб у кінці зимової перетримки. Одержані дані про високу активність каталази у зябрах ставових риб у ранній весняний період узгоджуються з наявними в літературі даними про сезонні зміни АСЗ у камбали (*Liopsetta pinnifasciata*) [19].

Загалом, отримані результати досліджень свідчать про суттєвий вплив сезонних факторів на активність про- та антиоксидантних систем у зябрах прісноводних риб.

Висновки

1. Вміст продуктів ПОЛ (дієнових кон'югатів, гідропероксидів ліпідів і ТБК-активних продуктів) у зябрах прісноводних риб на початку літнього й осіннього періодів менший ($P < 0,05-0,001$), а активність супероксиддисмутази та глутатіонпероксидази, навпаки, вища ($P < 0,05-0,001$), ніж на початку зимового і весняного періодів.
2. Вміст ТБК-активних продуктів у зябрах коропа на початку весняного й осіннього періодів значно менший ($P < 0,05-0,001$), ніж у зябрах білого товстолобика та білого амура.
3. Активність каталази у зябрах коропа і білого амура на початку весняного періоду вища ($P < 0,05-0,001$), ніж на початку літнього й осіннього періодів. При цьому, її активність у зябрах коропа на початку літнього й осіннього періодів нижча ($P < 0,05-0,001$), ніж у білого товстолобика.

Перспективи подальших досліджень. Подальші дослідження будуть скеровані на вивчення впливу підвищеного рівня вітаміну Е, каротиноїдів і селену в раціоні риб на процеси ПОЛ і систему антиоксидантного захисту в їх тканинах.

N. P. Oleksiuk

THE SEASONAL CHANGES OF LIPID PEROXIDATION AND ACTIVITY OF ANTIOXIDANT SYSTEM IN GILL OF FRESHWATER FISHES

S u m m a r y

The data about content of lipid peroxidation products — diene conjugates, lipid hydroperoxides, thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) and activity of antioxidant enzymes — superoxide dismutase, glutathione peroxidase and catalase in gill of freshwater fishes of different species (silver carp, grass carp and common carp) in different seasons were presented in the article. It was established the lipid peroxidation and the activity of antioxidant defence system in gill of fish significantly depends on the season and fish species. In particular, the content of lipid peroxidation products in the gill of freshwater fishes at the beginning of spring was significantly higher compared to their content at the beginning of summer and autumn. The superoxide dismutase and glutathione peroxidase activities in the gill of these fish species at the beginning of spring were significantly lower than at the beginning of summer and autumn while the seasonal changes of catalase activity in the gill of fish were opposite character.

Н. П. Олексюк

СЕЗОННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПЕРЕКИСНЫХ ПРОЦЕССОВ И АКТИВНОСТИ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ В ЖАБРАХ ПРЭСНОВОДНЫХ РЫБ

А н н о т а ц и я

В статье приведены данные о содержании продуктов перекисного окисления липидов — диеновых конъюгатов, гидроперекисей липидов и продуктов, которые взаимодействуют с тиобарбитуровой кислотой (ТБК-активных продуктов) и активности антиоксидантных ферментов — супероксиддисмутаза, глутатіонпероксидаза и каталазы в жабрах пресноводных рыб разных видов (белого толстолобика, белого амура и карпа) в разные времена года. Установлено, что интенсивность процессов ПОЛ и активность системы антиоксидантной защиты в жабрах рыб в значительной степени зависит от сезона и вида рыб. В частности, содержание продуктов ПОЛ в жабрах исследуемых видов рыб в начале весеннего периода значительно больше, чем в начале летнего и осеннего периодов. Активность супероксиддисмутаза и глутатіонпероксидаза в жабрах исследуемых видов рыб в начале весеннего периода значительно ниже, чем в начале летнего и осеннего периодов, тогда как сезонные изменения активности каталазы противоположные за направлением.

1. Грубинко В. В. Перекисное окисление липидов и антиоксидантная защита у рыб (обзор) / В. В. Грубинко, Ю. В. Леус // Гидробиол. журн. — 2001. — Т. 37, № 1. — С. 64–78.
2. Martines-Alvarez R. M. Antioxidant defenses in fish : biotic and abiotic factors / R. M. Martines-Alvarez, A. E. Morales, A. Sanz // Rev. Fish Biol. Fish. — 2005. — V. 15, № 1. — P. 75–88.
3. Nilsson G. E. Hypoxic survival strategies in two fishes : extreme anoxia tolerance in the North European crucian carp and natural hypoxic preconditioning in a coral-reef shark / G. E. Nilsson, G. M. C. Renshaw // The J. of Exp. Biol. — 2004. — V. 207. — P. 3131–3139.
4. Radi A. A. R. Phospholipid fatty acid composition and lipid peroxidation in some tissues of carp acclimated to different environmental temperatures / A. A. R. Radi, I. Csengeri, B. Matkovics // Aquacult. Hungar. — 1990. — V. 6. — P. 161–170.
5. Олексюк Н. П. Активність про- і антиоксидантних систем у печінці прісноводних риб у різні пори року / Н. П. Олексюк, В. Г. Янович // Укр. біохім. ж. — 2010. — № 3. — С. 41–48.
6. Организмы, популяции, экосистемы : проблемы и пути сохранения биоразнообразия : материалы

Всерос. конф. с междунар. участием «Водные и наземные экосистемы : проблемы и перспективы исследований», Вологда, Россия, 24-28 ноября 2008 г. / ГОУ ВПО «Вологодский государственный педагогический университет», Вологодская лаборатория ФГНУ «ГосНИОРХ», Вологодское отделение гидробиологического общества РАН, НП «Научный центр экологических исследований». — Вологда, 2008. — 367 с.

7. *Fatima M.* Pollutant-induced over-activation of phagocytes is concomitantly associated with peroxidative damage in fish tissues / M. Fatima // *Aquat. Toxicol.* — 2000. — V. 49. — P. 243–250.
8. *Parihar M. S.* Lipid peroxidation and ascorbic acid status in respiratory organs of male and female freshwater catfish *Heteropneustes fossilis* exposed to temperature increase / M. S. Parihar, A. K. Dubey // *Comp. Biochem. Physiol. C.* — 1995. — V. 112. — P. 309–313.
9. *Стальная И. Д.* Определение диеновых конъюгатов / И. Д. Стальная // *Современные методы в биохимии.* — М. : Медицина, 1977. — С. 63–64.
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, Бюл. № 13.
11. *Коробейникова С. Н.* Модификация определения продуктов перекисного окисления липидов в реакции с тиобарбитуровой кислотой / С. Н. Коробейникова // *Лаб. дело.* — 1989. — № 7. — С. 8–9.
12. *Дубинина Е. Е.* Активность и изоферментный спектр СОД эритроцитов / Е. Е. Дубинина, Л. Я. Сальникова, Л. Ф. Ефимова // *Лаб. дело.* — 1983. — № 10. — С. 30–33.
13. *Моин В. М.* Простой и специфический метод определения активности глутатионпероксидазы в эритроцитах / В. М. Моин // *Лаб. дело.* — 1986. — № 12. — С. 724–727.
14. *Метод* определения активности каталазы / М. А. Королюк, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова, В. Е. Токарев // *Лаб. дело.* — 1988. — № 1. — С. 16–18.
15. *Protein measurement with the Folin-Phenol reagents* / O. H. Lowry, N. J. Rosebrough, A. L. Farr, R. J. Randall // *J. Biol. Chem.* — 1951. — 193, N 1. — P. 265–275.
16. Combined use of environmental data and biomarkers in fish (*Liza aurata*) inhabiting a eutrophic and metal-contaminated coastal system – Gills reflect environmental contamination / P. Pereira, H. de Pablo, C. Vale, M. Pacheco // *Mar. Environ. Res.* — 2010. — V. 69, is. 2. — P. 53–68.
17. *Фріштак О. М.* Жирнокислотний склад ліпідів природних кормів рибоводних ставів та тканин ставових риб : автореф. дис. ... канд. сільськогосп. наук : 03.00.04 / О. М. Фріштак. — Львів, 2008. — 16 с.
18. *Filho D. W.* Antioxidant defences in marine fish-I. Teleosts / D. W. Filho, C. Giulivi, A. Boveris // *Comp. Biochem. Physiol. C.* — 1993. — V. 106. — P. 409–413.
19. *Aleshko S. A.* Seasonal variations of biotransformation and antioxidant parameters in liver of the smooth flounder *Liopsetta pinnifasciata* from Amursky Bay (Sea of Japan) / S. A. Aleshko, O. N. Lukyanova // *Russ. J. of Mar. Biol.* — 2008. — V. 34, № 2. — P. 135–138.

Рецензент: головний науковий співробітник лабораторії екологічної фізіології та якості продукції, доктор сільськогосподарських наук, с. н. с. Рівіс Й. Ф.