

# ВПЛИВ МІКРОДОБАВОК З ВМІСТОМ КОБАЛЬТУ І ЦИНКУ НА СТАН СИСТЕМИ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ ТА ПРОЦЕСИ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ У ТКАНИНАХ КОРОПІВ

С.І. Крась, І.І. Грициняк, С.І. Тарасюк, М.В. Крась

Інститут рибного господарства УААН, м. Київ

*Встановлено, що при дії іонів кобальту в організмі коропа (*Cyprinus carpio L.*) зростає активність СОД, КАТ, а вміст ТБК-активних продуктів знижується. Отже, під дією мікродобавок кобальту опосередковано через інші молекулярні системи зростає антиоксидантний статус тканин, а від впливу цинкових мікродобавок — знижується.*

Кобальт, цинк і певною мірою марганець є біогенними мікроелементами, біологічна дія яких здійснюється опосередковано через кофакторну участь у складі ферментів. Вони впливають на ферментативні реакції за участю оксидоредуктаз. Оскільки кобальт і цинк є хімічними елементами із змінною валентністю, вони здатні ініціювати реакції вільнорадикального окиснення ліпідів біомембран і впливати на активність ферментів антиоксидантної системи, а тому подвійно впливають на прооксидантно-антиоксидантну рівновагу: інтенсивність процесу перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ), віддаючи електрони; стан системи антиоксидантного захисту, змінюючи процеси синтезу білків-ферментів, які входять до складу ферментативної антиоксидантної системи [5, 16]. Тому при вивченні впливу на організм гідробіонтів кобальту і цинку, як кормових мікродобавок, особливу увагу слід приділити дослідженню змін у функціональному стані системи антиоксидантного захисту й інтенсивності процесів перекисного окиснення ліпідів.

У літературі є ряд робіт, присвячених вивченню короткотривалої дії забрудненого високими концентраціями важких металів середовища [11], або ж довготривалої його дії з концентраціями важких металів, які незначно перевищують граничнодопустимі концентрації (ГДК) [12], на стан системи антиоксидантного захисту (АОЗ). Проте відсутні дослідження, присвячені вивченню дії кобальтових і

цинкових мікродобавок у концентраціях, які не є токсичними, але фізіологічно впливають [3] на систему АОЗ. У зв'язку з цим ми досліджували вплив низьких концентрацій солей кобальту і цинку, як мікродобавок до корму протягом 2-х місяців на стан системи антиоксидантного захисту й інтенсивність процесів ПОЛ у печінці, міокарді і крові коропів.

## МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Дослідження проводили на дворічках коропа масою 750–900 г, вирощених у ставках Львівської дослідної станції Інституту рибного господарства УААН. Залежно від складу згодовуваного корму, риб поділили на шість груп: I група контрольна ( $n=10$ ) впродовж усього вегетаційного періоду отримувала стандартний комбікорм; наступні п'ять ( $n=6$ ) груп упродовж останніх 2-х місяців вегетаційного періоду отримували стандартний комбікорм з додаванням мікродобавок кобальту в складі його солі ( $\text{CoCl}_2$ ) так: II група — 0,4 мг кобальту, III — 0,6 мг кобальту на кг живої маси риб, тоді як IV, V, VI групи отримували цинк, який входив до складу солі ( $\text{ZnSO}_4$ ) в концентраціях відповідно 0,2, 0,3 і 0,4 мг на кг живої маси риб.

Упродовж вегетаційного періоду гідрохімічні показники води та динаміка вмісту кобальту і цинку (та інших важких металів) у ній перебували в межах норми.

Для досліджень відбирали печінку, кров і міокард. Усі процедури з виділенням і обробкою зразків відповідних тка-

нин проводили на холоді. Перед дослідом риб вилувлювали із ставу та утримували в умовах віварію.

Інтенсивність процесів ПОЛ оцінювали за вмістом ТБК-активних продуктів у крові та гомогенатах серця і печінки [4]. Антиоксидантні властивості досліджуваних тканин визначали за активністю супероксиддисмутази (СОД) [8], каталази [7] та глутатіонпероксидази [9]. Методики з визначення активності ферментів і вмісту ТБК-активних продуктів були адаптовані до холоднокровних.

Результати досліджень опрацьовували статистично з використанням t-критерію Стьюдента.

### РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

В організмі тварин і людини функціонує система захисту від дії реактивно здатних кисневих метаболітів, до якої належать низькомолекулярні антиоксиданти та антиоксидантні ферменти [1, 2, 14]. Зміщення рівноваги між активними формами кисню і антиоксидантами у бік збільшення утворення перших є потенційною передумовою розвитку в біологічних системах оксидативного стресу, який відіграє провідну роль у розвитку патогенезу [10, 13, 15].

Проведені дослідження засвідчили неоднозначність впливу кобальтових і цинкових мікродобавок на процеси ПОЛ та активність ферментів системи АОЗ у досліджуваних тканинах коропа. Так, активність СОД зростає у досліджуваних тканинах піддослідних риб, яким згодували кобальт, порівняно з контролем (рис. 1).

Зокрема в печінці II групи на 150% ( $P \leq 0,05$ ) до  $5777,4 \pm 1558,8$  од. акт.  $\text{хв}^{-1} \text{мг}^{-1}$  білка, III — на 100% ( $P \leq 0,05$ ) до  $4599,4 \pm 958,5$  од. акт.  $\text{хв}^{-1} \text{мг}^{-1}$  білка; в міокарді II — в 3 рази ( $P \leq 0,001$ ) до  $11346,0 \pm 960,2$  од. акт.  $\text{хв}^{-1} \text{мг}^{-1}$  білка, в III — в 4,7 раз ( $P \leq 0,001$ ) до  $15711,3 \pm 6546,3$  од. акт.  $\text{хв}^{-1} \text{мг}^{-1}$  білка; в крові II — на 77,7% ( $P \leq 0,05$ ) до  $2329,5 \pm 677,5$  од. акт.  $\text{хв}^{-1} \text{мг}^{-1}$  білка і в III — на 49,7% ( $P \leq 0,05$ ) до  $1938,6 \pm 969,0$  од. акт.  $\text{хв}^{-1} \text{мг}^{-1}$  білка. Вплив цинку на відміну від дії кобальту на активність СОД у тканинах дослідних груп щодо контролю був протилежним, тобто спостерігалась тенденція до її зниження (див. рис. 1), так: у печінці IV групи 48,1% ( $P \leq 0,05$ ) до  $1186,5 \pm 209,8$  од. акт.  $\text{хв}^{-1} \text{мг}^{-1}$  білка і в VI — на 77,3% ( $P \leq 0,001$ ) до  $518,0 \pm 242,0$  од. акт.  $\text{хв}^{-1} \text{мг}^{-1}$  білка; в крові VI — на 81,5% ( $P \leq 0,001$ ) до  $242,0 \pm 42,0$  од. акт.  $\text{хв}^{-1} \text{мг}^{-1}$  білка і лише в міо-

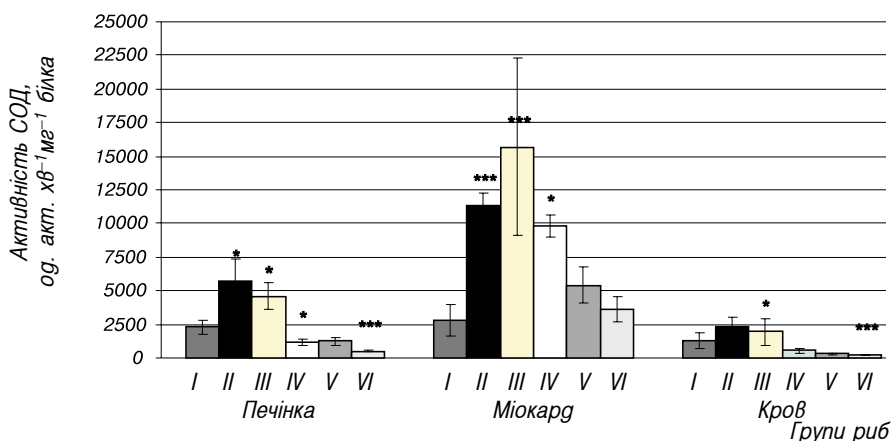


Рис. 1. Активність СОД (од. акт.  $\text{хв}^{-1} \text{мг}^{-1}$  білка) у печінці, міокарді і крові дворічного коропа при використанні кобальтових і цинкових мікродобавок; групи риб: I — контроль, II — 0,4 мг кобальту, III — 0,6 кобальту, IV — 0,2 цинку, V — 0,3 цинку, VI — 0,4 мг цинку.

Примітка: тут і далі \* позначено вірогідні різниці в досліджуваних показниках у тканинах риб II–VI груп порівняно з рибами I групи; \* $P < 0,05$ ; \*\* $P < 0,01$ ; \*\*\* $P < 0,001$

карді IV групи активність СОД зростає у 2,2 раза.

Активність каталази, як і активність СОД, під впливом кобальту в досліджуваних тканинах, за винятком печінки, зростає (рис. 2): в міокарді II групи у 7,3 раза ( $P \leq 0,001$ ) і в III — 2,8 раза; в крові II — на 73% і становила  $0,154 \pm 0,01$  нмоль  $H_2O_2$   $xv^{-1}mg^{-1}$  білка, в III — на 40,4% ( $P \leq 0,05$ ) і становила  $0,125 \pm 0,03$  нмоль  $H_2O_2$   $xv^{-1}mg^{-1}$  білка.

За дії цинку в концентраціях 0,2 і 0,3 мг в активності каталази спостерігалась тенденція до її зниження, тоді як за концентрації 0,4 мг (VI-та група) вона значно зростає (див. рис. 2): у печінці на 70,3% ( $P \leq 0,001$ ) до  $0,69 \pm 0,3$  нмоль  $H_2O_2$   $xv^{-1}mg^{-1}$  білка; в міокарді на 154% ( $P \leq 0,001$ ) до  $0,2,3 \pm 0,13$  нмоль  $H_2O_2$   $xv^{-1}mg^{-1}$  білка; в крові у 5 разів. Таке зростання каталазної і супероксиддисмутазної активності в печінці, міокарді і крові коропів під впливом кобальту можна пояснити, як збільшення надійності ферментативної антиоксидантної системи, що в свою чергу може бути пояснене індукцією антиоксидантних ферментів, наприклад, активацією цих ферментів безпосередньо. Тобто, кобальт у вищезазначених концентраціях не виступає в ролі прооксиданта, оскільки коли б він діяв як фактор оксидативного стресу за період, передбачений дослідом, усі опосередковані гормональні системи регуляції ферментів АОЗ виснажились б і активність ферментів АОЗ у тканинах знизилася б, а останнього дослідження

не показують. Зокрема, в печінці II групи на 150% ( $P \leq 0,05$ ) до  $5777,4 \pm 1558,8$  од. акт.  $xv^{-1}mg^{-1}$  білка, III — на 100% ( $P \leq 0,05$ ) до  $4599,4 \pm 958,5$  од. акт.  $xv^{-1}mg^{-1}$  білка; в міокарді II — в 3 рази ( $P \leq 0,001$ ) до  $11346,0 \pm 960,2$  од. акт.  $xv^{-1}mg^{-1}$  білка, в III — в 4,7 рази ( $P \leq 0,001$ ) до  $15711,3 \pm 6546,3$  од. акт.  $xv^{-1}mg^{-1}$  білка; в крові II — на 77,7% ( $P \leq 0,05$ ) до  $2329,5 \pm 677,5$  од. акт.  $xv^{-1}mg^{-1}$  білка і в III — на 49,7% ( $P \leq 0,05$ ) до  $1938,6 \pm 969,0$  од. акт.  $xv^{-1}mg^{-1}$  білка.

Вплив цинку, на відміну від дії кобальту, на активність СОД у тканинах дослідних груп риб щодо контролю був протилежним, тобто спостерігалась тенденція до її зниження (див. рис. 1), так, у печінці IV групи 48,1% ( $P \leq 0,05$ ) до  $1186,5 \pm 209,8$  од. акт.  $xv^{-1}mg^{-1}$  білка і в VI — на 77,3% ( $P \leq 0,001$ ) до  $518,0 \pm 242,0$  од. акт.  $xv^{-1}mg^{-1}$  білка; в крові VI — на 81,5% ( $P \leq 0,001$ ) до  $242,0 \pm 42,0$  од. акт.  $xv^{-1}mg^{-1}$  білка і лише в міокарді IV групи активність СОД зростає у 2,2 раза. Це також показує аналіз активності глутатіонової ланки системи АОЗ, де (рис. 3), як видно на прикладі печінки і крові, ніяких істотних змін в активності глутатіонпероксидази не спостерігається. Її активність у міокарді IV групи зростає на 174% до  $301,6 \pm 70,4$  мкмоль GSH  $xv^{-1}mg^{-1}$  білка.

Вміст ТБК-активних продуктів у печінці і крові риб II і III груп знизилась щодо контролю (рис. 4): у печінці II групи на 73% ( $P \leq 0,001$ ) до 2,35 мкмоль ТБК-АП  $mg^{-1}$ білка, III — групи на 51% ( $P \leq 0,05$ ) до  $28 \pm 10$  мкмоль ТБК-АП  $mg^{-1}$ білка; у

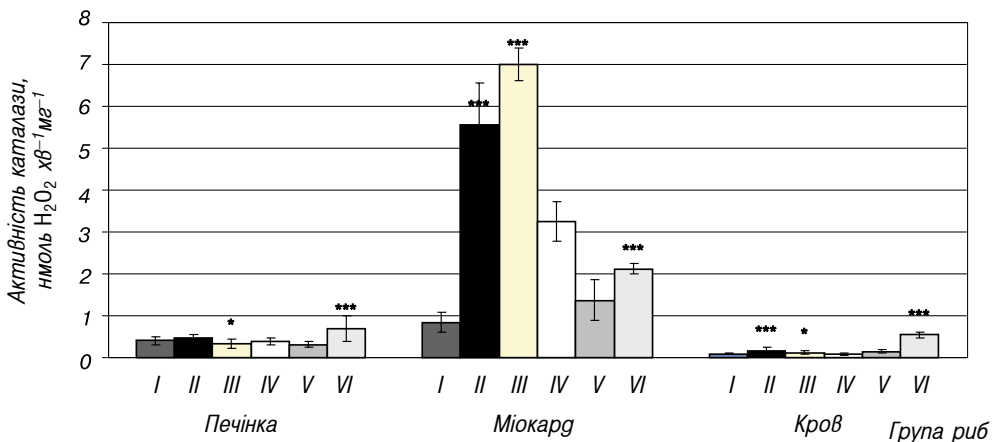


Рис. 2. Активність каталази (нмоль  $H_2O_2$   $xv^{-1}mg^{-1}$ ) у печінці, міокарді і крові дворічного коропа при використанні кобальтових і цинкових мікродобавок

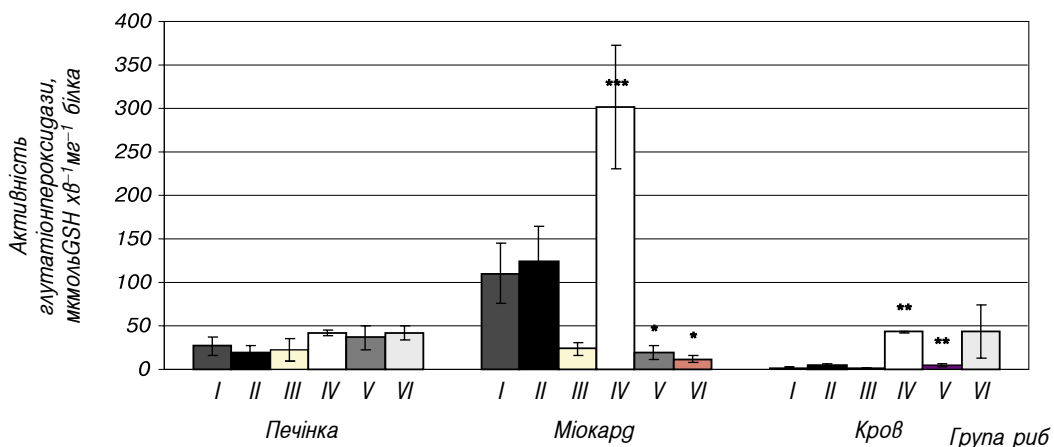


Рис. 3. Активність глутатіонпероксидази (мкмольGSH хв<sup>-1</sup>мг<sup>-1</sup> білка ) у печінці, міокарді і крові коропа при використанні кобальтових і цинкових мікродобавок

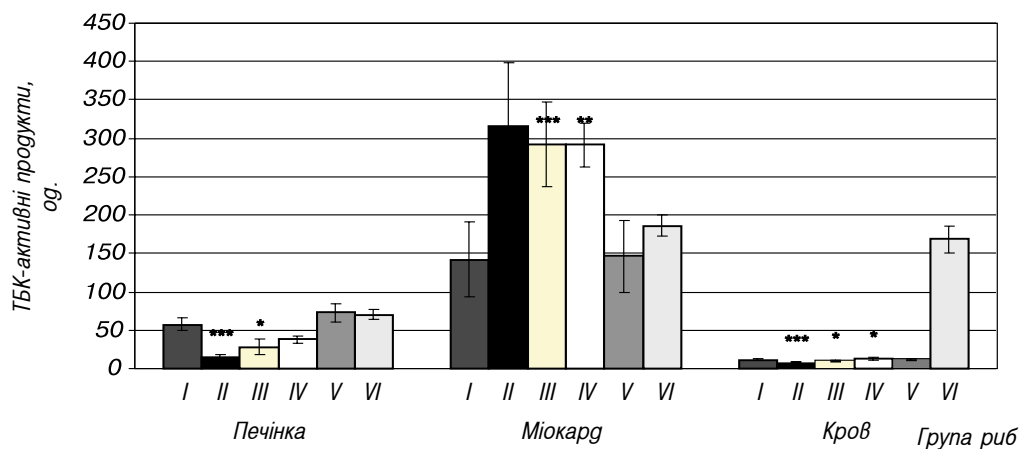


Рис. 4. Вміст ТБК-активних продуктів у печінці, міокарді і крові коропа при використанні кобальтових і цинкових мікродобавок

крові II — групи на 30,4% ( $P \leq 0,001$ ) до 8,0 мкмоль ТБК-АП мг<sup>-1</sup>білка, III — на 11,3% ( $P \leq 0,05$ ) до 10,0 мкмоль ТБК-АП мг<sup>-1</sup>білка.

У печінці і крові IV–VI груп також спостерігається тенденція до зниження вмісту ТБК-активних продуктів. Зниження вмісту цих продуктів у печінці і крові II і III груп можна пояснити, виходячи із аналізу вищенаведених даних активностей СОД, КАТ, тоді як IV–VI групах такого взаємозв'язку немає.

У міокарді, на відміну від печінки і крові, спостерігається тенденція до збільшення вмісту ТБК-активних продуктів хоча активність ферментів АОЗ була високою. Це пояснюється специ-

фічністю обміну речовин міокарда, де, як відомо, основна кількість молекул АТФ синтезується у процесі аеробного розщеплення ліпідів. Аналіз цих даних вказує на те, що цинкові мікродобавки не однозначно впливали на активність ферментів АОЗ.

Активність металоферментів, до яких належить і СОД, може змінюватись під впливом металу, який входить до складу активного центра ферменту, прямо чи опосередковано впливаючи на певні етапи його біосинтезу. Прискорення швидкості синтезу СОД спричиняє збільшення питомої кількості ферменту, за рахунок чого збільшується активність СОД, тоді як уповільнення синтезу СОД матиме

протилежний ефект. Оскільки накопичення цинку, який є апоферментом СОД, у досліджуваних тканинах не відмічено, то пригнічення активності СОД у печінці і крові під дією цинку, яке відмічено в досліді, не може бути спричинене впливом цинку на швидкість синтезу СОД [10].

Можливо, зниження активності СОД у нашому досліді зумовлене опосередкованим механізмом впливу на вже синтезовані молекули СОД у тканинах, які пригнічують її здатність взаємодіяти з субстратом (супероксидний аніон) кількість якого, виходячи із результатів досліджень (див. рис. 4) і методики визначення активності СОД [8], була не меншою, ніж у тканинах контрольних риб.

Активність ферментів АОЗ, як бачимо з даних досліджень, є тканинноспецифічною і залежить від природи хімічного елемента, але не має чіткого дозозалежного характеру. Звичайно, останнє стосується лише концентрацій металів, використаних у цьому досліді.

Дані досліджень, що стосуються токсичного впливу важких металів на стан

системи АОЗ, свідчать про наявність чіткої дозозалежності між концентрацією важкого металу у водному середовищі і його впливом на систему АОЗ [6].

## ВИСНОВКИ

Стан системи антиоксидантного захисту зазнає функціональних змін при дії кобальтових і цинкових мікродобавок, які не є однаково спрямовані:

кобальт у концентраціях 0,4 і 0,6 мг/кг живої маси риби опосередковано стимулює активність супероксиддисмутази і каталази, а інтенсивність процесу перекисного окиснення ліпідів знижується;

цинк у концентраціях 0,2–0,4 мг/кг живої маси риби пригнічує активність супероксиддисмутази;

за дії цих мікродобавок глутатионова ланка антиоксидантного захисту не зазнає ніяких змін.

Вплив кобальту і цинку на активність ферментів АОЗ та інтенсивність ПОЛ у концентраціях, передбачених дослідом, не мають дозозалежного характеру.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Антонюк Г.Л., Бабич Н.О., Сологуб Л.І. та ін. Утворення активних форм кисню та система антиоксидантного захисту в організмі тварин // Біологія тварин. — 2000. — Т. 2, № 2. — С. 34–43.
2. Барабой В.А., Сутковой Д.А. Окислительно-антиоксидантный гомеостаз в норме и патологии. — К.: Наукова думка. — 1997. — 419 с.
3. Воробьев В.И. Микроэлементы и их применение в рыбоводстве. — М.: Пищевая пром-ть. — 1979. — 183 с.
4. Гаврилов В.Б., Мажуль Л.М. Анализ методов определения продуктов перекисного окисления липидов в сыворотке крови по тесту с тиобарбитуратовой кислотой // Вопр. мед. химии. — 1987. — Т. 33, № 1. — С. 118–122.
5. Дубинина Е.Е. Активность и свойства супероксиддисмутази эритроцитов и плазмы крови человека в онтогенезе // Укр. биохим. журн. — 1988. — Т. 60, № 3. — С. 20–25.
6. Зінковська Н.Г. Функціонування антиоксидантних систем у крові риб при інтоксикації йонами міді, цинку, марганцю і свинцю: Автореф. дис. ... канд. біол. наук. — Чернівці, 2003. — 19 с.
7. Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г. Метод определения активности каталазы // Лаб. дело. — 1988. — № 1. — С. 16–19.
8. Костюк В.А., Потапович А.И., Ковалева Ж.И. Простой и чувствительный метод определения активности супероксиддисмутази, основанный на реакции окисления кверцитина // Вопр. мед. химии. — 1990. — № 2. — С. 88–91.
9. Мойн В.В. Простой и специфический метод определения активности глутатионпероксидазы в эритроцитах // Лаб. дело. — 1986. — № 12. — С. 724–726.
10. Осипов А.Н., Азизова О.А., Владимиров Ю.А. Активные формы кислорода и их роль в организме // Усп. биол. химии. — М.: Наука, 1990. — Т. 31. — С. 180–208.
11. Соколів В.В. Вплив хлоридів кобальту і ртуті на перекисне окислення ліпідів, систему тіолів та активність глутатионзалежних антиоксидантних ферментів: Автореф. дис. ... канд. біол. наук. — Харків, 2004. — 19 с.
12. Столяр О.Б., Зінковська Н.Г., Грубінько В.В. та ін. Вплив йонів міді і цинку на перекисне окиснення ліпідів і антиоксидантний статус в організмі коропа // Біологія тварин. — 1999. — Т. 1, № 2. — С. 84–89.
13. Тимочко М.Ф., Єлисеєва О.П., Кобилянська Л.І. та ін. Метаболічні аспекти формування кисневого гомеостазу в екстремальних станах. — Львів: Місіонер, 1998. — 142 с.

14. *Rodriguez-Ariza A., Peinado J., Pueyo C., Lopes-Barea J.* Biochemical indicators of oxidative stress in fish from polluted littoral areas // *Can J. Fish Aquat. Sci.* — 1993. — Vol. 50. — P. 2568–2573.
15. *Regoli F., Gorbi S., Frenzilli G. et al.* Oxidative stress in ecotoxicology: from the nanalysis of individual antioxidants to a more integrated approach // *Mar Environ Res.* — 2002. — Vol. 54, № 3–5. — P. 419–423.
16. *Radi A.A.R., Matkovics B.* Effects of metal ions on the antioxidant enzyme activities, portents and lipid peroxidation of carp tissues // *Comp. Biochem. Physiol.* — 1988. — 90 C, № 1. — P. 69–72.

### **ВЛИЯНИЕ МИКРОДОБАВОК КОБАЛЬТА И ЦИНКА НА СОСТОЯНИЕ СИСТЕМЫ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ И ПРОЦЕССЫ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ В ТКАНЯХ КАРПОВ**

*С.И. Крась, И.И. Грициняк, М.В. Крась*

Доказано, что при действии ионов кобальта в организме карпа возрастает активность СОД, КАТ, а содержание ТБК-активных продуктов понижается. Таким образом, под действием микродобавок кобальта посредством иных молекулярных систем возрастает антиоксидантный статус тканей, а при воздействии микродобавок цинка — понижается.

### **THE INFLUENCE MICROADDING COBALTUM AND ZINCUM ON CONDITION OF SYSTEM OF ANTIOXIDANT DEFENCE AND A PROCESSES OF LIPID PEROXIDATION IN THE CARP TISSUES**

*S. Kras, I. Hrytsyniac, M. Kras*

It is demonstrated cobaltum and zincum influence on activation SOD and CAT and the inactivation contents TBA-active products at the carp. We have the conclusions bat cobaltum microadding stimulated the system of antioxidant deffence, but the zincum influence inactivated this system.

УДК 628.394.17:546

## **ВМІСТ ТА РОЗПОДІЛ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ В ОРГАНАХ І ТКАНИНАХ ПРОМИСЛОВИХ ВИДІВ РИБ КИЇВСЬКОГО ВОДОСХОВИЩА**

**А.П. Мельник, С.В. Курганський, Н.М. Власова, Н.Г. Михайленко**

Інститут рибного господарства УААН, м. Київ

*Розподіл важких металів в органах і тканинах промислових видів риб Київського водосховища, характеризується неоднорідністю і залежить від їх фізико-хімічних властивостей та функціональних особливостей органів і тканин риб. У найбільшій кількості мідь, залізо і цинк накопичуються в печінці, марганець та кобальт — у зябрах. Токсичні метали (свинець, кадмії) більшою мірою концентруються в зябрах та шкірі.*

У сучасних умовах р. Дніпро та його водосховища зазнають інтенсивного антропогенного впливу, особливо після аварії на Чорнобильській АЕС. Інтерес до вмісту важких металів у рибах басейну Дніпра різко зріс порівняно недавно і пов'язаний із збільшенням антропогенного навантаження на водні екосистеми цього регіону, що порушує природний кругообіг хімічних елементів [1, 2].

Важкі метали є невід'ємною складовою частиною організмів риб, оскільки багато сполук цих елементів входять до складу ферментів, вітамінів, гормонів. Без їх участі неможливі дихання, утворення крові, білковий, вуглеводний і жировий обміни. Небезпека зміни фонового вмісту металів пояснюється тим, що індивідуальна потреба гідробіонтів у цих елементах дуже мала, а надходження із зовнішнього середовища їх надмірних кількостей при-