

Aphanocapsa planctonica and *Phormidium autumnale* f. *uncinata* occur anaerobically under these conditions.

Keywords: temperature, Chlorophyta, Cyanoprokaryota, chlorophyll a, succinate dehydrogenase, cytochrome oxidase

Рекомендує до друку

Надійшла 20.01.2016

О. Б. Столяр

УДК 597.551.2+597.552.1:577.152.2:546.723

О. О. РАБЧЕНЮК, В. Я. БИЯК, В. О. ХОМЕНЧУК, В. З. КУРАНТ

Тернопільський національний педагогічний університет імені Володимира Гнатюка
вул. М. Кривоноса, 2, Тернопіль, 46027

АКТИВНІСТЬ ТРАНСАМІНАЗ В ОРГАНІЗМІ ПРІСНОВОДНИХ РИБ ЗА ДІЇ ЙОНІВ ЗАЛІЗА

Стаття присвячена вивченню біологічних закономірностей адаптації риб до дії металів. Досліджено вплив підвищених концентрацій (2 і 5 ГДК) йонів заліза у водному середовищі на активність трансаміназ (аланінамінотрансфераза і аспартатамінотрансфераза) в печінці та сироватці крові коропа *Cyprinus carpio* L. і щуки *Esox Lucius* L.

Показано, що підвищені концентрації йонів заліза в значній мірі модулюють функціональну активність амінотрансфераз в тканинах досліджуваних видів риб. Високий рівень досліджуваного металу у воді призводить до порушення процесів переамінування в організмі риб.

Ключові слова: трансамінази, прісноводні риби, печінка, сироватка крові, йони заліза

У процесах метаболізму амінокислот важливу роль відіграють амінотрансферази, ферменти, які беруть участь у процесах біосинтезу і розпаду амінокислот, об'єднанні шляхів вуглеводного, ліпідного та білкового обміну, а також синтезі деяких специфічних сполук, зокрема таких як сечовина та γ -аміномасляна кислота [3].

На певній стадії метаболізму в більшості амінокислот α -аміногрупа відщеплюється в результаті ферментативної реакції переамінування (трансамінування). При цьому α -аміногрупа переноситься до α -вуглецевого атома однієї із трьох кетокислот – пірвіноградної, α -кетоглутарової або щавелевооцтової, в результаті чого утворюється α -кетокислота вихідної амінокислоти, а α -кетокислота перетворюється у відповідну амінокислоту [10].

Реакції переамінування (трансамінування) каталізуються трансаміназами, вони легко оборотні, а їх константи рівноваги близькі до одиниці. Трансамінази широко розповсюджені в тканинах тварин, володіють високою резистентністю до фізичних, хімічних і біологічних впливів, мають високу каталітичну активність. Найбільш активними трансаміназами у людини і тварин, у тому числі й у гідробіонтів, є аланінамінотрансфераза (АлАТ) та аспартатамінотрансфераза (АсАТ). Добре вивчені зазначені ферменти у різних класів хребетних, включно і у риб [6].

Встановлено, що найвищу активність АлАТ і АсАТ проявляють за певної температури і оптимальних значень рН [15]. Оптимум рН для АлАТ і АсАТ зрілих яйцеклітин білого амура лежить в межах 7,5-7,6, а оваріальної рідини від 8,5 до 9,1 [5]. Для АсАТ м'язів та АлАТ печінки коропа оптимальне значення рН =7,5, а для АсАТ печінки виявлено два максимуми активності при рН=6,5 та 8,5 [15]. Окрім температури та величини рН на активність амінотрансфераз впливають деякі низькомолекулярні компоненти, зокрема піридоксаль-5-фосфат – кофермент амінотрансфераз [6]. Регулювати активність амінотрансфераз в яйцеклітинах і зародках риб можна шляхом додавання в інкубаційне середовище деяких

низько- та високомолекулярних сполук. Так, активність АлАТ в незапліднених яйцеклітинах в'юна, витриманих протягом двох годин у водному середовищі, яке містило аспарагінову кислоту, зростає в 4 рази, а активність АсАТ за впливу глютамінової кислоти зменшується на 35% [8]. Активність першого ферменту зростає і в результаті додавання у водне середовище щавелевооцтової кислоти [6].

Експериментальні дані свідчать про значну роль реакцій переамінування в процесах забезпечення толерантності організму гідробіонтів до токсикантів [11]. Відмічено важливе значення трансаміназ в адаптивному перерозподілі азотистих резервів організму [14]. На основі відомих даних про зростання в тканинах гідробіонтів вмісту одних амінокислот та зменшення рівня інших за дії аміаку [1] та йонів важких металів [7] можна припустити, що роль трансаміназ полягає не стільки в прямій детоксикації ксенобіотиків, скільки у адаптивному перерозподілі білкових та амінокислотних резервів організму, пов'язаних як безпосередньо із детоксикацією, так і її енергетичним забезпеченням.

Виходячи із сказаного, метою нашого дослідження стало вивчення впливу йонів заліза (Fe^{3+}) на активність аланін- та аспартатамінотрансфераз в організмі двох видів прісноводних риб – коропа (*Cyprinus carpio L.*) та щуки (*Esox Lucius L.*).

Матеріал і методи досліджень

Досліди проводили на коропах та щуках дворічного віку масою 300-350 г. Для дослідження риб відбирали з водойм безпосередньо перед експериментом шляхом тралового відлову. Після цього їх транспортували в лабораторію де вони утримувалися в акваріумах об'ємом 200 л по п'ять особин. Йони заліза вносили у воду акваріумів, де були дослідні групи риб у вигляді солі $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ до досягнення концентрації йонів металу, що відповідали 2 та 5 рибогосподарським ГДК (відповідно 0,2 та 0,5 мг/дм³). Акламацію риб здійснювали протягом 14 діб. Воду в акваріумах змінювали щодоводово. Під час досліду риб не годували.

Активність аланін- та аспартатамінотрансферази (КФ 2.6.1.2 і 2.6.1.1) визначали за методом Пасхіної Т.С. [12]. Інкубаційна суміш містила: 0,01 М калій-фосфатний буфер (рН=7,4); 200 мМ DL-аланіну або DL-аспартату; 0,2 мМ 2-оксоглутарату. Гідразони кетокислоти, що утворилися після інкубації реакційної суміші з розчином 2,4-динітрофенілгідразину, екстрагували водонасиченим толуолом і фотометрували при 420 нм. Активність ферменту виражали в ммоль пірвіноградної кислоти / мл-год. Отримані дані опрацьовано статистично [9].

Результати досліджень та їх обговорення

Отримані нами дані свідчать про те, що підвищені концентрації йонів заліза у воді впливають на активність амінотрансфераз в тканинах досліджених видів риб. Так, зокрема, в організмі коропа (табл. 1) активність аланінамінотрансферази в печінці знижується за дії металу в концентрації 2 ГДК на 3,5 %, в той час як за дії металу в кількості 5 ГДК вона зростає на 20,3%. Активність аланінамінотрасферази в сироватці крові значно нижча ніж у печінці. При цьому під впливом йонів заліза в кількості 2 ГДК її активність знижується на 17,0 % і зростає на 73,5 % за дії металу в концентрації 5 ГДК.

Таблиця 1

Активність трансаміназ в тканинах коропа за дії йонів заліза (мкмоль ПВК/мл-год), $M \pm m$, n=5

Серії дослідів	АлАТ	АсАТ
Печінка		
Контроль	10,28±0,32	3,39±0,27
2 ГДК	9,90±0,66	4,97±0,32
5 ГДК	12,34±0,18*	5,14±0,11*
Сироватка крові		
Контроль	0,53±0,07	1,79±0,25
2 ГДК	0,44±0,13	1,51±0,49
5 ГДК	0,92±0,08*	0,99±0,17*

Примітка. * - зміни порівняно з контролем вірогідні (P<0,05)

Посилення в тканинах коропа активності аланінамінотрансферази за дії високої концентрації металу (5 ГДК), очевидно, пов'язане з активацією системи детоксикації аміаку, яка полягає у синтезі аланіну і спрямована на підтримання кислотно-лужного гомеостазу шляхом зв'язування аміаку піруватом. В літературі є дані про зміщення рівноваги реакції в бік утворення аланіну за інтоксикації, а відтак його накопичення в організмі [2].

При дослідженні активності аспартатамінотрансферази в тканинах коропа (табл. 1) було показано, що активність цього ферменту в печінці зростає за дії обох досліджених концентрацій заліза. При 2 ГДК металу у воді цей показник зростає на 46,6 %, а при 5 ГДК – на 51,6 %, що свідчить про активну участь цього ферменту в процесах детоксикації. Авторами [15] в печінці коропа було виявлено два максимуми активності аспартатамінотрансферази при рН 6,5 і 8,5, що вказує на те, що досліджуваний фермент печінки складається із цитоплазматичної та мітохондріальної форм. Таке явище, очевидно, є результатом адаптації риб до дії йонів важких металів, до яких належать і йони заліза, та спрямоване на підтримання процесів переамінування в печінці риб в більш широких межах рН.

Динаміка зміни активності аспартатамінотрансферази в сироватці крові при дії досліджуваного металу протилежна до динаміки змін її активності в печінці риб. Вона знижується на 15,6 % при 2 ГДК заліза та на 44,7 % при 5 ГДК. Отже, зміна активності трансаміназ в сироватці крові коропа за дії йонів заліза є пристосуванням ферментного апарату клітин крові до різних умов існування.

При дослідженні трансаміназ в тканинах щуки нами також виявлені певні зміни їх активності за дії йонів заліза (табл. 2). Так, активність аланінамінотрансферази в печінці риб дещо знижується при обох значеннях досліджених ГДК. При 2 ГДК металу у воді на 20,8 %, а при 5 ГДК – на 21,7 %. В крові ж щуки, навпаки, активність цього ферменту зростає на 37,1 % при 2 ГДК та на 19,6 % при 5 ГДК заліза у воді. Підвищення активності аланінамінотрансферази в сироватці крові риб, можливо, пов'язане з участю цього ферменту у процесах детоксикації аміаку, який утворюється в організмі риб за умов токсикозу, викликаного йонами важких металів. Принцип дії полягає у зв'язуванні аміаку в місцях його утворення в нетоксичний глутамін (глутамінсинтезна реакція), транспорт його з током крові до зябер з наступним розщепленням глутаміназою і виведенням аміаку в зовнішнє середовище [1].

Таблиця 2

Активність трансаміназ в тканинах щуки за дії йонів заліза (мкмоль ПВК/мл·год), $M \pm m$, $n=5$

Серії дослідів	АлАТ	АсАТ
Печінка		
Контроль	10,22±0,34	7,43±0,59
2 ГДК	8,09±0,74	7,89±0,34
5 ГДК	8,00±0,10*	6,97±0,27
Сироватка крові		
Контроль	1,94±0,12	2,26±0,32
2 ГДК	2,66±0,17*	3,92±0,16*
5 ГДК	2,32±0,17	2,72±0,55

Примітка. * - зміни порівняно з контролем вірогідні ($P < 0,05$)

При вивченні активності аспартатамінотрансферази нами виявлено незначні відхилення від контролю цього показника в печінці щуки. Він збільшувався на 6,2 % при 2 ГДК заліза у воді і зменшувався на 6,2 % при 5 ГДК металу. При цьому в крові даного виду риб зміни активності аспартатамінотрансферази були більш значними. Так, при 2 ГДК цей показник зростав на 73,4 %, а при 5 ГДК – на 20,3 %.

Активация аспартатамінотрансферази є основною ланкою малат-аспартатного човникового шляху, який посилює своє функціонування при стимуляції фізіологічних функцій організму [10]. Аспартатамінотрансфераза, шунтуючи цикл Кребса, веде до того, що активно окиснюється не лимонна, а бурштинова кислота. Таким чином, головною функцією швидкого шляху генерації енергії є прискорене утворення і окиснення бурштинової кислоти, що дає

організму можливість одержати швидше більше молекул АТФ, ніж при окисненні інших інтермедіатів циклу трикарбонових кислот [4].

Згідно отриманих даних слід вважати, що реакція систем переамінування за дії йонів важких металів [7] та заліза зокрема має тканинну та видову специфіку і залежить від концентрації металу у водному середовищі. Адаптація організму риб до дії токсиканта полягає у мобілізації пулу інтермедіатів та перебудові обміну речовин у напрямку протидії на вплив зовнішнього стрес-фактору. Роль трансаміназ у цьому процесі полягає у перерозподілі амінокислотних резервів з метою використання одних для детоксикації аміаку (глутамат, аспартат, аланін), інших – в енергетичних цілях у зв'язку із зростанням енерговитрат організму на процеси адаптації [13].

Загалом, реакція системи переамінування в тканинах досліджених прісноводних риб за дії високих концентрацій йонів заліза свідчить про перебудову амінокислотного та білкового метаболізму з метою забезпечення енергетичної та пластичної адаптації до стрес-дії токсиканта.

Висновки

Утримання прісноводних риб (короп та щука) протягом 14-ти діб у воді з підвищеним вмістом йонів заліза (2 та 5 ГДК) призводить до дозозалежного та тканинноспецифічного впливу на активність аланін- і аспартатамінотрансфераз.

1. Грубінко В. В. Адаптивні реакції риб до дії аміаку водного середовища: автореф. дис... докт. біол. наук: 03.00.18 / 03.00.04 / В. В. Грубінко. — К., 1995. — 44 с.
2. Грубінко В. В. Динаміка амінокислот і амідів у прісноводних риб при дії амонію / В. В. Грубінко, О. М. Арсан // Доповіді НАН України. — 1991. — Сер. Б, № 3. — С. 142—145.
3. Диксон М. Ферменти / М. Диксон, Э. Уэбб. — М.: Мир, 1982. — Т. 1. — 390 с.
4. Кондрашова М. Н. Взаимодействие процессов переаминирования и окисления карбоновых кислот при различных функциональных состояниях ткани / М. Н. Кондрашова // Биохимия. — 1991. — Т. 56, Вып. 3. — С. 388—405.
5. Коновалов Ю. Д. Аланин- и аспартатаминотрансферазная активность в яйцеклетках, овариальной и перивителлиновой жидкостях белого амура / Ю. Д. Коновалов // Укр. биохим. журн. — 1979. — Т. 51, № 6. — С. 592—595.
6. Коновалов Ю. Д. Свойства, локализация, роль и возможные пути регуляции активности протеиназ и аминотрансфераз в раннем онтогенезе рыб / Ю. Д. Коновалов // Усп. совр. биол. — 1986. — Т. 101, Вып. 3. — С. 359—373.
7. Курант В. З. Роль білкового обміну в адаптації риб до дії йонів важких металів: автореф. дис... докт. біол. наук: 03.00.10 / В. З. Курант. — К., 2003. — 38 с.
8. Кусень С. Й. Вплив амінокислот, гормонів і актиноміцину Д на активність амінотрансфераз у незаплідненій ікрі в'юна (*Misgurnus fossilis*) / С. Й. Кусень, И. С. Пашковська // Укр. биохим. журн. — 1973. — Т. 45, № 5. — С. 565—570.
9. Лакин Г. Ф. Биометрия / Г. Ф. Лакин. — М.: Высшая школа, 1990. — 352 с.
10. Ленинджер А. Основы биохимии: В 3-х т. Т 1. Пер. с англ. / А. Ленинджер. — М.: Мир, 1985. — 365 с.
11. Лукьяненко В. И. Общая ихтиотоксикология / В. И. Лукьяненко. — М.: Легкая и пищевая пром-сть, 1983. — 320 с.
12. Пасхина Т. С. Инструкция по определению глутамикоаспарагиновой и глутамикоаланиновой трансаміназ (аминотрансфераз) в сыворотке крови человека / Т. С. Пасхина. — М.: Здоровье, 1974. — 22 с.
13. Сидоров В. С. Аминокислоты рыб / В. С. Сидоров // Биохимия молодежи пресноводных рыб. — Петрозаводск, 1985. — С. 103—137.
14. Хочачка П. Биохимическая адаптация / П. Хочачка, Дж. Сомеро. — М.: Мир, 1988. — 568 с.
15. Яковенко Б. В. Влияние температуры и рН среды на активность некоторых аминотрансфераз в тканях карпа / Б. В. Яковенко, В. З. Курант, А. Ф. Явоненко // Гидробиол. журн. — 1981. — Т. 17, № 2. — С. 69—72.

Е. А. Рабченко, В. Я. Бияк, В. А. Хоменчук, В. З. Курант

Тернопольский национальный педагогический университет имени Владимира Гнатюка

АКТИВНОСТЬ ТРАНСАМИНАЗ В ОРГАНИЗМЕ ПРЭСНОВОДНЫХ РЫБ ПРИ ДЕЙСТВИИ ИОНОВ ЖЕЛЕЗА

Статья посвящена изучению биохимических закономерностей адаптации рыб к воздействию металлов. Исследовано влияние повышенных концентраций (2 и 5 ПДК) ионов железа в водной среде на активность трансаминаз (аланинаминотрансфераза и аспартатаминотрансфераза) в печени и сыворотке крови карпа *Cyprinus carpio* L. и щуки *Esox Lucius* L.

Показано, что повышенные концентрации ионов железа в значительной степени модулируют функциональную активность аминотрансфераз в тканях исследуемых видов рыб. Высокий уровень исследуемого металла в воде приводит к нарушению процессов переаминирования в организме рыб.

Ключевые слова: трансаминазы, пресноводные рыбы, печень, сыворотка крови, ионы железа

O. O. Rabchenyuk, V. Y. Byyak, V. O. Khomenchuk, V. Z. Kurant

Volodymyr Hnatiuk Ternopil National Pedagogical University, Ukraine

ACTIVITY OF TRANSAMINASES IN THE ORGANISM OF FRESHWATER FISHES UNDER THE INFLUENCE OF IRON IONS

The influence of high concentrations (2 and 5 MPC) of iron ions in the water environment on the activity of transaminases (alaninaminotransferase and aspartataminotransferase) in the liver and blood serum of the carp *Cyprinus carpio* L. and the pike *Esox lucius* L. has been investigated in the article.

It has been demonstrated that one of the important factors, that determines metabolic patterns in the organism of hydrobionts under the influence of heavy metals (iron), is the level of the functional ferment activity of protein metabolism (transaminases).

The high level of investigated metal in water leads to changes of the content of amino acids in fish tissues and also to the violation of their metabolism. The results demonstrate, that the activity of ferments (alanin- and aspartataminotransferases) under the influence of experimental concentrations (2 and 5 MPC) of iron has been changed.

The article is devoted to the research of biochemical regularity of the transaminase activity and the role of protein metabolism in the adaptation of fishes to the toxic influence of heavy metals.

Keywords: transaminases, fishes, liver, blood serum, iron ions

Рекомендує до друку

В. В. Грубінко

Надійшла 12.01.2016