

metabolism and antioxidant protection, which provided an adequate physiological and biochemical state of algae cells under their action.

Therefore, the selected concentrations of the investigated microelements, despite their toxic nature, make it possible to preserve the photochemical viability and metabolic activity of chlorella without causing the death of algal cells. The received effect is considered as a potential opportunity for the development of technologies for the production of biologically active preparations from culture *Ch. vulgaris*, enriched with selenium and chromium.

*Key words: algae, Se (IY), Cr (III), pigments, energy enzymes, antioxidant system*

Рекомендує до друку

Надійшла 13.03.2018

В. В. Грубінко

УДК (597.552.1+ 597.554.3):611.018.54:577.128:546.723

О. О. РАБЧЕНЮК

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

## **ВПЛИВ ПІДВИЩЕНИХ КОНЦЕНТРАЦІЙ ЙОНІВ Fe<sup>3+</sup> У ВОДІ НА ВМІСТ ЗАЛІЗА ТА ТРАНСФЕРИНУ У ПЛАЗМІ КРОВІ РИБ**

Досліджено вміст заліза, загального білка та концентрацію трансферину у плазмі крові коропа (*Cyprinus carpio* L.) і щуки (*Esox lucius* L.) за дії 2 та 5 гранично допустимих рибогосподарських концентрацій (ГДК) йонів Fe<sup>3+</sup> у воді. Встановлено, що підвищений вміст йонів феруму у воді призводить до зростання кількості металу у плазмі обох видів риб та збільшення показника насичення трансферину залізом. Дані показники можуть бути використані для оцінки забруднення водного середовища йонами Fe<sup>3+</sup>.

*Ключові слова: короп, щука, кров, плазма, залізо, трансферин*

Підвищення концентрації металів у водному середовищі призводить до надмірного їх акумулювання в організмі гідробіонтів, включно риб. Зростання концентрації металів у функціонально важливих органах і тканинах (у тому числі в крові) змінює процеси синтезу макромолекул, функціонування ферментативних систем та співвідношення метаболітів у всьому організмі [1, 7].

Ферум є необхідним елементом для нормальної життєдіяльності риб [6, 10]. Недостатність цього металу може бути лімітуючим чинником розвитку організму. Цей хімічний елемент, який міститься в організмі риб, поділяють на дві групи: геміновий та негеміновий. Перша група включає ферум хромопротеїдів (дихальні білки – гемоглобін, хлорокруарин, гелікорубін, білок м'язів – міоглобін), а також дихальних ферментів (цитохроми, цитохромоксидази, пероксидази, каталази). До другої групи входить ферум низки речовин, які не містять гемоферумпорфіринового комплексу (геморетрин) [5].

В процесі еволюції природа не розвинула ефективних механізмів виведення заліза з організму еукаріотів, тому оптимальна концентрація металу може підтримуватися лише за рахунок обмеження його поглинання [9].

Серед білків, що безпосередньо пов'язані із регуляцією вмісту феруму в організмі тварин, у тому числі риб, слід виділити трансферин. Трансферин, виявлений у широкому колі організмів, він зустрічається в різних генетично залежних формах, які подібні за своїми фізико-хімічними властивостями та мають молекулярну масу близько 70-80 кДа [6]. Трансферин – це складний білок (глікопротеїд) плазми крові, який відноситься до β-глобулінів і має здатність зв'язувати і переносити йони трьохвалентного заліза. Основною функцією трансферину плазми

крові є транспорт заліза у ретикулоцити, де відбувається синтез гемоглобіну, а також підтримання на певному рівні співвідношення іонів  $Fe^{2+}$  та  $Fe^{3+}$ . Разом з тим, трансферин тісно пов'язаний з імунною системою риб і бере участь у неспецифічних гуморальних механізмах захисту від бактеріальних інфекцій [12]. Окрім того, трансферин може брати участь у зв'язуванні кадмію у плазмі крові коропа [8].

Хоча менше 1% заліза в організмі риб зв'язано з трансферином – це найбільш лабільна форма феруму в організмі тварин [9]. Тому значний інтерес представляє вивчення особливостей зв'язування заліза трансферином плазми крові риб за умов підвищених концентрацій іонів  $Fe^{3+}$  у воді.

### Матеріал і методи досліджень

Дослідження проведено на дворічках коропа (*Cyprinus carpio L.*) і щуки (*Esox lucius L.*) з середньою масою 300-350 г. Дослідних риб виловлювали із ставків Тернопільського рибкомбінату, урочище Залісці. Для експериментального утримування риб використовували відстояну водопровідну воду. Вміст кисню в воді акваріумів підтримували на рівні 7,0 – 8,0 мг/л; рН 7,7- 7,9. Перед дослідом риб аклімували 3 доби в басейнах об'ємом 2 м<sup>3</sup>. В експериментах риб утримували в лабораторних акваріумах об'ємом 200 л з розрахунку 40 л на одну особину. З метою запобігання хронічного впливу на риб їх власних екзотметаболітів воду в акваріумах змінювали щодобово. Вивчали вплив іонів  $Fe^{3+}$  на риб в концентраціях 0,2 і 0,5 мг/дм<sup>3</sup>, що відповідали 2 та 5 рибогосподарським ГДК [2]. Необхідні концентрації іонів металу у воді створювали внесенням солі  $FeCl_3 \cdot 6H_2O$  кваліфікації “х.ч.”. Риб під час аклімації не годували. Період утримування риб в експериментальних умовах становив 14 діб.

Для дослідження відбирали із серця риб кров, додавали гепарин та центрифугували. В отриманій плазмі крові риб досліджували вміст заліза, загального білка, концентрацію трансферину. Контролем служили величини досліджуваних показників тканин риб, які перебували у воді акваріумів без додавання іонів  $Fe^{3+}$ . Вміст заліза в плазмі визначали методом атомно-абсорбційної спектроскопії. Кількість загального білка визначали за методом Лоурі та співавт. [11]. Вміст трансферину визначали турбідиметричним методом з використанням набору “Трансферин-турбі” для досліджень *in vitro*. Анти-трансферині антитіла при змішуванні зі зразками, що містять трансферин, утворюють нерозчинні комплекси. Ці комплекси викликають зміну абсорбції, залежно від концентрації трансферину у зразку, що можна кількісно порівняти з калібратором трансферину. Насичення трансферину залізом розраховували як відношення концентрації заліза плазми до загальної залізовв'язуючої здатності трансферину і виражали у відсотках.

Всі одержані експериментальні дані опрцювали статистично з використанням пакету “Microsoft Excel”.

### Результати досліджень та їх обговорення

Зміни вмісту білків у плазмі крові можуть слугувати індикатором патологічних процесів в організмі риб [4]. Аналіз одержаних результатів показав, що вміст загального білка у плазмі крові достовірно зростає в 1,2 рази лише за дії максимальної концентрації іонів  $Fe^{3+}$  у коропа (рис. 1).

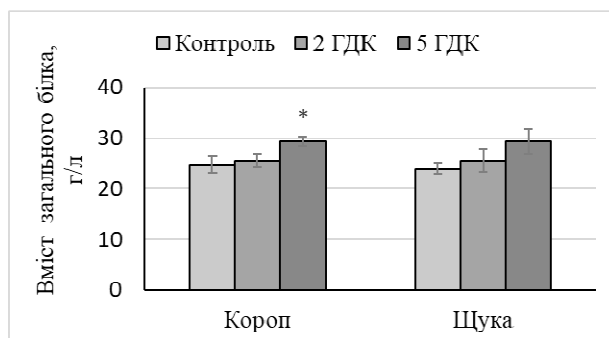


Рис. 1. Вміст загального білка в плазмі крові коропа та щуки за дії підвищених концентрацій іонів  $Fe^{3+}$  у воді ( $M \pm m$ ,  $n=5$ )

Примітка. \* зміни порівняно з контролем вірогідні ( $p < 0,05$ ).

Очевидно, високі концентрації йонів феруму (III) обумовлюють посилений розпад білків тканин коропа, що в свою чергу сприяє зростанню їх кількості у крові риб.

Вміст заліза в плазмі крові коропа зростав за дії 2 та 5 ГДК йонів  $Fe^{3+}$  у 1,3 і в 1,2 рази відповідно (рис. 2;  $p < 0,05$ ). Одночасно із зростанням кількості заліза в плазмі крові коропа мало місце пропорційне до концентрації йонів феруму (III) у воді збільшення вмісту трансферину – у 1,05 та 1,08 рази за дії 2 та 5 ГДК йонів  $Fe^{3+}$  у воді відповідно (рис. 3). При цьому максимальний показник насичення трансферину залізом у коропа був відмічений за впливу 2 ГДК йонів  $Fe^{3+}$  - 43,5 % проти 35,1 % контрольного значення (рис. 4).

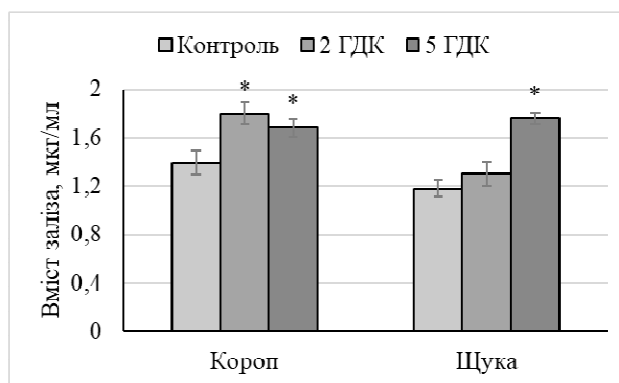


Рис. 2. Концентрація загального заліза в плазмі крові коропа та щуки за дії підвищених концентрацій йонів  $Fe^{3+}$  у воді ( $M \pm m$ ,  $n=5$ )

Примітка. \* зміни порівняно з контролем вірогідні ( $p < 0,05$ ).

Кількісні характеристики зв'язування заліза трансферином крові щуки за впливу підвищених концентрацій йонів феруму (III) у воді були відмінними від коропа (див. рис. 2-4). Відмічено максимальне акумулювання заліза плазмою крові щуки (1,76 мг/л проти 1,18 мг/л в контролі) за дії 0,5 мг/л йонів  $Fe^{3+}$ . Разом з тим у плазмі крові щуки мало місце зменшення кількості трансферину в 1,13 та 1,15 рази за дії 2 та 5 ГДК йонів феруму (III). Зростання кількості заліза в організмі тварин та порушення функціональної активності печінки, як правило, призводить до зниження синтезу трансферину і навпаки – залізодефіцитні стани призводять до зростання вмісту даного металопротеїду [3].

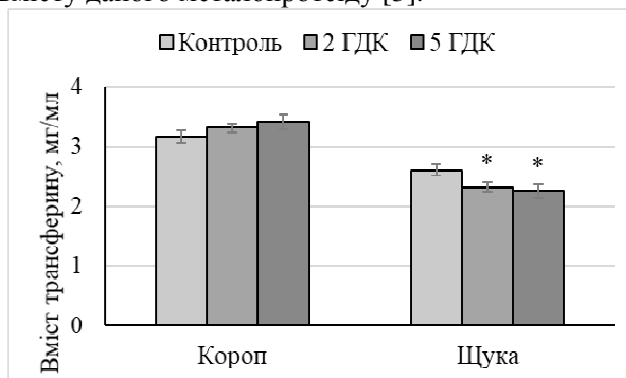


Рис. 3. Концентрація трансферину в плазмі крові риб за дії підвищених концентрацій йонів  $Fe^{3+}$  у воді ( $M \pm m$ ,  $n=5$ )

Примітка. \* зміни порівняно з контролем вірогідні ( $p < 0,05$ ).

Пропорційно концентрації йонів  $Fe^{3+}$  у воді зростає і показник насичення трансферину залізом. Так, у плазмі крові риб контрольної групи він становить 36,2 %, а у риб за дії 2 та 5 ГДК йонів металу – 44,8 і 62,4 % відповідно.

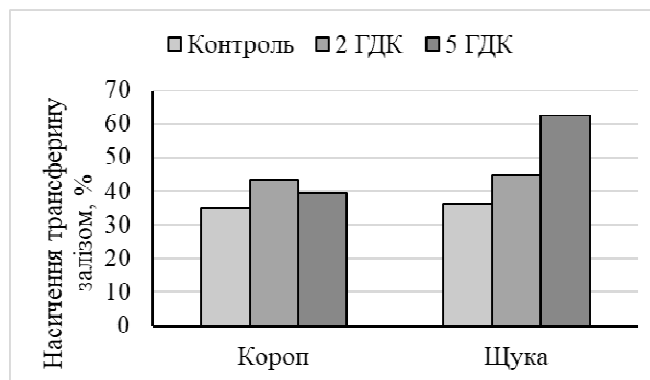


Рис. 4. Насичення залізом трансферину в плазмі крові риби за дії підвищених концентрацій іонів  $Fe^{3+}$  у воді ( $M \pm m$ ,  $n=5$ )

Надлишок заліза, що супроводжується зростанням показника насичення залізом трансферину може свідчити про токсичну дію іонів металу та призводити до паталогії печінки, адже відомо, що для риби відсоток насичення трансферину залізом є нижчим, ніж для ссавців [6].

### Висновки

Отже, підвищений вміст іонів феруму (III) у воді призводить до зростання кількості металу в плазмі крові обох видів риби та збільшення показника насичення трансферину залізом (особливо у щуки). Дані показники можуть бути використані як біомаркери для оцінки забруднення водного середовища йонами  $Fe^{3+}$ .

1. Мур Дж. Тяжелые металлы в природных водах / Дж. Мур, С. Рамамурти. — М.: Мир, 1987. — 265 с.
2. Обобщенный перечень предельно-допустимых концентраций (ПДК) и ориентировочно-безопасных уровней воздействия вредных веществ (ОБУВ) для воды рыбохозяйственных водоемов / Минрыбхоз СССР. — М., 1990. — 44 с.
3. Пудовкин Н.А. Свободнорадикальные процессы в организме разных видов животных и пути их коррекции железом — и селеносодержащими препаратами: дис. ... док. биол. наук : 03.03.01; 06.02.03 / Николай Александрович Пудовкин; Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана» — Казань, 2015. — 291 с.
4. Серпунин Г.Г. Ихтиогематологические исследования как элемент биологического мониторинга водоемов // Наземные и водные экосистемы Северной Европы: управление и охрана. Мат-лы междунар. конф., посвящ. 50-летию ин-та Карел. науч. центра РАН. 8-11 сентября 2003, Петрозаводск. — Петрозаводск: Ин-т биол. КарелНЦ РАН, 2003. — С. 130—131.
5. Aisen P. Chemistry and biology of eukaryotic iron metabolism / Aisen P., Enns C., Wessling-Resnick M. // Int. J. Biochem. Cell Biol. — 2001. — Vol. 33. — P. 940—959.
6. Carriquiriborde P. Physiological modulation of iron metabolism in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed low and high iron diets / P. Carriquiriborde, R. D. Handy, S. J. Davies // J. Exp. Biol. — 2004. — Vol. 207. — P. 75—86.
7. Chapman P.M. Issues in ecological risk assessment of inorganic metals and metalloids / P.M. Chapman, F. Wang // Hum. Ecol. Risk Assess. — 2000. — Vol. 6. — P. 965—988.
8. De Smet H. Cadmium-binding to transferrin in the plasma of the common carp *Cyprinus carpio* / De Smet H., Blust R., Moens L. // Comp. Biochem. Physiol. C: Toxicol Pharmacol. — 2001. — Vol. 128. — P. 45—53.
9. Edison E.S. Iron homeostasis: new players, newer insights / Eunice S. Edison, Ashish Bajel, Mammen Chandy // European Journal of Haematology — 2008. — Vol. 81 — P. 411—424.
10. Homeostasis and Toxicology of Essential Metals / Wood C. M., Farrel A. P., Brauner C. J., Eds.; Academic Press: London, 2012. — 497 p.
11. Protein measurement with the Folin phenol reagent / J. O. H. Lowry, N. J. Rosenbrough, A. L. Farr [et al.] // J. Biol. Chem. — 1951. — Vol. 193, № 1. — P. 265—75.
12. Stafford J.L. Transferrin and the innate immune response of fish: identification of a novel mechanism of macrophage activation / J.L. Stafford, M. Belosevic // Dev. Comp. Immunol. — 2003. — Vol. 27. — P. 539—554.

*Е. А. Рабченко*

Тернопольский национальный педагогический университет имени Владимира Гнатюка

**ВЛИЯНИЕ ПОВЫШЕННЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ ИОНОВ  $Fe^{3+}$  В ВОДЕ НА СОДЕРЖАНИЕ ЖЕЛЕЗА И ТРАНСФЕРРИНА В ПЛАЗМЕ КРОВИ РЫБ**

Исследовано содержание железа, общего белка и концентрацию трансферрина в плазме крови карпа (*Cyprinus carpio* L.) и щуки (*Esox lucius* L.) при действии 2 и 5 предельно допустимых рыбохозяйственных концентрации ионов  $Fe^{3+}$  в воде. Установлено, что повышенное содержание ионов железа в воде приводит к росту количества металла в плазме обоих видов рыб и увеличение показателя насыщения трансферрина железом. Данные показатели могут быть использованы для оценки загрязнения водной среды ионами  $Fe^{3+}$ .

*Ключевые слова:* карп, щука, кровь, плазма, железо, трансферрин

*О. О. Rabchenyuk*

Ternopil Volodymir Hnatiuk National Pedagogical University, Ukraine

**INFLUENCE OF ELEVATED CONCENTRATIONS OF  $Fe^{3+}$  IONS IN WATER ON THE CONTENT OF IRON AND TRANSFERRIN IN BLOOD PLASMA OF FISH**

The content of iron, total protein and concentration of transferrin in the blood plasma of carp (*Cyprinus carpio* L.) and pike (*Esox lucius* L.) in the action of 0.2 and 0.5 mg/dm<sup>3</sup> ions of  $Fe^{3+}$  in water corresponding to 2 and 5 fisheries maximum permissible concentrations (MPC). It has been established that the content of total protein in blood plasma is significantly increased only with the action of 5 MPC concentration of  $Fe^{3+}$  ions in carp. It was noted that the content of iron and transferrin in the blood plasma of carp increased following the effects of both investigated concentrations of  $Fe^{3+}$  ions. The maximum index of saturation of transferrin by iron in carp was noted for the effect of 2 MPC of  $Fe^{3+}$  ions.

Quantitative characteristics of binding of iron to pork blood transferrin by the influence of increased concentrations of ferric ions in water were different from carp. The maximum accumulation of iron with blood plasma of pike per 0.5 mg/dm<sup>3</sup>  $Fe^{3+}$  ions is noted. However, in the blood of pike there was a decrease in the amount of transferrin in the action of 2 and 5 MPC of ions of the ferrum (III). It was established that proportional to the concentration of  $Fe^{3+}$  ions in water, the index of saturation of transferrin by iron increases, which can testify to the toxic effect of metal ions and lead to pathological changes in the organism of fish. In general, the studied parameters can be used to assess the pollution of the water environment with  $Fe^{3+}$  ions.

*Key words:* carp, pike, blood, plasma, iron, transferrin

Рекомендує до друку

О. Б. Столяр

Надійшла 06.03.2018