

БІОХІМІЯ

Благодарності: Благодарим за помощь в работе докторов медицинских наук академика РАН А. А. Жаворонкова, профессоров Я. Я. Боднара и А. П. Гасюка, кандидата медицинских наук, доцента И. И. Сидоренко.

O.I. Цебржинський

Полтавський національний педагогічний університет ім. В. Г. Короленка, Україна

ДО БІОХІМІЧНОЇ ТОКСИКОЛОГІЇ БРОМІДУ ТАЛІЮ

Гіперталлоз у морських свинок викликає порушення тканинного дихання, посилення вільнорадикального пероксидного окиснення в крові за рахунок активації «дихального вибуху нейтрофілів», ослаблення антиоксидантного захисту, дефіциту низькомолекулярних антиоксидантів у тканинах. Гістологічне дослідження печінки виявило затримку мітозу на стадії метафази, пов'язану з К-мітозом. Можливо окисне пошкодження білків мітотичного апарату і ДНК.

Ключові слова: гіперталлоз, вільнорадикальне перекисне окислення, антиоксидантний захист, к-мітоз

O.I. Tsebrzhinsky

Poltava Volodymyr Korolenko National Pedagogical University, Ukraine

AS TO BIOCHEMICAL TOXICOLOGY OF THALLIUM BROMIDE

Gipertalloor in guinea pigs causes a disturbance of tissue respiration, an increase of free radical peroxidation in blood due to the activation of neutrophil respiratory explosion, weakening in the blood antioxidant defense, lack of low molecular weight antioxidants. The histological examination of liver tissue revealed a delay in mitosis at a metaphase stage connected with K-mitosis. There exists a possibility of oxidative damage to proteins of the mitotic apparatus and DNA.

Key words: gipertalloor, free radical peroxidation, antioxidant protection, k-mitosis

Рекомендую до друку

Надійшла 15.01.2013

В.В. Грубінко

УДК 574:591.5:504:597.6/9

Б. В. ЯКОВЕНКО, О. П. ТРЕТЬЯК, О. Б. МЕХЕД, М. О. ІВАЩЕНКО

Чернігівський національний педагогічний університет ім. Т.Г. Шевченка
вул. Гетьмана Полуботка, 53, Чернігів 14037, Україна

ЗАЛЕЖНІСТЬ ПОКАЗНИКІВ КРОВІ КОРОПА ВІД ПРИРОДИ ТОКСИКАНТУ

Ключові слова: короп лускатий, зенкор, 2,4-Д, йони міді, гематологічні показники, біохімічні показники

На конференції ООН з навколошнього середовища і розвитку у 1992 році пестициди і важкі метали (ВМ) віднесені до переважаючих в природі забруднюючих речовин [6]. Нині день загальне зростання антропічного впливу на водне середовище загострило проблему виживання водних тварин і, зокрема, риб, в умовах пестицидного навантаження та забруднення водойм ВМ. Актуальність дослідження обумовлюється тим, що деякі зі вказаних токсикантів виявляють мутагенні, канцерогенні властивості та, мігруючи в харчових ланцюгах, можуть бути небезпечними для здоров'я людини [11].

Мета роботи – з'ясувати вплив гербіцидів (бутилового ефіру 2,4-дихлорфеноксиоцтової кислоти (2,4-Д), та зенкору) та йонів міді на комплекс гематологічних та біохімічних показників крові коропа.

Матеріал і методи дослідження

Дослідження проводили на дворічках коропа масою 300–350 г. Згідно з даними іхтіопатологічних спостережень збудників паразитичних хвороб у риб не виявлено.

Досліди з вивчення впливу токсикантів проводили в 200-літрових акваріумах з відстіяною водопровідною водою, у якій рибу розміщували з розрахунку 1 екземпляр на 40 дм³ води.Період адаптації складав 3 доби, впливу токсикантів – 14 діб. Температурний режим води відповідав природному. Рибу утримували у чотирьох варіантах: контроль, дія 2,4-Д, дія зенкору та дія йонів міді. Концентрація досліджуваних токсикантів у акваріумах (2 гранично допустимі концентрації) створювалася шляхом внесення розрахованої кількості гранул 2,4-Д, 70% -ого порошку зенкору, йони міді вносили у вигляді CuSO₄*5H₂O.

Вміст гемоглобіну визначали гемоглобінцианідним методом за допомогою діагностичного набору реактивів «Реагент». Для підрахунку формених елементів використовували камеру типу Бюркера з вигравійованою на ній сіткою Горяєва. Застосовували забарвлення мазка по Романовському-Гімзе. Тривалість забарвлення 50 хв. Креатинін крові визначали за методикою Яффе-Поппера з депротинізацією пікриновою кислотою за допомогою діагностичного набору «Реагент». Загальний вміст білків визначали з використанням біуретової реакції за допомогою набору реактивів „Реагент” згідно інструкції до набору реагентів.

Аланінаміотрансферазну (АлАТ) та аспартатаміотрансферазну (АсАТ) активності в сироватці крові визначали за методом Райтмана-Френкеля за допомогою реагентів «Філісіт». Проведення дослідження на визначення тимолової проби у сироватці крові здійснювали за турбоменричним методом Хуєрго-Поппера за допомогою реактивів «Реагент». Визначення загального білірубіну у сироватці крові здійснювали за методом Ендрашка в присутності кофеїнового реактиву. Дослідження холестерину в сироватці крові коропа проводили ферментативним методом за допомогою набору реактивів „Реагент” згідно інструкції до набору реагентів.

Статистичну обробку результатів проводили загальноприйнятими методами, а вірогідне розходження між середніми арифметичними величинами визначали за допомогою t-критерію Стьюдента. Відмінності між порівнюваними групами вважали вірогідними при *- P <0,05.

Результати дослідження та їх обговорення

В ході дослідження було виявлено (рис. 1), що за дії 2,4-Д зменшення концентрації гемоглобіну становить 24%, а зенкору – 21,9% порівняно з показником риб контрольної групи.

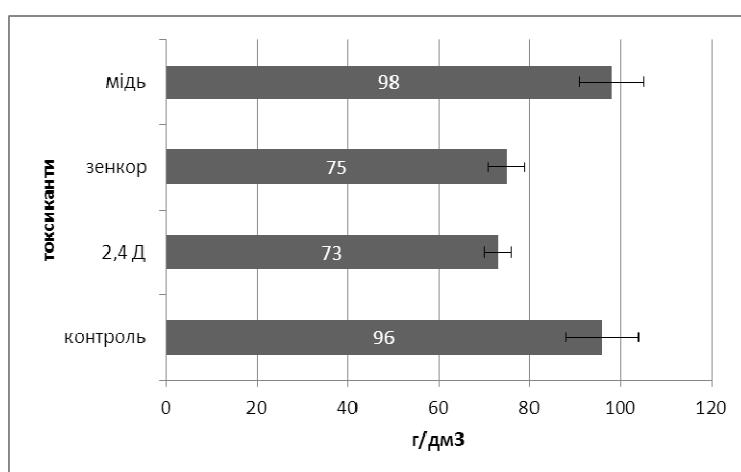
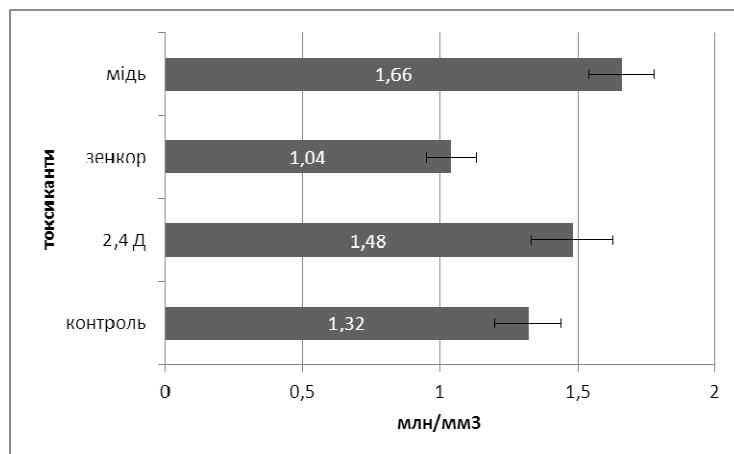
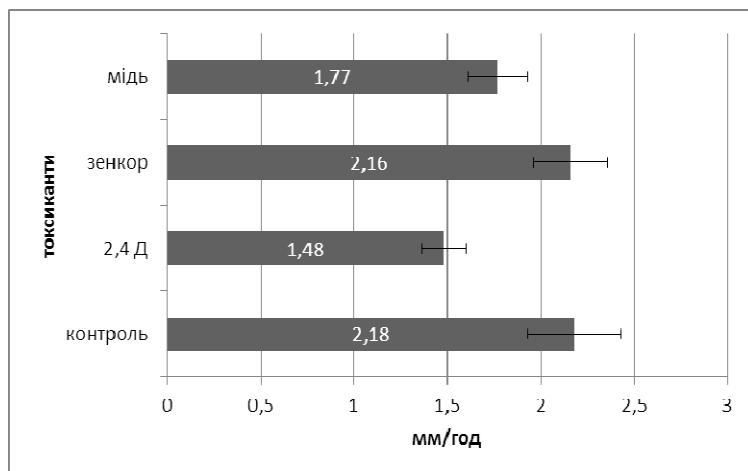


Рис. 1. Уміст гемоглобіну в крові риб, г/дм³ (M±m, n=5)

Встановлено (рис. 2), що кількість еритроцитів у крові коропів при дії 2,4-Д збільшується на 12%, а при дії йонів міді – на 25,7%. Під впливом зенкору значення цього показника, навпаки, зменшується на 21%.

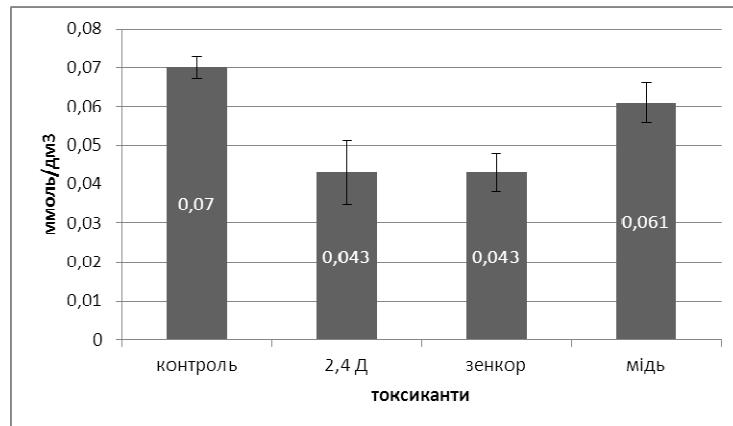
Рис. 2. Кількість еритроцитів у крові риб, млн/мм³ ($M \pm m$, n=5)

Кольоровий показник (КП) – це відносна величина, що характеризує середній вміст гемоглобіну в одному еритроциті [8]. Згідно з результатами дослідження кольоровий показник крові двохрічок при дії 2,4-Д та йонів міді зменшується на 32% та 18,8% відповідно, а під впливом зенкору майже не змінюється (рис. 3). Коли кількість еритроцитів збільшується при умовно постійному рівні гемоглобіну, відбувається зменшення кольорового показника і навпаки [1], що видно з наведених даних.

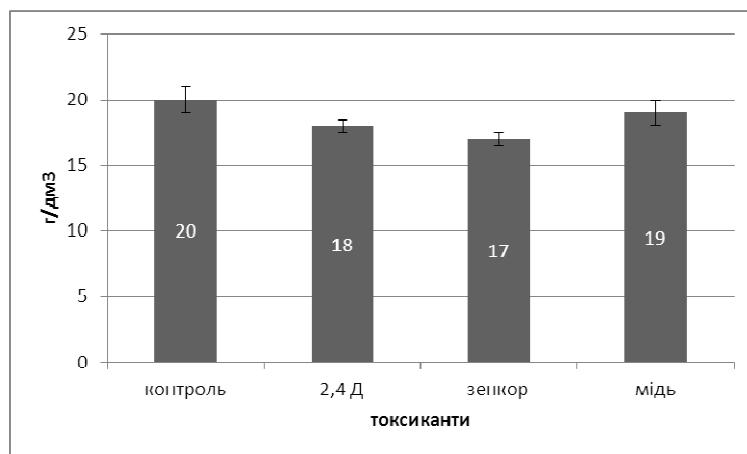
Рис. 3. Кольоровий показник крові риб, мм/год ($M \pm m$, n=5)

Як відомо, у результаті катаболізму білків утворюються аміак, сечовина, креатинін, індикан та ін. Між обміном креатиніну, що утворюється з аргініну, гліцину, метіоніну і креатину існує тісний взаємозв'язок. Встановлено, що вміст креатиніну в сироватці крові коропа при дії 2,4-Д та зенкору вірогідно зменшується на 39% (рис. 4).

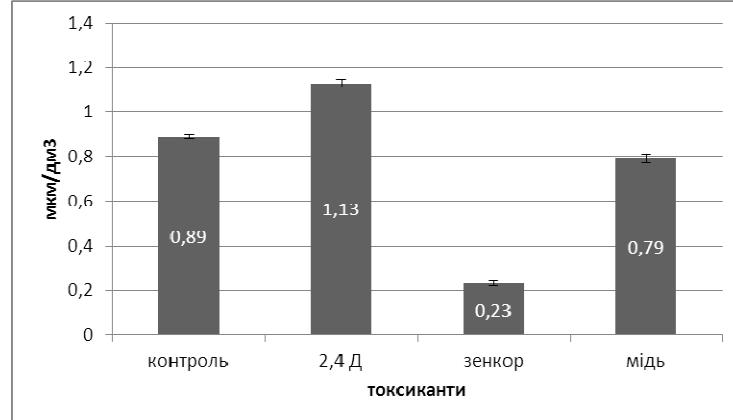
Аналогічні зміни показника зареєстровано за дії іншого гербіциду – раундапу [2]. Одержані показники свідчать про порушення креатин-креатинінового обміну і можуть бути пояснені даними про розвиток патології у м'язах риб та узгоджуються з одержаними раніше даними про зміну вмісту білків в тканинах двохрічок коропа за дії гербіцидів та важких металів [5].

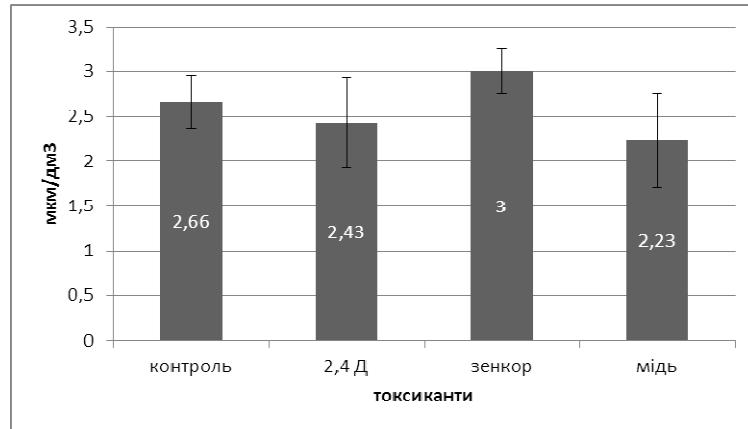
Рис. 4. Вміст креатиніну в сироватці крові риб, ммоль/дм³ ($M\pm m$, n=5)

На рис. 5 показані зміни вмісту загального білка в сироватці крові двохрічок коропа під дією гербіцидів. Максимальні зміни показника виявлено за дії зенкору (15%), мінімальні – іонів міді (5%). Зниження вмісту білків у сироватці крові піддослідних коропів за дії гербіцидів можна пояснити особливостями процесів їх детоксикації, пов’язаної з додатковими енерговитратами, для відновлення яких, крім вуглеводів і ліпідів, необхідні певні фракції білків, що узгоджуються з одержаними раніше даними [4].

Рис. 5. Загальний білок сироватки крові риб, г/дм³ ($M\pm m$, n=5)

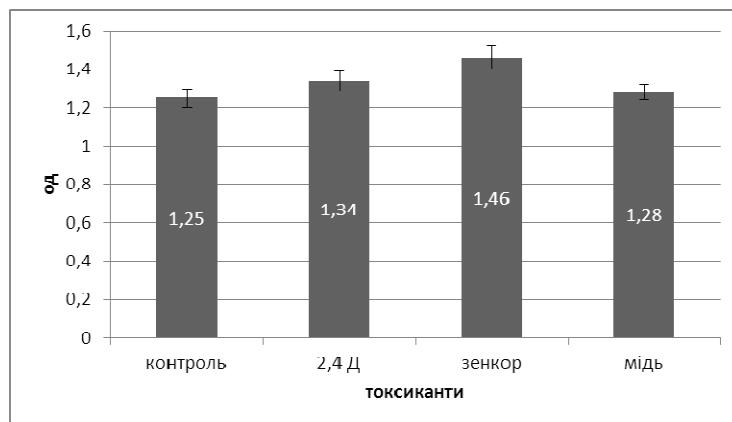
Дані про активність амінотрансфераз (аспарагінової та алані нової) сироватки крові риб наведено на рис. 6, 7.

Рис. 6. Активність АлАТ, мкмоль/дм³ ($M\pm m$, n=5)

Рис. 7. Активність AcAT, мкмоль/дм³ ($M \pm m$, n=5)

За дії 2,4-Д активність АлАТ збільшується на 27% порівняно з показником у риб контрольної групи. Одночасно під впливом зенкору активність ферменту пригнічується на 74%, що може бути обумовлене зміною напрямку реакції у бік утворення аланіну [12]. У плазмі крові коропів, що перебували в акваріумах з підвищеним вмістом іонів міді спостерігали зменшення активності АлАТ на 12%, що збігається з даними, наведеними для ферменту цитоплазматичної фракції печінки і м'язів [7].

За експериментальних умов в сироватці крові коропа змінюється також активність AcAT. Значення досліджуваного показника зменшується на 95% за дії 2,4-Д та 16% під впливом іонів міді. Виявлене нами підвищення активності даного ферменту за дії зенкору, можливо, є відповідлю організму риб на інтоксикацію гербіцидом шляхом активації енергетичних процесів. В той же час збільшення активності AcAT свідчить про зміщення реакції у бік утворення глутамінової кислоти, що відіграє важливу роль в процесах детоксикації аміаку в організмі риб [3]. Процеси перерозподілу амінокислотних резервів та рівень метаболізму амінокислот за дії токсикантів можна пояснити участю досліджуваних ферментів в перерозподілі проміжних продуктів циклу трикарбонових кислот. Насамперед це відбувається на функціональному стані печінки, оскільки вона раніше за інші органи реагує на дію зовнішніх і внутрішніх несприятливих факторів. Задля виявлення стану печінки нами було проведено тимолову пробу, яка може виявити зміни властивостей білків сироватки крові. Результати дослідження цього показника у риб представлено на рис. 8.

Рис. 8. Тимолова проба сироватки крові риб, од. ($M \pm m$, n=5)

Збільшення показника в сироватці крові риб за дії токсикантів різної природи виявлені у різному ступені. За збільшенням негативного впливу на властивості білків сироватки крові токсиканти можна розташувати так: іони міді (2,4%) → 2,4-Д (7,2%) → зенкор (16,8%).

Для визначення стану печінки піддослідних риб нами було визначено кількісний вміст білірубіну в сироватці крові коропів (рис. 9).

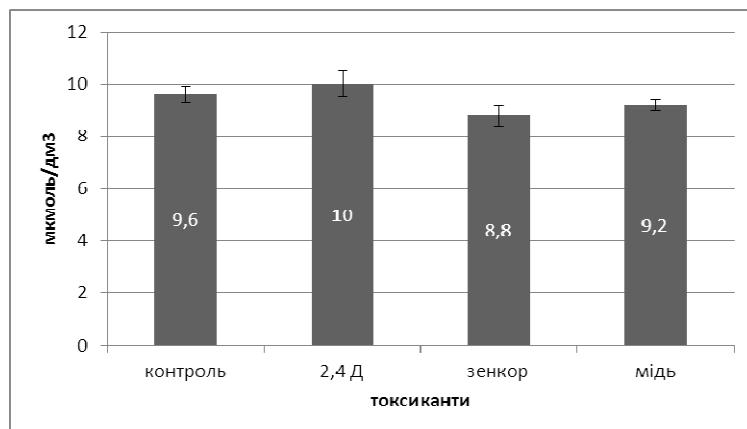


Рис. 9. Кількість білірубіну у сироватці крові риб, ммоль/дм³ ($M \pm m$, n=5)

Вміст білірубіну змінюється за дії різних токсикантів неоднаково: за дії зенкору і міді зменшується, а під впливом 2,4-Д. – підвищується Одночасно рівень холестерину у риб всіх експериментальних груп збільшується (рис. 10).

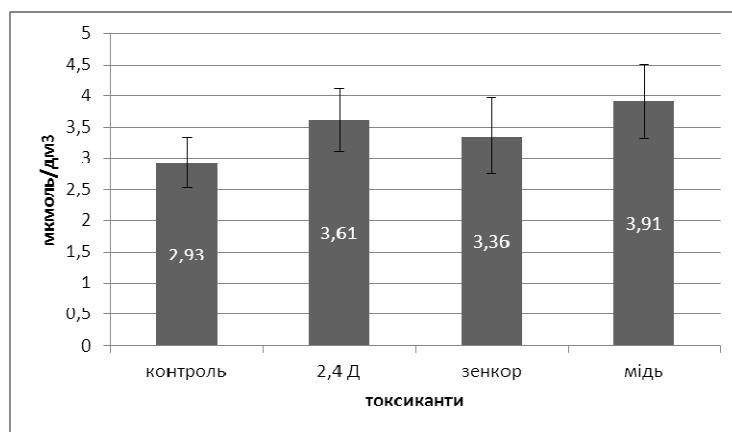


Рис. 10. Вміст холестерину у сироватці крові риб, ммоль/дм³ ($M \pm m$, n=5)

Результати наших досліджень підтверджуються даними Полетая В. М. і співавт. [9] щодо вмісту вільного холестерину тканині печінки та в крові. Виявлене нами значне підвищення його концентрації в цій тканині, особливо в етерифікованій формі, свідчить не стільки про посиленій біосинтез, а, ймовірніше, є наслідком блокування його подальших перетворень у жовчні кислоти. Суттєве зниження рівня останніх, у тому числі й у жовчі, спостерігалось у попередніх дослідженнях при з'ясуванні особливостей впливу раундапу і зенкору на жовчнокислотний обмін в організмі коропа [10].

Висновки

Вплив гербіцидів та йонів міді призводить до змін гематологічних показників коропа (концентрація гемоглобіну, кількість еритроцитів, колючий показник, кількісне співвідношення різних форм лейкоцитів). Біохімічні показники крові риб, що знаходилися в умовах токсичного впливу, свідчать про загальне виснаження, порушення білоксинтезної функції печінки риби, що підтверджується даними про порушення креатин-креатинінового і може бути пояснене патологією м'язів риб. Підвищений вміст токсикантів різної хімічної природи у воді впливає на швидкість переамінування амінокислот в АлАТ та АсАТ реакціях. В свою чергу це відбувається на функціональному стані печінки, оскільки вона раніше, ніж інші органи, реагує на дію зовнішніх і внутрішніх несприятливих факторів. Підвищення концентрації холестерину в сироватці крові свідчить про порушення механізмів, що підтримують гомеостатичні характеристики крові.

БІОХІМІЯ

1. Анисимова И. М. Ихтиология / И. М. Анисимова, В. В. Лавровский. 2-е изд., перераб. и доп. – М. : Агропромиздат, 1991. – 288 с.
2. Барбухо Е. В. Влияние пробиотика БПС-44 на биохимические показатели в печени и крови карпа в условиях гербицидной нагрузки / Е. В. Барбухо, А. А. Жиденко // Наук. зап. Терн. нац. пед. ун-ту. Сер. Біологія. – 2011. – № 2(47). – С. 171–174.
3. Грубінко В. В. Адаптивні реакції риб до дії аміаку водного середовища / В. В. Грубінко : Автореф. дис. ... докт. біол. наук: 03.00.17 «Гідробіологія», 03.00.04 «Біохімія». – Київ, 1995. – 44 с.
4. Жиденко А. А. Влияние гербицидов на структурный метаболизм карпа (*Cyprinus carpio L.*) разного возраста / А. А. Жиденко // Вісник ХНУ. Серія: біологія. – 2007. – Вип. 6, № 788. – С. 86–92.
5. Коваль В. О. Мінливість морфологічних показників та вміст основних метаболітів в тканинах дворічок коропа залежно від умов токсикозу / В. О. Коваль, О. Б. Мехед, М. С. Баландіна // X Міжнародні Новорічні біологічні читання. Випуск 10. – Миколаїв : Вид-во МНУ імені В.О. Сухомлинського, 2010. – С. 196–200.
6. Коптюг В. А. Конференция ООН по окружающей среде и развитию (Рио-де-Жанейро, июнь 1992 г.). Информ. обзор / В. А. Коптюг // Новосибирск : СО РАН, 1992. – 62 с.
7. Курант В. З. Роль білкового обміну в адаптації риб до дії іонів важких металів: автореф дис. на здобуття наук. ступеня докт. біол. наук : спец. 03.00.10 «Іхтіологія» / В. З. Курант. – Київ, 2003. – 38 с.
8. Лифшиц В. М. Медицинские лабораторные анализы. / В. М. Лифшиц, В. И. Сидельникова. – М. : Триада-Х, 2003. – 312 с.
9. Полетай В. М. Вплив гербіцидів на проміжний обмін ліпідів в організмі коропа / В. М. Полетай, С. П. Весельський, П. І. Ярчук // Вісник Черкаського університету. – Вип. 184. – С. 110–114.
10. Полетай В. Особливості проміжного обміну жовчних кислот в організмі коропа при дії пестицидів.// В. Полетай, А. Жиденко, С. Весельський, М. Макарчук // Вісник КНУ ім. Тараса Шевченка. Сер. Біологія. – 2010. – № 55. – С. 4–7.
11. Саратовских Е. А. Генотоксичность пестицидов в тесте Эймса и их способность к образованию комплексов с ДНК / Е. А. Саратовских, В. М. Глазер, Н. Ю. Костромина, С. В. Костелевцев // Экологическая генетика. – 2007. – Т 5, № 3. – С. 46–54.
12. De Zwaan A. Anaerobic metabolism in sublittoral living *mytilus galloprovincialis* in the Mediterranean: I. Partial adaptation of anaerobic energy metabolism / A. De Zwaan // Comp. Biochem. Physiol. – Vol. 54 B. – P. 313–324.

Б.В. Яковенко, А.П. Третяк, О.Б. Мехед, М. А. Иващенко

Черниговский национальный педагогический университет им. Т. Г. Шевченко, Украина

ЗАВИСИМОСТЬ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КРОВИ КАРПА ОТ ПРИРОДЫ ТОКСИКАНТА

Исследовали влияние гербицидов и ионов меди на комплекс показателей крови карпа. Отмечено изменение гематологических и биохимических показателей крови рыб, что свидетельствует об общем истощении, нарушении белоксинтезирующей функции печени, а также нарушении механизмов, поддерживающих гомеостатические характеристики крови.

Ключевые слова: карп, зенкор, 2,4-Д, ионы меди, гематологические показатели, биохимические показатели

B.V. Yakovenko, A.P. Tretyak, O.B. Mekhed, M.A. Ivashchenko

Chernihiv Taras Shevchenko National Pedagogical University, Ukraine

DEPENDENCE OF CARP BLOOD PARAMETRES ON THE NATURE OF A TOXICANT

There have been investigated the effect of herbicides and copper ions on a set of indicators of carp blood. Changes in hematological and biochemical parameters of fish blood have been observed, which testifies to the general exhaustion, disorder of protein synthesis function of the liver, as well as the malfunction of mechanisms that support the homeostatic properties of blood.

Key words: carp, zenkor, 2,4-D, ions of copper, hematological indices, biochemical indices

Рекомендую до друку

В.З. Курант

Надійшла 22.01.2013