

УДК 574.64 + 597.551.2:577.125

Т. В. Міщенко

ВПЛИВ РАУНДАПУ НА ПОКАЗНИКИ ПЕРОКСИДНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ КОРОПА

Досліджено показники пероксидного окиснення ліпідів у різних тканинах цьоголітка коропа лускатого за дії гербіциду раундап. Встановлено зміни активності ферменту антиоксидантного захисту — каталази та вмісту продуктів пероксидного окиснення ліпідів — гідропероксидів ліпідів і малонового диальдегіду.

Ключові слова: гербіцид, раундап, пероксидне окиснення ліпідів, антиоксидантний захист, каталаза, гідропероксиди ліпідів, малоновий диальдегід.

Процеси пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) і стан антиоксидантної системи є інформативними показниками для оцінки ступеня впливу токсикантів на організм, які можуть бути використані у розробці програм біомоніторингу. Активація ПОЛ розглядається як універсальна відповідь живої системи на дію екстремальних чинників. У будь-якому організмі за нормальних умов інтенсивність ПОЛ підтримується на певному стаціонарному рівні, що забезпечується системою антиоксидантного захисту, до якої належать антиоксидантні ферменти і низькомолекулярні сполуки. Взаємодіючи з радикалами, вони утворюють малоактивні сполуки [2]. Наши дослідження мали на меті встановити зміни показників пероксидного окиснення ліпідів у різних тканинах цьоголітка коропа під впливом раундапу та оцінити можливість їх використання як індикаторів гербіцидного забруднення водойм і стану організму риб.

Матеріал і методика дослідження. Дослідження проводились з цьоголітками коропа лускатого (*Cyprinus carpio*), вирощеними ВАТ «Чернігіврибгосп». Риби, що перебували в умовах зимового голодування (без годівлі, температурний режим підтримували на природному рівні: 6,5—9,0°C), були розміщені у 200-літрових акваріумах з відстійною водо-проводною водою з розрахунком 1 екз. на 20 л води. В експерименті використано гербіцид раундап (*N*-(фосфонометил)-гліцин, гліфосат) з концентрацією 2 ГДК (0,04 мг/дм³), яку створювали шляхом внесення розрахованої кількості 36%-ного розчину та підтримували впродовж 14 діб. Діюча речовина гліфосат входить до складу 22 гербіцидів, які виробляються у восьми країнах світу і дозволені до використання в Україні [6]. Як контроль використовували риб, що утримувались в акваріумах без додавання гербіциду. Про-

дукти ПОЛ та активність каталази визначали у гомогенатах п'яти тканин: м'язів, печінки, мозку, зябер, нирок.

Активність каталази досліджували шляхом додавання розчину пероксиду водню до дослідної проби, реакцію зупиняли через 10 хв внесенням розчину молібдату амонію. Через 5 хв додавали розчин трихлороцтової кислоти та центрифугували при 3000 об/хв протягом 15 хв, після чого вимірювали оптичну густину дослідних та контрольної проб відносно відповідних нульових проб при 410 нм. Активність каталази розраховували за одержаним значенням оптичної густини [1].

Вміст гідропероксидів ліпідів визначали шляхом додавання розчину трихлороцтової кислоти до дослідної проби, після чого осад центрифугували 10 хв при 4000 об/хв. До супернатанту додавали етанол, концентровану хлоридну кислоту та 5%-ний розчин $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2$, струшували 30 с і вносили розчин NH_4SCN . Вимірювали оптичну густину проти контролю при 480 нм. Відносний вміст гідропероксидів ліпідів встановлювали за величиною оптичної густини [1].

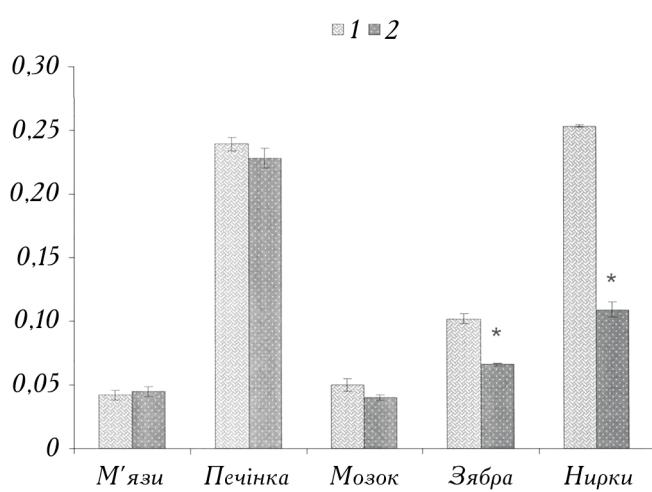
Для визначення вмісту малонового диальдегіду у дослідну пробу вносили розчин трихлороцтової кислоти, після чого центрифугували 10 хв при 6000 об/хв. До супернатанту додавали розчин тіобарбітурової кислоти, закривали пробірки корками і витримували на киплячій водяній бані 10 хв, потім охолоджували до кімнатної температури. Вимірювали оптичну густину проти контролю при 532 нм. Вміст малонового диальдегіду розраховували за значенням оптичної густини [1].

Результати досліджень та їх обговорення

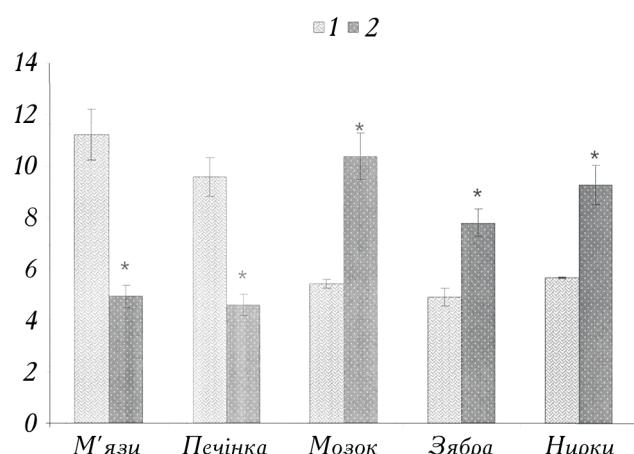
В результаті досліджень було встановлено, що активність каталази вірогідно знижується у зябрах і нирках відповідно в 1,5 і 2,3 разу відносно контролю, в інших досліджуваних тканинах вірогідні зміни не відмічено (рис. 1).

Концентрація продуктів ПОЛ у тканинах змінюється неоднозначно. Так, вміст гідропероксидів ліпідів збільшується у мозку в 1,9, у зябрах — в 1,6 і у нирках — в 1,6 разу відносно контролю. Разом з тим у м'язах і печінці спостерігається зниження величини цього показника відповідно у 2,3 та 2,0 разу відносно контролю (рис. 2). Отже, для перших трьох тканин характерний розвиток ПОЛ на стадії утворення гідропероксидів ліпідів, що може бути пов'язано зі зниженням активності каталази у зябрах та нирках. Відомо, що у тварин збільшення вмісту поліненасичених жирних кислот (ПНЖК) корелює з активацією процесів ПОЛ [4]. Крім того, риби є сприйнятливішими до ПОЛ і більш залежними від антиоксидантного статусу організму, оскільки у складі їх ліпідів вміст ПНЖК вищий, ніж у ссавців [2]. Це узгоджується з результатами дослідження динаміки вмісту ліпідів у мозку під впливом гербіцидів [5]. Зафіковане збільшення їх концентрації, очевидно, пов'язано зі зростанням вмісту поліненасичених вищих жирних кислот.

Протилежні зміни у м'язах і печінці відбуваються, можливо, за рахунок активації інших ферментних систем антиоксидантного захисту, тоді як активність каталази у цих тканинах не змінюється. Відомо, що пероксид водню розкладається глутатіонпероксидазою та іншими пероксидазами. Реакція відновлення пероксидів жирних кислот глутатіоном також каталізується глутатіонпероксидазою [3]. Вміст кінцевого продукту ПОЛ — малоно-вого диальдегіду знижується у всіх дослідженіх тканинах, окрім зябер: у м'язах — в 1,6 разу, у печінці — в 1,2, у мозку — в 1,5 і у нирках — в 3,4 разу порівняно з контролем (рис. 3).

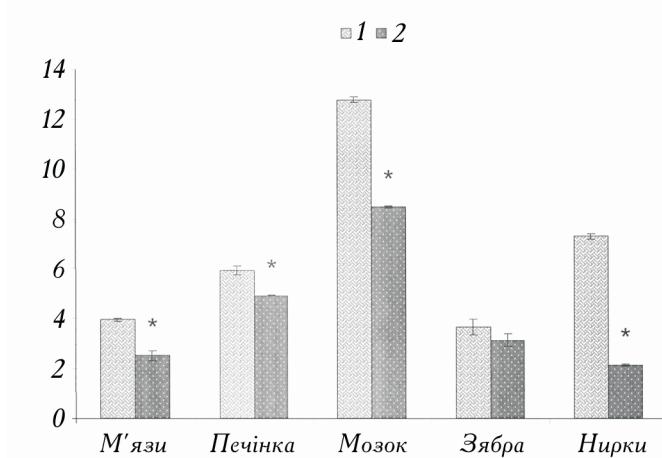


1. Зміна активності каталази у тканинах цьоголітка коропа за дії раундапу. Тут і на рис. 2 і 3: 1 — контроль; 2 — раундап; експозиція — 14 діб (* результати вірогідно відрізняються від контролю, $M \pm m$; $n = 6$).



2. Вміст гідропероксидів ліпідів у тканинах цьоголітка коропа за дії раундапу.

Отже, виявлена тенденція вказує на те, що за 14 діб під впливом раундапу не відбувається розвиток ПОЛ з накопиченням кінцевого продукту. Відомо, що зменшення вмісту продуктів ПОЛ у зябрах коропа при підвищенні концентрації селену у воді зумовлено зростанням активності всіх дослідженіх антиоксидантних ферментів: глутатіонпероксидази, супероксиддисмутази та каталази, меншою мірою ця залежність характерна для печінки коропа, а високий вміст продуктів ПОЛ пояснюється зниженням активності вказаних ферментів у скелетних м'язах [8].



3. Вміст малонового диальдегіду у тканинах цьоголітк коропа за дії раундапу.

У дослідженнях інших авторів спостерігається різна реакція риб (стан антиоксидантної ферментної системи еритроцитів) на несприятливі чинники середовища: адаптивна, пов'язана зі збільшенням активності ферментів в еритроцитах при підвищенні рівня забруднення, і токсична, коли відбувається інгібування активності ферментної антиоксидантної системи при наявності високих концентрацій

токсикантів у воді та ґрунті. Зокрема, відзначено підвищення активності каталази, супероксиддисмутази, пероксидази та глутатіонредуктази в еритроцитах риб у середовищі зі збільшеним вмістом токсичних речовин, тоді як у особин, що зазнали найбільшого токсичного навантаження, активність усіх досліджуваних ферментів знижена [7], тобто вони втрачають здатність виконувати свою функцію. У нашому випадку, незважаючи на деяке зниження активності каталази в окремих тканинах, відсутність накопичення кінцевого продукту ПОЛ вказує на нормальне функціонування систем антиоксидантного захисту.

Висновки

У ході досліджень процесів ПОЛ коропа лускатого під впливом раундапу на 14-у добу експерименту у тканинах риб було виявлено певні зміни показників. Так, активність каталази знижується лише у двох тканинах — зябрах і нирках, у м'язах, печінці та мозку вірогідні зміни не відбуваються. При цьому вміст гідропероксидів ліпідів змінюється по-різному залежно від тканини. У мозку, зябрах і нирках спостерігається накопичення проміжного продукту ПОЛ, що може свідчити про деяку активацію цих процесів при гербіцидному навантаженні, але воно не є яскраво вираженим. Для м'язів і печінки характерне зниження величини цього показника. При цьому вірогідно зменшується вміст кінцевого продукту ПОЛ — малонового диальдегіду у всіх тканинах, крім зябер. Отже, відсутність накопичення кінцевого продукту ПОЛ свідчить про нормальне функціонування систем антиоксидантного захисту, які утримують реакції окиснюваного стресу на відповідному стаціонарному рівні і запобігають їх стрімкому розвитку внаслідок дії гербіциду.

**

Влияние 2 ПДК гербицида раундап в течение 14 сут не вызывает развития ПОЛ с накоплением конечного продукта (малонового диальдегида). Наблюдается сниже-

ние активности каталазы в жабрах и почках. Содержание гидроперекисей липидов изменяется по-разному в зависимости от ткани.

**

Under 14 days of the herbicide roundup impact POL development with final product (malone dialdehid) accumulation did not occur. The decrease of catalase activity in gills and kidney was observed. Lipids hydroperoxides content changed differently depending on tissue type.

**

1. Агесв В.О., Дерев'янко С.В., Даценко Г.М. Антиоксидантний та імунний статус молодняку ВРХ за дії пробіотичних препаратів БПС-44 та БПС-Л // Наук. віsn. Львів. ун-ту вет. медицини та біотехнологій. — 2008. — Т. 10, № 3. — Ч. 1. — С. 10—17.
2. Алешин С.А. О возможности использования альфа-токоферола и аскорбиновой кислоты как потенциальных средств защиты воспроизводительной системы радужной форели от токсического действия перекисных соединений корма // Вестн. Ленингр. ун-та. — 1987. — № 2. — С. 3—8.
3. Гонський Я. І., Максимчук Т.П. Біохімія людини. — Тернопіль: Укракадемкнига, 1999. — 750 с.
4. Иванов В.А. Липиды биомембран животных при адаптации к экстремальным воздействиям: Автореф. дис. ... докт. биол. наук. — Ташкент, 1989. — 36 с.
5. Міщенко Т.В. Окремі показники ліпідного обміну коропа як індикатори гербіцидної інтоксикації // Наук. зап. Терноп. нац. пед. ун-ту. Сер. Біологія. — 2008. — № 3 (37). — С. 114—117.
6. Перелік пестицидів і агрохімікатів, дозволених до використання в Україні: Практ. довід. для фахівців сільського господарства. — Дніпропетровськ: АРТ-ПРЕС, 2006. — 319 с.
7. Руднева И.И., Скуратовская Е.Н., Вахтина Т.Б. Влияние антропогенного загрязнения на активность антиоксидантных ферментов крови некоторых видов черноморских рыб // Віsn. Одес. нац. ун-ту. Біологія. — 2004. — Т. 9, вип. 5. — С. 116—120.
8. Янович В.Г., Мерва А.В. Активність антиоксидантної системи в тканинах коропа за різного вмісту селену у воді // Наук.-техн. бюл. Ін-ту біології тварин і ДНДКІ ветпрепаратів та корм. добавок. — 2006. — Вип. 7, № 1, 2. — С. 79 — 82.