

# БІОХІМІЯ

УДК 574.64:(577.12:597.5)

О.М. АРСАН<sup>1</sup>, І.М. КОНОВЕЦЬ<sup>1</sup>, В.О. АРСАН<sup>2</sup>, Ю.М. СИТНИК<sup>1</sup>, М.О. МИРОНЮК<sup>1</sup>,  
І.Г. КУКЛЯ<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Інститут гідробіології НАН України  
проспект Героїв Сталінграду, 12, Київ, 04210

<sup>2</sup>Українська лабораторія якості і безпеки продукції АПК Національного університету біоресурсів і  
природокористування України  
вул. Героїв оборони, 15, Київ, 03041

## **ДИНАМІКА ВМІСТУ СВИНЦЮ, ПІРУВАТУ, ЛАКТАТУ ТА СПІВВІДНОШЕННЯ ВІЛЬНИХ НАД-ПАР В ТКАНИНАХ БІЛОГО АМУРА ЗА ДІЇ ЙОНІВ СВИНЦЮ ВОДНОГО СЕРЕДОВИЩА**

Досліджували вплив іонів свинцю в концентрації 500 мкг/дм<sup>3</sup> (5 ГДК рибогосподарських) на його накопичення і вміст пірувату, лактату і співвідношення вільних НАД-ПАР в тканинах білого амура при різній температурі (20 і 26°C) водного середовища і періоду адаптації до таких умов (7 і 14 діб). Іони свинцю залежно від періоду експозиції і температури водного середовища приводять до перебудови окислювально-відновних реакцій в організмі риб, внаслідок чого змінюється співвідношення гліколітичних і аеробних процесів в їх тканинах.

*Ключові слова:* білий амур, піруват, лактат, йони свинцю, НАД

В останній час у водоймах різного типу в значній мірі зросла концентрацій свинцю. Це зв'язано, перш за все, з антропогенним впливом. Надійшовши у водойми, свинець викликає не тільки деградацію водних екосистем, погіршує якість води, але й, накопичуючись у гідробіонтах, в тому числі і рибі, негативно впливає на їх життєдіяльність.

Згідно інформації, яка наявна у фаховій літературі, за накопиченням в тканинах риб свинець займає проміжне положення між цинком і кобальтом. Він накопичується в кістках, шкірі, з'ябрах, печінці, нирках та інших тканинах риб [4].

Слід зазначити, що йони свинцю, які надійшли в організм риб, викликають у них низку патологічних змін, впливають на обмін вуглеводів [11, 12], ліпідів [8], білків [8], енергетичний статус та тканинне дихання [3].

Однак, щодо дії йонів свинцю на вміст пірувату та лактату, то такі дослідження практично не проводилися. Входячи з цього, нами були проведені дослідження з вивчення впливу підвищених концентрацій йонів свинцю за різних температур водного середовища на його накопичення, вміст пірувату, лактату, та співвідношення вільних НАД-пар в тканинах білого амура.

### **Матеріал і методи досліджень**

Досліди проводили на білому амурі *Ctenopharyngodon idella* (Val.), вирощеного на Білоцерківській гідробіологічній станції Інституту гідробіології НАН України та попередньо аклімованого два місяці до умов аквакомплексу Інституту. По п'ять екземплярів риб масою 250–300 г поміщали у 100-літрові акваріуми, заповнені відстояною водопровідною водою та обладнані термо- і газорегуляторами. Концентрація йонів свинцю 500 мкг/дм<sup>3</sup>, яка відповідала п'яти рибогосподарським ГДК, досягалась додаванням у воду розрахункових по катіону кількостей Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>.

З метою запобігання впливу екзометаболітів на риб та підтримання на постійному рівні заданої концентрації йонів свинцю у воді акваріумів раз на два дні проводили її заміну з додаванням відповідної кількості йонів даного металу.

Контролем слугували величини досліджуваних показників в тканинах риб, які знаходилися у воді акваріумів без додавання йонів свинцю. Вміст O<sub>2</sub> у воді акваріумів становив 7,05 – 8,27 мг/дм<sup>3</sup>; CO<sub>2</sub> – 3,2 мг/дм<sup>3</sup>, а величина рН – 7,5. Досліди проводили за температури 20 і 26°C.

## БІОХІМІЯ

Риб годували гранульованим комбікормом К–III–11. Період аклімації риб до таких умов водного середовища складав 7 і 14 діб. Такий час (14 діб), на думку [6] є необхідним для формування адаптивних механізмів до дії абіотичних чинників водного середовища, включно іонів важких металів.

Печінку, зябра та м'язи риб заморожували у рідкому азоті та розтирали в порошок. Вміст пірувату і лактату в тканинах риб визначали загальноприйнятими ферментативними методами [9; 10]. Вміст пірувату виражали в мкмолях на 100 г, а лактату – мкмолях на 1 г сирової тканини.

Величину  $[НАД^+/НАДН]$  в цитоплазмі клітин тканин розраховували за формулою  $[НАД^+/НАДН] = 1/K_{лдг} \times [\text{піруват}]/[\text{лактат}]$ ,  $K_{лдг}$  - константа рівноваги лактатдегідрогеназної системи, яка дорівнює  $0,9 \times 10^{-4}$  [7].

Вміст свинцю (мкг/г) у тканинах риб визначали спектрофотометричним методом на атомноадсорбційному спектрофотометрі ААС – 3 (Німеччина). Для цього тканини риб спалювали у перегнаній нітратній кислоті у співвідношенні 1(маса)/5 (об'єм).

Одержані результати оброблено статистично з використанням t-критерію Стьюдента [2].

### Результати досліджень та їх обговорення

У результаті досліджень встановлено, що вміст свинцю в тканинах білого амура залежить від температури та періоду адаптації до водного середовища з концентрацією іонів свинцю 500 мкг/дм<sup>3</sup>. Так, витримування риб 7 діб у такому середовищі при 20°C, призводило до накопичення цього металу в печінці, зябрах та м'язах відповідно на 58,30%; 96,40% і 103,10% порівняно з контролем (табл. 1). Однак, найбільша його кількість була сконцентрована саме в печінці риб.

Таблиця 1

Вміст свинцю (мкг/г) в тканинах білого амура за дії іонів свинцю водного середовища  
( $M \pm m$ ; n=4-5)

Період експозиції і температура		Печінка	Зябра	М'язи
7 діб 20°C	контроль	6,00 ± 0,40	2,80 ± 0,30	1,60 ± 0,30
	дослід	9,50 ± 0,30	5,40 ± 0,30	3,30 ± 0,30
14 діб 20°C	контроль	6,80 ± 0,30	3,60 ± 0,30	2,20 ± 0,20
	дослід	12,5 ± 0,30	7,40 ± 0,30	3,60 ± 0,30
7 діб 26°C	контроль	9,00 ± 0,40	5,60 ± 0,40	2,80 ± 0,20
	дослід	15,20 ± 0,40	7,60 ± 0,30	5,60 ± 0,30
14 діб 26°C	контроль	10,50 ± 0,30	6,60 ± 0,30	3,40 ± 0,30
	дослід	17,80 ± 0,70	8,80 ± 0,20	6,20 ± 0,40

Зі збільшенням часу експозиції білого амура до 14 діб у водному середовищі при 20°C і наявності 500 мкг/дм<sup>3</sup> іонів свинцю накопичення цього елемента у тканинах, зокрема у печінці та зябрах значно зростає (відповідно на 85,20% і 105,60% відносно контролю). Щодо м'язів, то вміст свинцю за таких умов також підвищується, але у відсотковому відношенні менше, ніж при семидобовій експозиції (на 63,63%).

Необхідно наголосити, що накопичення свинцю тканинами білого амура за дії 500 мкг/дм<sup>3</sup> іонів свинцю водного середовища залежить також і від його температури. Підвищення температури води до 26°C призводить до збільшення накопичення свинцю через 7 діб експозиції в печінці на 68,90%, зябрах – 35,70%, та м'язах - на 100,00% порівняно з контролем. Подовження періоду адаптації риб до 14 діб до таких умов викликає зростання накопичення свинцю у зябрах (на 33,00%), м'язах (82,40%) і особливо печінці (69,00%) відносно контролю.

Відомо, що адсорбція важких металів, в тому числі і свинцю з водного середовища здійснюється, головним чином, зябрами. Потім він з кров'ю розноситься до різних тканин організму риб. Як нами показано, найбільший рівень свинцю зафіксовано в печінці, менший – у зябрах і найменший у м'язах як контрольних, так і дослідних риб.

Аналіз інформації, наявної у фаховій літературі [4; 13] свідчить про те, що накопичення свинцю у м'язах риб відбувається у меншій мірі, ніж в печінці та зябрах. У дослідженнях, проведених на коропі [1], найвищий рівень свинцю виявлено також у печінці в умовах підвищеної його концентрації у воді. У той же час при підвищенні температури водного

## БІОХІМІЯ

середовища до 25°C нагромадження свинцю в печінці коропа зростає у три рази порівняно з контролем [1]. Відмічений факт пов'язаний з тим, що проникнення металів, в тому числі і свинцю, в клітину є енергозалежним процесом. Як було показано [5], при такій температурі водного середовища в значній мірі активуються енергогенеруючі процеси в організмі риб.

Необхідно зазначити, що, накопичившись у тканинах білого амура, свинець здійснює свій вплив на вміст як пірувату, так і лактату. Дослідженнями встановлено, що експозиція білого амура 7 та 14 діб у середовищі при 20°C та 500 мкг/дм<sup>3</sup> йонів свинцю не впливає на вміст пірувату і лактату в печінці та зябрах (табл. 2, 3). Це може свідчити про те, що за таких умов водного середовища у даних тканинах риб не порушуються процеси гліколізу та трикарбонового циклу.

*Таблиця 2*

Вміст пірувату (мкмоль/100 г) в тканинах білого амура за дії йонів свинцю водного середовища  
( $M \pm m$ ; n=5)

Період експозиції і температура		Печінка	Зябра	М'язи
7 діб 20°C	контроль	15,00±0,18	1,00±0,11	6,00±0,70
	дослід	16,00±0,90	1,10±0,09	7,00±0,65
14 діб 20°C	контроль	17,00±1,50	1,21±0,15	7,05±0,70
	дослід	16,00±0,95	1,34±0,08	8,23±0,35
7 діб 26°C	контроль	14,00±0,90	2,00±0,10	7,82±0,16
	дослід	25,00±2,10	2,54±0,16	8,90±0,45
14 діб 26°C	контроль	14,52±1,41	3,85±0,20	7,31±0,36
	дослід	10,30±0,75	6,00±0,57	9,25±0,56

*Таблиця 3*

Вміст лактату (мкмоль/г) в тканинах білого амура за дії йонів свинцю водного середовища  
( $M \pm m$ ; n=5)

Період експозиції і температура		Печінка	Зябра	М'язи
7 діб 20°C	контроль	2,71±0,15	3,45±0,49	20,69±0,84
	дослід	2,87±0,11	3,50±0,17	9,28±1,02
14 діб 20°C	контроль	2,40±0,43	2,58±0,19	22,35±1,84
	дослід	2,87±0,20	2,51±0,21	14,18±1,40
7 діб 26°C	контроль	3,83±0,26	3,31±0,80	26,94±1,17
	дослід	2,80±0,17	2,85±0,14	20,61±1,01
14 діб 26°C	контроль	3,65±0,23	4,40±0,31	24,72±1,78
	дослід	2,80±0,14	3,38±0,12	21,71±0,39

Відмічене підтверджується і співвідношенням вільних НАД-пар в печінці і зябрах, які характеризують окисну здатність цих тканин (табл. 4).

Щодо м'язів, то в них за таких умов зростає рівень пірувату (на 16, 66% і 16,73%) та знижується кількість лактату (на 55,15% і 36,56% в залежності від періоду експозиції) порівняно з контролем.

Відмічені зміни величини пірувату у і лактату у м'язах риб за таких умов водного середовища свідчать про посилення аеробних та пригнічення гліколітичних процесів. Такого висновку можна дійти на підставі співвідношення вільних НАД-пар у досліджуваній тканині, яке в залежності від періоду адаптації риб до 500 мкг/дм<sup>3</sup> та температури води 20°C, зростає відповідно на 160,12% і 84,02% порівняно з контролем (табл. 4).

*Таблиця 4*

Співвідношення вільних нікотинамідних коферментів [НАД<sup>+</sup>]/[НАДН] в тканинах білого амура за дії йонів свинцю водного середовища

Період експозиції і температура		Печінка	Зябра	М'язи
7 діб	контроль	615,00	32,20	32,22

## БІОХІМІЯ

	дослід	619,43	34,92	83,81
14 діб 20°C	контроль	787,03	52,11	35,04
	дослід	619,43	59,32	64,48
7 діб 26°C	контроль	406,15	67,13	32,30
	дослід	992,06	136,84	47,98
14 діб 26°C	контроль	442,00	97,22	32,85
	дослід	408,73	197,20	47,34

Зі збільшенням температури водного середовища до 26°C дія йонів свинцю на досліджувані показники у білого амура посилюється. Так, при періоді адаптації 7 діб до концентрації йонів свинцю у воді 500 мкг/дм<sup>3</sup> у зябрах і особливо у печінці риби зростає рівень пірувату (на 20,50% і 78,57% відповідно) та знижується кількість лактату (на 13,90% і 26,90% відповідно) порівняно з контролем (табл. 2 і 3). Аналогічна закономірність змін величин досліджуваних показників спостерігається і в м'язах риби, але в меншій мірі, ніж при 20°C водного середовища. Такі зміни величин досліджуваних показників свідчать про активування аеробних та інгібування гліколітичних процесів в тканинах риби. Це підтверджується також співвідношенням в них вільних НАД-пар (табл. 4).

Поряд з цим із подовженням періоду перебування риби у середовищі при 26°C до 14 діб амплітуда вмісту пірувату і лактату в тканинах змінюється. В зябрах риби за таких умов водного середовища рівень пірувату зростає (на 35,84%), а лактату зменшується (на 23,18%) порівняно з контролем. Отже, зі збільшенням періоду адаптації риби до 500 мкг/дм<sup>3</sup> йонів свинцю водного середовища посилюється вплив цих йонів на досліджувані показники. Подібну закономірність по відношенню до вмісту пірувату зафіксовано і в м'язах. Однак зміни кількості лактату у даній тканині значно менші, ніж при експозиції 7 діб. Отримані результати досліджень свідчать про посилення в зябрах і м'язах риби за таких умов аеробних та пригнічення гліколітичних процесів.

Щодо печінки, то в ній за дії на рибу 500 мкг/дм<sup>3</sup> йонів свинцю при 26°C водного середовища знижується вміст пірувату (на 29,07%) та лактату (на 23,29%) порівняно з контролем, тобто йони свинцю викликають пригнічення як аеробних, так і гліколітичних процесів. На підставі відміченого факту можна дійти висновку, що йони свинцю в концентрації 500 мкг/дм<sup>3</sup> є токсичними по відношенню до окисно-відновних процесів, які відбуваються в печінці білого амура.

### Висновки

Показано залежність вмісту свинцю, пірувату, лактату та співвідношення вільних НАД-пар в тканинах риби від температури водного середовища та періоду експозиції. Зі збільшенням температури води від 20°C до 26°C та часу адаптації риби (від 7 до 14 діб) до дії 500 мкг/дм<sup>3</sup> йонів свинцю водного середовища величини цих досліджуваних показників в тканинах зростають.

Таким чином, йони свинцю в досліджуваній концентрації в залежності від періоду експозиції та температури водного середовища призводять до перебудови окисно-відновних реакцій в організмі риби, в результаті чого змінюється функціонування гліколізу та аеробного дихання в їх тканинах.

1. *Коновець І.М.* Вплив токсикантів на метаболізм аміаку у риби при різних температурах водного середовища: Автореф. дис. ... канд. біол. наук. – Київ, 1994. – 23 с.
2. *Лакін Г.Ф.* Биометрия / Г.Ф. Лакін. – М.: Высшая школа, 1990. – 351 с.
3. *Макашев К.К.* О роли нарушенных обменных процессов при сатурнизме / К.К. Макашев // Вопр. гиг. труда и проф. заб. Алма-Ата. – 1972. – Т.13. – С. 8–10.
4. *Никаноров А.М.* Биомониторинг металлов в пресноводных экосистемах / А.М. Никаноров, А.В. Жулидов. – Л.: Гидрометеиздат, 1991. – 312 с.
5. *Романенко В.Д.* Механизмы температурной акклимации (рыб) / В.Д. Романенко, О. М. Арсан, В. Д. Соломатіна. – К.: Наук. думка. – 1991. – 191 с.
6. *Хлебович В. В.* Акклимация животных организмов / В. В. Хлебович – Л.: Наука, 1981. – 135 с.

7. Чаговець Р.В. Дослідження діолів як синтетичного джерела енергії в діті молодих щурів / Р.В. Чаговець, М.М. Великий, П.К. Пархомець // Укр. біохім. журн. – 1974. – Т. 46, № 3. – С. 275-283.
8. Baatrup E. Structural and functional effects of heavy metals on the nervous sistem, including sense organs, of fish.//Comp. Biochem Physiol C. – 1991. – Vol. 100 (1-2). – P. 253–257
9. Hohorst H.J., Beim M.L., (*L-malate*) // Methods of enzymatic analysis. – Weinheim: Chemie, 1963. – P.328-332.
10. Hohorst H.J. Determination with lactic dehydrogenase and DPN // Methods of enzymatic analysis. – Weinheim: Chemie, 1963. – P. 266-270.
11. Mizrahi L., Achituv J. Effect of heavy metals ions on enzymes activity in the mediterranean mossel, *Donax trunculus* // Bull. Environ. Contam. and Toxicol. – 1989. – Vol. 42. – P. 854–859.
12. Ruparelia S.G., Verma Y.V., Menhta N.S., Salyed S.R. Lead-induced biochemical changes in freshwater fish *Oreochromis mossabiais* // Bull. Environ. Contam. and Toxicol. – 1989. – Vol. 43. – P. 310–314.
13. Rashed M.N. Cadmium and lead levels in fish (*Tilapia nilotica*) tissues as biological indicator for lake water pollution // Environ. Monit. Assess. – 2001. – Vol. 68. – P. 75–89.

*О.М.Арсан, І.Н.Коновец, В.О.Арсан, Ю.М.Ситник, М.А.Миронюк, І.Г.Кукля*

Институт гидробиологии НАН Украины, Киев

Украинская лаборатория качества и безопасности продукции АПК Национального университета биоресурсов и природопользования Украины, Киев

ДИНАМИКА СОДЕРЖАНИЯ СВИНЦА, ПИРУВАТА, ЛАКТАТА И СООТНОШЕНИЯ СВОБОДНЫХ НАД-ПАР В ТКАНЯХ БЕЛОГО АМУРА ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ИОНОВ СВИНЦА ВОДНОЙ СРЕДЫ

Исследовали влияние ионов свинца в концентрации 500 мкг/дм<sup>3</sup> (5 ПДК рыбохозяйственных) на его накопление и содержание пирувата, лактата и соотношение свободных НАД-пар в тканях белого амура при различной температуре (20 и 26°C) водной среды и периода адаптации к таким условиям (7 и 14 суток). Ионы свинца в зависимости от периода экспозиции и температуры водной среды приводят к перестройке окислительно-восстановительных реакций в организме рыб, в результате чего изменяется функционирование гликолиза и аэробных процессов в их тканях.

*О.М. Arsan, І.М. Konovets, V.O. Arsan, Ju.M. Sytnik, M.O. Mironiuk, I.G. Kuklia*

Institute of Hydrobiology NAS of Ukraine, Kyiv

Ukrainian Laboratory of Products Quality and Safety of AIC, National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv

DYNAMIC OF LEAD, PYRUVATE AND LACTATE CONTENTS AND FREE NAD PAIRS RATIO IN THE TISSUES OF GRASS CARP UNDER EFFECT OF LEAD IONS OF AQUATIC ENVIRONMENT

Effect of lead ions in concentration 500 mkg/l (5 fisheries maximum permissible limits) on contents of pyruvate and lactate, and free NAD pairs ratio in the tissues of grass carp under different temperatures of water (20 and 26°C) and exposition (7 and 14 days) was studied. It is shown that depending of temperature and period lead exposure modifies passing of redox reactions in fish organism and leads to changes in glycolysis and aerobic respiration in tissues.

Рекомендує до друку

Надійшла 26.01.2011

В.В. Грубінко