

АКТИВНІСТЬ ПРО- І АНТИОКСИДАНТНИХ СИСТЕМ У ПЕЧІНЦІ ПРІСНОВОДНИХ РИБ У РІЗНІ ПОРИ РОКУ

Н. П. ОЛЕКСЮК, В. Г. ЯНОВИЧ

Інститут біології тварин НААН України, Львів;
e-mail: nadia_oleksiuk@ukr.net

Досліджено вміст продуктів пероксидного окислення ліпідів – дієнових кон'югатів, гідропероксидів ліпідів, продуктів, що взаємодіють із тіобарбітуровою кислотою (ТБК-активних продуктів), вітамінів А, Е і каротиноїдів та активність антиоксидантних ензимів – супероксиддисмутази, глутатіонпероксидази і каталази у печінці прісноводних риб різних видів (білого товстолобика, білого амура і коропа) у різні пори року. Встановлено, що активність системи антиоксидантного захисту в печінці риб значною мірою залежить від сезону і виду риб. Зокрема, вміст продуктів пероксидного окислення ліпідів у печінці риб, що досліджували на початку зимового і весняного періодів значно більший, порівняно до вмісту їх на початку літнього і осіннього періодів. В той самий час активність супероксиддисмутази і глутатіонпероксидази в печінці риб на початку зимового і весняного періодів значно нижча, ніж на початку літнього і осіннього періодів, тоді як сезонні зміни активності каталази при цьому виражені незначною мірою. Вміст вітамінів Е, А₁ і А₂ та каротиноїдів у печінці риб всіх видів на початку зимового та весняного періодів значно менший, ніж на початку літнього і осіннього періодів. Утім, вміст продуктів пероксидного окислення ліпідів та вітамінів Е, А₁ і А₂ у печінці коропа значно менший, ніж у печінці білого товстолобика і білого амура, а видові різниці активності антиоксидантних ензимів відносно невеликі.

Ключові слова: пероксидне окислення ліпідів, антиоксидантні ензими, вітаміни А і Е, каротиноїди, короп, білий товстолобик, білий амур, сезонні зміни, печінка.

У процесі еволюції в організмі риб, так само як у теплокровних тварин, виникли біохімічні механізми, котрі захищають поліненасичені жирні кислоти (ПНЖК) у фосфоліпідах клітинних мембран від деструктивної дії активних форм кисню (АФК), що утворюються в мітохондріях внаслідок аеробного метаболізму [1–4]. До цих механізмів, з одного боку, належить дія антиоксидантних ензимів: супероксиддисмутази (СОД), глутатіонпероксидази (ГП) і каталази (КТ). З іншого боку, від деструктивної дії АФК мембрани клітин захищають ендogenous і екзогенні антиоксиданти: вітаміни А, Е і каротиноїди [1–4]. На інтенсивність вільнорадикальних процесів у клітинах організму риб значною мірою впливають сезонні фактори, з якими пов'язана гіпоксія, зменшення споживання рибами природних антиоксидантів та зниження активності антиоксидантних ензимів у зимовий період [4–7]. Разом з цим, на інтенсивність пероксидних процесів у клітинах риб істотно впливає вміст у фосфоліпідах мембран поліненасичених жирних кислот, кількість яких збільшується у зимовий період [8], а також значною мірою залежить від видових особливостей їхнього жив-

лення і складу ліпідів кормів [9–11]. Зокрема, короп споживає зообентос і штучні корми, ліпіди яких характеризуються високим вмістом лінолевої кислоти [9]. Основним кормом білого товстолобика є фітопланктон, ліпіди якого містять значну кількість поліненасичених жирних кислот – ейкозапентаєнової і докозагексаєнової [10], а білий амур споживає вищу водну рослинність, ліпіди якої містять велику кількість лінолевої і ліноленової кислот [11]. Інтенсивність пероксидного окислення ліпідів у клітинних мембранах тканин риб прямо залежить від ступеня ненасиченості жирних кислот у складі мембранних фосфоліпідів [4, 8]. У зв'язку з наведеними даними, метою роботи було дослідження впливу сезону на інтенсивність пероксидних процесів і активність ензимної і неензимної ланок антиоксидантної системи в печінці трьох видів прісноводних риб – коропа (*Cyprinus carpio* L.), білого товстолобика (*Hypophthalmichthys molitrix*) і білого амура (*Stenopharyngodon idella*), які суттєво відрізняються між собою типом живлення і метаболізмом ненасичених жирних кислот. Значені питання в літературі не висвітлено.

Матеріали і методи

Досліджували зразки печінки трьох видів прісноводних риб дворічного віку масою 450–500 г: коропа, білого товстолобика і білого амура, які вирощувалися в дослідних ставках Львівського відділення Інституту рибного господарства УААН у смт. Великий Любінь Городоцького району Львівської області в різні пори року: на початку весняного (у березні), літнього (у червні), осіннього (у вересні) і зимового (у грудні) періодів ($n = 4$).

Зразки печінки після декапітації риб заморожували і зберігали в рідкому азоті до початку досліджень. Заморожені зразки печінки розтирали у рідкому азоті і готували гомогенат шляхом додавання розтертої у дрібний порошок тканини до фізрозчину у співвідношенні 1 : 10. Гомогенати центрифугували 15 хв при 3000 об/хв і одержували супернатант, який використовували у подальших дослідженнях. Вміст протеїну в ньому визначали методом Лоурі [12].

Для визначення вмісту дієнових кон'югатів до 0,2 мл гомогенату тканини додавали 1,8 мл суміші *n*-гептану та ізопропілового спирту у співвідношенні 1 : 1, струшували і залишали в закритих пробірках на 15 хв, після чого центрифугували при 6000 об/хв протягом 10 хв. Супернатант відбирали у пробірки, в які попередньо вносили по 2 краплі води. Одержану гептанову фазу в кількості 0,5 мл змішували з 2,0 мл етанолу і вимірювали абсорбцію при $\lambda = 233$ нм проти контролю, що містив 0,5 мл *n*-гептану і 2,0 мл етанолу. Концентрацію дієнових кон'югатів у зразку визначали, використовуючи коефіцієнт молярної екстинції $103 \text{ мкмоль}^{-1}\cdot\text{мл}^{-1}$ і виражали в нмоль/г тканини [13].

Вміст гідропероксидів ліпідів у гомогенаті тканини визначали за методом, принцип якого полягає в осадженні протеїну трихлороцтовою кислотою (ТХО) з наступним внесенням у середовище тіоціанату амонію [14]. До 0,2 мл гомогенату тканини додавали 2,8 мл етанолу та 0,05 мл 50%-го розчину ТХО і струшували протягом 5 хв. Відбирали 1,5 мл супернатанту і до нього додавали 1,2 мл етанолу, 0,02 мл концентрованої HCl , 0,03 мл 1%-го розчину солі Мора в 3%-му розчині HCl , струшували і через 30 с додавали 0,2 мл 20%-го розчину тіоціанату амонію. Абсорбцію вимірювали при $\lambda = 480$ нм. Вміст гідропероксидів ліпідів визначали за різницею між дослідним зразком і контролем, в який замість гомогенату тканини додавали відповідну кількість бідистильованої води. Концентрацію гідропероксидів ліпідів

виражали в умовних одиницях на 1 г тканини (ум. од./г).

Концентрацію ТБК-активних продуктів у гомогенатах тканин вимірювали за допомогою кольорової реакції малонowego діальдегіду (МДА) з тіобарбітуровою кислотою (ТБК) в умовах високої температури і кислого середовища, що приводить до утворення триметинового комплексу, котрий містить одну молекулу МДА і дві молекули ТБК [15]. Для осадження протеїнів до 1 мл гомогенату тканини додавали 4,5 мл 20%-ої фосфорновольфрамкової кислоти і осад, що утворився, центрифугували при 2500 об/хв протягом 15 хв. Надосадову рідину зливали, а до осаду додавали 1,0 мл 0,8%-го розчину ТБК і витримували протягом 1 год на водяній бані при температурі 100°C . Після цього пробірки охолоджували і центрифугували протягом 10 хв при 6000 об/хв. В одержаному центрифугаті вимірювали абсорбцію при 535 і 580 нм проти контрольної проби, яка замість гомогенату містила бідистильовану воду. Дворазове вимірювання абсорбції дозволяє виключити поглинання забарвлених комплексів ТБК речовинами неліпідної природи. Концентрацію ТБК-активних продуктів у зразку виражали в нмоль МДА на грам тканини, використовуючи коефіцієнт молярної екстинції утвореного комплексу, який дорівнює $0,156 \text{ мкмоль}^{-1}\cdot\text{мл}^{-1}$.

Активність СОД визначали за методом [16], принцип якого полягає у відновленні нітротетразолію супероксидними радикалами, які утворюються в реакції між феназинметасульфатом і відновленою формою нікотинаміддинуклеотиду (NADH). Утворення нітроформа-зону, продукту відновлення нітротетразолію, блокується СОД. Для усунення впливу гемоглобіну до 0,2 мл гомогенату тканини додавали 0,5 мл етанолу і 0,3 мл хлороформу, інтенсивно перемішували та центрифугували протягом 15 хв при 7000 об/хв. Далі до 0,1 мл супернатанту додавали 0,1 мл 1 мкМ розчину ЕДТА, 0,1 мл 1%-го розчину желатину, 0,1 мл $1,8 \text{ мкМ}$ розчину феназинметасульфату, 0,1 мл $0,4 \text{ мкМ}$ розчину нітротетразолію синього і 0,1 мл $1,0 \text{ мМ}$ розчину NADH. Загальний об'єм суміші доводили $0,15 \text{ М}$ фосфатним буфером (рН 7,8) до 3,0 мл та інкубували при кімнатній температурі у темному місці впродовж 30 хв, після чого при $\lambda = 540$ нм вимірювали абсорбцію. У контрольний зразок замість гомогенату тканини вносили дистильовану воду. Активність СОД виражали в умовних одиницях на 1 мг протеїну супернатанту.

Активність ГП визначали за швидкістю окислення відновленого глутатіону (ВГ) до і

після інкубації з гідропероксидом третинного бутану (ГТБ) за допомогою кольорової реакції з 5,5-дитіобіс-2-нітробензойною кислотою (ДТНБК), внаслідок чого утворюється забарвлений продукт – тіонітрофенільний аніон (ТНФА) [17]. Кількість останнього прямо пропорційна кількості SH-груп, що прореагували з ДТНБК. 0,2 мл гомогенату тканин інкубували на водяній бані при 37 °С протягом 10 хв з 0,85 мл 4,8 мМ розчину ВГ, який готували в 0,1 М трис-НСІ буфері (рН 8,5), що містив 6 мМ розчин ЕДТА і 12 мМ розчин азиду натрію. Потім додавали 0,05 мл 20 мМ розчину ГТБ і ще раз інкубували протягом 5 хв. Реакцію зупиняли додаванням 0,4 мл 10%-го розчину ТХО, після чого осад центрифугували при 7000 об/хв протягом 10 хв. Далі до 0,1 мл супернатанту додавали 5 мл 0,1 М трис-НСІ буфера (рН 8,5), 0,1 мл реактиву Еллмана (0,01 М розчин ДТНБК на метанолі), перемішували і через 5 хв вимірювали абсорбцію зразка при $\lambda = 412$ нм. Активність ензиму виражали в мкмоль ВГ/хв на 1 мг протеїну.

Активність каталази визначали за допомогою здатності пероксиду водню утворювати із солями молібдену стійкий кольоровий комплекс [18]. Реакцію запускали додаванням 0,1 мл гомогенату тканини до 2 мл пероксиду водню. У холостий зразок вносили 0,1 мл дистильованої води. Реакцію зупиняли через 10 хв додаванням 1,0 мл 4%-го молібдату амонію. Інтенсивність забарвлення вимірювали при $\lambda = 410$ нм проти контрольного зразка, у який замість пероксиду водню додавали 2,0 мл дистильованої води. Активність ензиму виражали в нмоль H_2O_2 /хв на мг протеїну гомогенату тканини.

Вміст вітамінів А і Е у тканинах визначали методом високоефективної рідинної хроматографії на хроматографі «Милихром-4» (Научприбор, Росія) [19]. Для цього 0,5 г тканини розтирали в рідкому азоті, переносили у пробірки і додавали 2 мл 1,0 н спиртового розчину КОН, перемішували і проводили омилення на водяній бані при 80 °С протягом 30 хв під струменем азоту. Після охолодження до кімнатної температури кожен зразок екстрагували три рази, використовуючи 1 мл гексану. До одержаного екстракту додавали 1,5 мл дистильованої води і відстоювали 1 год для розшарування фаз. Верхню гексанову фазу застосовували для подальшого хроматографічного аналізу. Вміст вітаміну оцінювали прямо пропорційно площі піку з максимумом поглинання при $\lambda = 292$ нм (вітамін Е) та при $\lambda = 324$ нм (вітамін А). Концентрацію вітамінів визначали за калібрувальним графіком і виражали в мкг на 1 г тканини.

Вміст каротиноїдів у тканинах риб визначали шляхом обезводнення тканини сірчанокислим натрієм з подальшою екстракцією їх петролейним ефіром з наступним колориметруванням при $\lambda = 450$ нм [20]. Для цього 1 г тканини риб розтирали з 5,0 г безводного сірчанокислого натрію. Суміш переносили у колбу, додавали 10 мл петролейного ефіру, після чого струшували на шейкері протягом 5 хв. Далі колби ставили у темне місце на 1 год. Одержаний екстракт декантували у нову колбу і фільтрували через паперовий фільтр. Залишок у першій колбі ще 2 рази промивали петролейним ефіром, щоразу збовтуючи її вміст. Кожну порцію екстракту фільтрували в колбу. Пізніше вимірювали загальний об'єм екстракту і його абсорбцію при $\lambda = 450$ нм проти петролейного ефіру. Концентрацію каротиноїдів визначали за калібрувальним графіком і виражали в мкг на 1 г тканини.

У дослідженнях використовували NADH, феназинметасульфат, відновлений глутатіон та 5,5-дитіобіс-2-нітробензойну кислоту (Acros Organics, Бельгія), нітротетразолій синій (ДиаМ, Росія), гідропероксид третинного бутану, ретинол і токоферол (Fluka, Німеччина). Всі інші реактиви були вітчизняного виробництва кваліфікації чда.

Одержані цифрові дані обробляли статистично за допомогою програми Microsoft EXCEL. Для визначення вірогідних відмінностей між середніми величинами використовували критерій Стьюдента.

Результати та обговорення

Із наведених даних на рис. 1–3 видно, що вміст всіх продуктів ПОЛ – дієнових кон'югатів, гідропероксидів ліпідів і ТБК-активних продуктів у печінці риб всіх видів у літній період був найменший. В осінній період їхній вміст у печінці рослиноїдних риб (білого товстолобика і білого амура) більший або суттєво не змінюється, а в печінці коропа – менший (за винятком дієнових кон'югатів) порівняно до їхнього вмісту в літній період. Вміст всіх продуктів ПОЛ, особливо дієнових кон'югатів і ТБК-активних продуктів, у печінці всіх видів риб у зимовий період значно більший, ніж в осінній період ($P < 0,05$). Винятком є тільки відсутність вірогідної різниці у вмісті дієнових кон'югатів у печінці коропа в зимовий період порівняно з осіннім. Ці дані свідчать про різке посилення пероксидних процесів у печінці риб у зимовий період, що можна пояснити виявленим нами зниженням активності антиоксидантних ензимів і зменшенням вмісту вітамінів А,

Е і каротиноїдів. Крім того, у зимовий період посилення пероксидних процесів у печінці риб ініціює гіпоксія [21], а також, мабуть, впливає зменшення продукції гормону мелатоніну в гіпофізі. Відомо, що мелатонін уловлює вільні радикали (супероксидний аніон, гідропероксид водню, синглетний кисень, оксид азоту та інші) і бере участь у регуляції активності антиоксидантних ензимів та регуляції сезонних і циркадних ритмів в організмі тварин [22, 23].

Вміст майже всіх продуктів ПОЛ у печінці всіх видів риб у весняний період суттєво не відрізняється від їхнього вмісту в зимовий період. Виняток становить лише менший вміст гідропероксидів ліпідів у печінці коропа ($P < 0,002$) і вміст ТБК-активних продуктів у печінці білого товстолобика ($P < 0,001$). З огляду на ці дані видно, що висока інтенсивність пероксидних процесів у печінці риб всіх видів спостерігається також у весняний період, що зумовлено негативним впливом факторів, згаданих вище. У літній період вміст продуктів ПОЛ у печінці риб всіх видів значно менший, ніж у зимовий і весняний періоди ($P < 0,01$) і залишається на такому рівні на початку осіннього періоду, що можна пояснити підвищенням активності антиоксидантних ензимів та вмісту вітамінів А, Е і каротиноїдів.

Звертає на себе увагу рис. 1, 3 значно більший вміст дієнових кон'югатів і ТБК-активних продуктів у печінці білого товстолобика у всі пори року, порівняно до їхнього вмісту у печінці риб інших видів, особливо коропа. Це можна пояснити особливостями живлення білого товстолобика, який споживає фітопланктон, ліпіди якого характеризуються високим вмістом ейкозапентаєнової ($C_{20:5}$) і докозагексаєнової ($C_{22:5}$) кислот, котрі більшою мірою піддаються пероксидному окисленню, ніж лінолева ($C_{18:2}$) і ліноленова ($C_{18:3}$) кислоти, які споживають з кормом коропа і білий амур [10]. Наявні в літературі дані свідчать про пряму залежність між вмістом цих ПНЖК у ліпідах корму і тканинах риб [24].

Активність ключових ензимів антиоксидантної системи СОД і ГП у печінці білого амура і коропа у літній період значно вища, ніж в осінній період ($P < 0,01$), тоді як у печінці білого товстолобика найвищу активність обох ензимів виявлено в осінній період (рис. 4, 5). У зимовий період активність СОД і ГП у печінці риб всіх видів значно нижча ($P < 0,05$), ніж в осінній період, а активність ГП у весняний період значно нижча ($P < 0,001$), ніж у зимовий період. Можна припустити, що виявлене нами збільшення вмісту продуктів ПОЛ у печін-

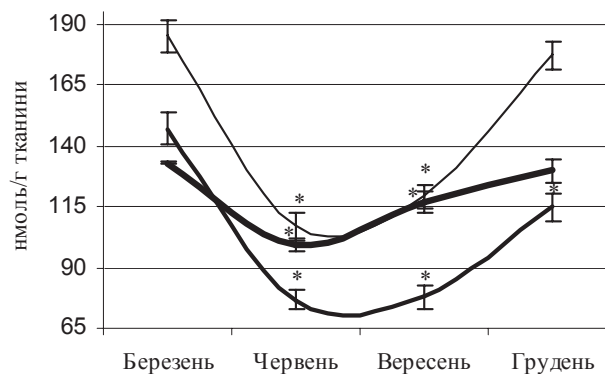


Рис. 1. Вміст дієнових кон'югатів у печінці ставових риб у різні пори року, ($M \pm m$, $n = 4$). Тут і на рис. 2–10: — Білий товстолобик; — Білий амур; — Короп. Тут і на рис. 2, 3, 5–10 * $P < 0,05$ по відношенню до березня

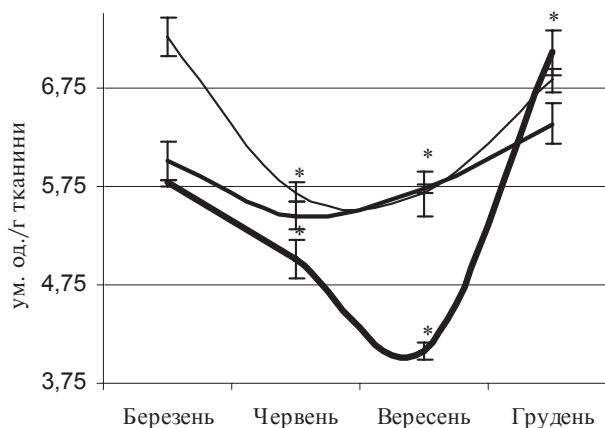


Рис. 2. Вміст гідропероксидів ліпідів у печінці ставових риб у різні пори року, ($M \pm m$, $n = 4$)

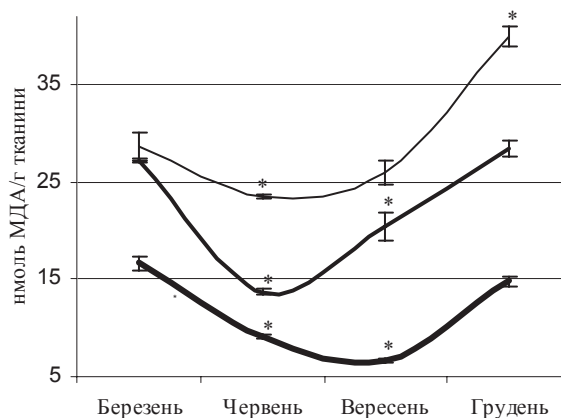


Рис. 3. Вміст ТБК-активних продуктів у печінці ставових риб у різні пори року, ($M \pm m$, $n = 4$)

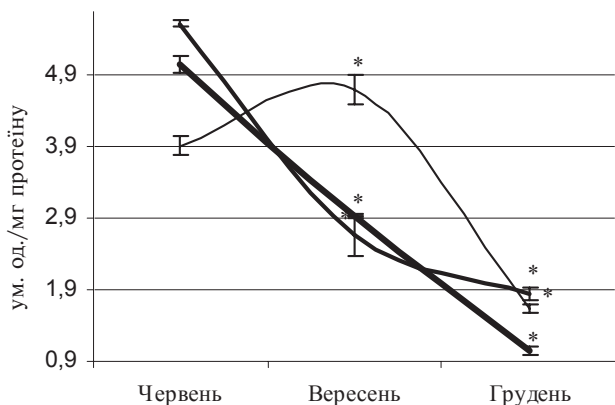


Рис. 4. Активність СОД у печінці ставових риб у різні пори року, ($M \pm t$, $n = 4$). * $P < 0,05$ по відношенню до даних, одержаних у червні

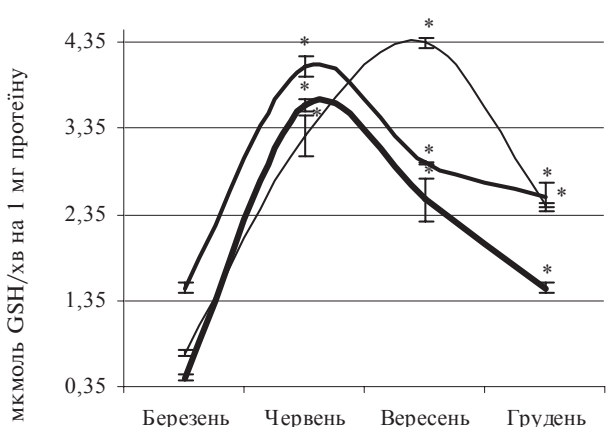


Рис. 5. Активність ГП у печінці ставових риб у різні пори року, ($M \pm t$, $n = 4$)

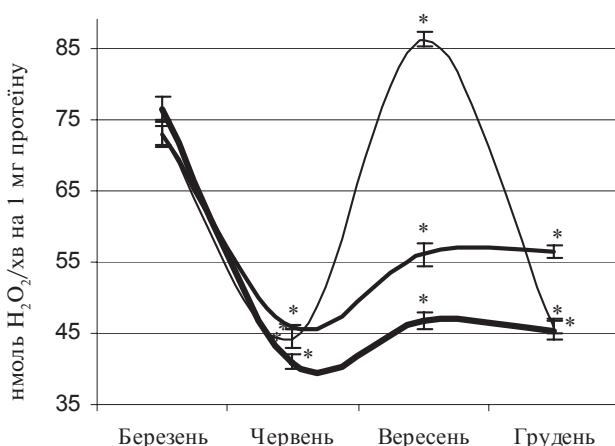


Рис. 6. Активність КТ у печінці ставових риб у різні пори року, ($M \pm t$, $n = 4$)

ці риб усіх видів як у зимовий, так і у весняний період зумовлено зниженням активності ключових ензимів системи антиоксидантного захисту – СОД і ГП. Причиною цього може бути, з одного боку, зменшення субстратного забезпечення синтезу протеїнів у печінці риб у зимовий період і зниження продукції мелатоніну в гіпофізі, що впливає на синтез антиоксидантних ензимів у різних тварин [22, 23].

Також встановлено, що на відміну від СОД і ГП, активність КТ у печінці риб усіх видів в осінній період вища ($P < 0,05$), ніж у літній період і залишається на такому самому рівні (за винятком активності каталази у печінці білого товстолобика) також у зимовий період. В той же час активність КТ у риб усіх видів у весняний період значно вища, ніж у зимовий і літній. Загалом, активність КТ у печінці всіх видів риб протягом річного циклу вирощування змінюється значно менше, ніж активність СОД і ГП, а зміни їхньої активності у весняний період, порівняно до зимового періоду, протилежні за напрямом.

Як видно, на рис. 5–6 активність ГП і КТ у печінці коропа впродовж року значно нижча (за винятком весняного періоду), ніж у печінці білого товстолобика і білого амура, проте істотної видової різниці у вмісті продуктів ПОЛ при цьому не виявлено, що можна пояснити меншим вмістом ПНЖК n-3 (ейкозапентаєнової і докозагексаєнової) в ліпідах печінки коропа, ніж у печінці білого товстолобика і білого амура [24].

Найвищий вміст вітамінів A_1 , A_2 , E, а також каротиноїдів у печінці ставових риб виявлено в осінній період (рис. 7–10). У зимовий і особливо у весняний періоди вміст вітамінів A_1 , A_2 , E і каротиноїдів у печінці риб усіх видів є значно меншим, ніж в осінній період ($P < 0,01$). Ці дані свідчать про накопичення вітамінів A_1 , A_2 , E, а також каротиноїдів у печінці прісноводних риб протягом літнього періоду і поступове використання їх у метаболічних процесах, насамперед у знешкодженні вільних радикалів і запобіганні їх утворення, протягом осіннього і зимового періодів. В цей самий час найбільш істотно в печінці риб зменшується вміст каротиноїдів, які є пасткою для активних форм кисню, особливо для супероксидного аніону і синглетного кисню [25, 26]. Іншою причиною зменшення вмісту каротиноїдів у печінці риб протягом зимового періоду може бути їхнє перетворення у вітамін A [27].

На підставі одержаних результатів можна вважати, що причиною високого рівня продуктів ПОЛ у печінці ставових риб у зимовий

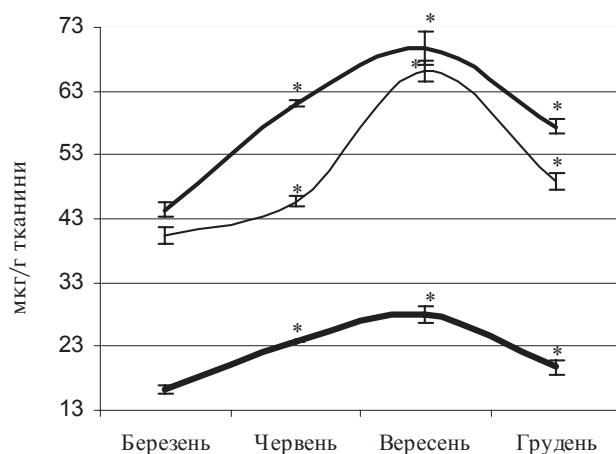


Рис. 7. Вміст вітаміну E у печінці ставових риб у різні пори року, ($M \pm m$, $n = 4$)

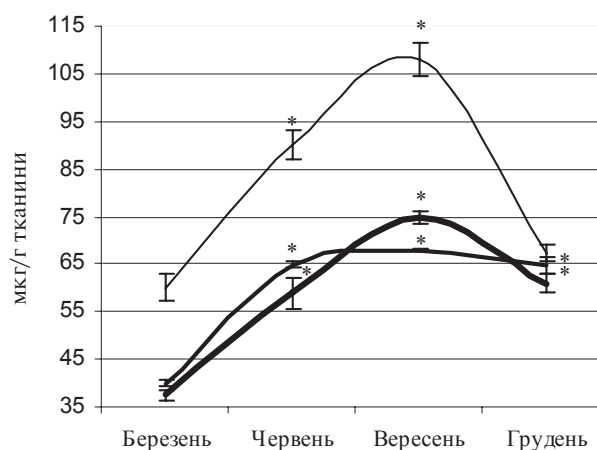


Рис. 8. Вміст вітаміну A₁ у печінці ставових риб у різні пори року, ($M \pm m$, $n = 4$)

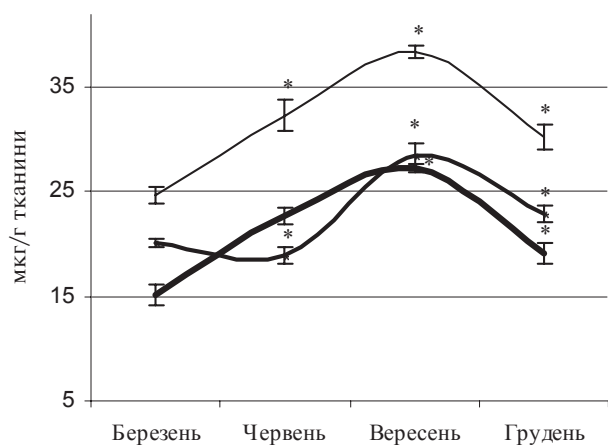


Рис. 9. Вміст вітаміну A₂ в печінці ставових риб у різні пори року, ($M \pm m$, $n = 4$)

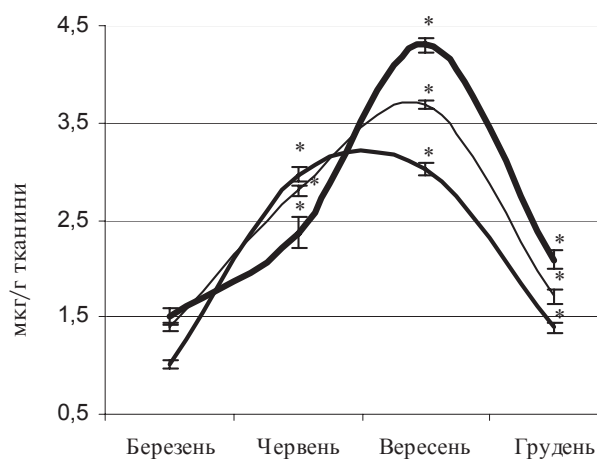


Рис. 10. Вміст каротиноїдів у печінці ставових риб у різні пори року, ($M \pm m$, $n = 4$)

і весняний періоди є, з одного боку, зниження активності антиоксидантних ензимів (СОД, ГП), з другого – зменшення вмісту вітамінів A₁, A₂, E і каротиноїдів, а з третього – зменшення продукції мелатоніну у гіпофізі.

Вміст вітаміну E у печінці коропа впродовж року значно менший (у 2–2,5 раза), ніж у печінці білого товстолобика і білого амура. Меншою мірою аналогічну різницю виявлено також у вмісті вітамінів A₁ і A₂ в печінці коропа, порівняно до їхнього вмісту в печінці білого товстолобика, що можна пояснити споживанням рослинними рибами кормів з підвищеним вмістом каротиноїдів, які є по-

передником вітаміну A. Проте це істотно не впливає на вміст продуктів ПОЛ у печінці коропа, порівняно до вмісту їх у печінці білого товстолобика і білого амура, що свідчить про високу ефективність дії антиоксидантних ензимів у печінці коропа.

Таким чином, одержані результати свідчать про вплив сезонних факторів та про вплив видових особливостей антиоксидантної системи риб, на інтенсивність пероксидних процесів і активність ензимної і неензимної ланок антиоксидантної системи в печінці прісноводних риб, що залежить від типу їхнього живлення і жирнокислотного складу ліпідів корму.

**АКТИВНОСТЬ ПРО- И
АНТИОКСИДАНТНЫХ СИСТЕМ
В ПЕЧЕНИ ПРЭСНОВОДНЫХ РЫБ
В РАЗНЫЕ ВРЕМЕНА ГОДА**

Н. П. Олексюк, В. Г. Янович

Институт биологии животных
НААН Украины, Львов;
e-mail: nadia_oleksiuk@ukr.net

Исследовано содержание продуктов перексидного окисления липидов — диеновых конъюгатов, гидропероксидов липидов и продуктов, которые взаимодействуют с тиобарбитуровой кислотой (ТБК-активных продуктов), витаминов А, Е и каротиноидов, а также активности антиоксидантных энзимов — супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы и каталазы печени пресноводных рыб (белого толстолобика, белого амура и карпа) в разные времена года. Показано, что система антиоксидантной защиты в печени рыб в значительной степени зависит от сезона и вида рыб. Установлено, что содержание продуктов перексидного окисления липидов в печени исследуемых видов рыб в зимний и весенний периоды значительно больше по сравнению с их содержанием в летний и осенний периоды. Активность супероксиддисмутазы и глутатионпероксидазы в печени рыб в зимний и весенний периоды значительно ниже, чем в летний и осенний периоды, тогда как сезонные изменения активности каталазы при этом выражены в меньшей степени. Содержание витаминов Е, А₁, А₂ и каротиноидов в печени рыб в зимний и весенний периоды значительно меньше, чем в летний и осенний периоды. Содержание продуктов перексидного окисления липидов и витаминов Е, А₁, А₂ в печени карпа значительно меньше, чем в печени белого толстолобика и белого амура, а видовое различие в активности антиоксидантных энзимов относительно невелико.

Ключевые слова: перексидное окисление липидов, антиоксидантные энзимы, витамины А и Е, каротиноиды, карп, белый толстолобик, белый амур, сезонные изменения, печень.

**THE ACTIVITY OF PRO- AND
ANTIOXIDANT SYSTEMS IN THE
LIVER OF FRESHWATER FISHES
IN DIFFERENT SEASONS**

N. P. Oleksiuk, V. G. Yanovych

Institute of Animal Biology, National Academy
of Agrarian Sciences, Lviv, Ukraine;
e-mail: nadia_oleksiuk@ukr.net

S u m m a r y

The content of lipid peroxidation products — diene conjugates, lipid hydroperoxides, thiobarbituric acid reactive substances (TBARS), vitamins A, E and carotenoids and the activity of antioxidant enzymes — superoxide dismutase, glutathione peroxidase and catalase in the liver of freshwater fishes of different species (silver carp, grass carp and common carp) in different seasons have been studied. It was established the activity of antioxidant defence system in the liver of fish depends significantly on the season and fish species. In particular, the content of lipid peroxidation products in the liver of freshwater fishes at the beginning of winter and spring was significantly higher compared to their content at the beginning of summer and autumn. The superoxide dismutase and glutathione peroxidase activities in the liver of these fish species at the beginning of winter and spring were significantly lower than at the beginning of summer and autumn while the seasonal changes of catalase activity in the liver of fish are expressed insignificantly. The content of vitamins E, A₁, A₂ and carotenoids in the liver of fishes of different species at the beginning of winter and spring was significantly lower than at the beginning of summer and autumn. The content of lipid peroxidation products and vitamins E, A₁ and A₂ in the liver of common carp is significantly lower than in the liver of silver carp and grass carp and species differences in antioxidant enzymes activity are insignificant.

Key words: lipid peroxidation, antioxidant enzymes, vitamins A and E, carotenoids, common carp, silver carp, grass carp, season, liver.

1. Halliwell B., Gutteridge J. M. C. Free radicals in biology and medicine. N. Y.: Oxford University Press. – 1999. – 968 p.
2. Storey K. B. // Braz. J. Medic. Biol. Res. – 1996. – 29, N 12. – P. 1715–1733.
3. Filho W. D., Torres M. A., Marcon J. L. et al. // Trends Comp. Biochem. Physiol. – 2000. – 7, N 1. – P. 33–45.
4. Martines-Alvarez R. M., Morales A. E., Sanz A. // Rev. Fish Biol. Fish. – 2005. – 15, N 1. – P. 75–88.
5. Filho W. D., Torres M. A., Tribess T. B. et al. // Braz. J. Medic. Biol. Res. – 2001. – 34, N 6. – P. 719–726.
6. Грубинко В. В., Леус Ю. В. // Гидробиол. журн. – 2001. – 37, № 1. – С. 64–78.
7. Gabrielak T., Piatrowska M., Leyko W., Peres G. // Comp. Biochem. Physiol. C. – 1983. – 75, N 3. – P. 383–385.
8. Olsen R. E., Løvaas E., Lie Ø. // Fish Physiol. Biochem. – 1999. – 20, N 1. – P. 13–29.
9. Блага О. М., Рівіс Й. Ф. // Науково-технічний бюлетень Інституту біології тварин УААН, ДНДКІ ветпрепаратів та кормових добавок. – 2006. – Вип. 7, № 1–2. – С. 201–205.
10. Блага О. М., Рівіс Й. Ф. // Наук. вісник Львівської нац. акад. вет. медицини ім. С. З. Гжицького. – 2006. – 8, № 2, Ч. 2. – С. 3–7.
11. Блага О. М., Рівіс Й. Ф. // Міжвідом. темат. наук. зб. – 2006. – Вип. 65. – С. 152–156.
12. Lowry O. H., Rosenbrough N. J., Farr A. L., Randall R. // J. Biol. Chem. – 1951. – 193, N 1. – P. 265–275.
13. Стальная И. Д. Определение диеновых конъюгатов: Современные методы в биохимии / Под ред. В. Н. Ореховича. – М: Медицина, 1977. – С. 63–64.
14. А. с. № 1084681 СССР, МКИ G № 33/48. Способ определения гидроперекисей липидов в биологических тканях / Мирончик В. В. (СССР). – № 3468369/28-13; заявл. 08.07.82 ; опубл. 07.04.84, Бюл. № 13.
15. Коробейникова Є. Н. // Лаб. дело. – 1989. – № 7. – С. 8–9.
16. Дубинина Е. Е., Сальникова Л. Я., Ефимова Л. Ф. // Там же. – 1983. – № 10. – С. 30–33.
17. Моин В. М. // Там же. – 1986. – № 12. – С. 724–727.
18. Королюк М. А., Иванова Л. И., Майорова И. Г., Токарев В. Е. // Там же. – 1988. – № 1. – С. 16–18.
19. Олексюк Н. П., Левківська Л. Г., Денис Г. Г., Салига Ю. Т. Визначення вітамінів А і Е у біологічних матеріалах і кормах методом високоефективної рідинної хроматографії. Методичні рекомендації. – Львів, 2007. – 20 с.
20. Паєнок С. М., Гусак Я. С. Вітаміни в тваринництві. Довідник. – Львів: Каменяр, 1988. – 158 с.
21. Lushchak V. I., Bagnyukova T. V., Lushchak O. V. et al. // Int. J. Biochem. Cell Biol. – 2005. – 37, N 6. – P. 1319–1330.
22. Tan D. X., Manchester L. C., Reiter R. J. et al. // Biol. Signals Recept. – 2000. – 9, N 3–4. – P. 137–159.
23. Hardeland R., Pandi-Perumal S. R. // Nutr. Metab. – 2005. – 2, N 22. – P. 1–15.
24. Блага О. М. // Рибогосподарська наука України. – 2008. – Вип. 1. – С. 49–56.
25. Shimidzu N., Goto M., Miki W. // Fish. Sci. – 1996. – 62, N 1. – P. 134–137.
26. Kiokias S., Gordon M. H. // Food Rev. Intern. – 2004. – 20, N 2. – P. 99–121.
27. Куртяк Б. М., Янович В. Г. Жиророзчинні вітаміни у ветеринарній медицині і тваринництві. – Л.: Тріада плюс, 2004. – 426 с.

Отримано 19.03.2010