

УДК 546.30:(597.554.3+564.141):577.152.2

В.О. ХОМЕНЧУК, к. б. н, доц.,

Тернопільський національний педагогічний університет ім. В. Гнатюка,
вул. М. Кривоноса, 2, Тернопіль, 46027, Україна
e-mail: khomenchuk@tnpu.edu.ua
ORCID 0000-0003-0500-6754

Р.Б. БАЛАБАН, к. б. н., ст. лаборант,

Тернопільський національний педагогічний університет ім. В. Гнатюка,
вул. М. Кривоноса, 2, Тернопіль, 46027, Україна
e-mail: poslannya@ukr.net
ORCID 0000-0002-6347-7581

Н.В. ГЕРЦ, к. б. н., доц.,

Тернопільський національний педагогічний університет ім. В. Гнатюка,
вул. М. Кривоноса, 2, Тернопіль, 46027, Україна
e-mail: herts_nv@chem-bio.com.ua
ORCID 0000-0002-3574-2288

В.З. КУРАНТ, д. б. н, проф.,

Тернопільський національний педагогічний університет ім. В. Гнатюка,
вул. М. Кривоноса, 2, Тернопіль, 46027, Україна
e-mail: kurant@tnpu.edu.ua
ORCID 0000-0002-3349-046X

ОСОБЛИВОСТІ ПРОЦЕСІВ ТРАНСАМІНУВАННЯ У ТКАНИНАХ КОРОПА ЛУСКАТОГО (*CYPRINUS CARPIO*) ТА ПЕРЛІВНИЦІ ЗВИЧАЙНОЇ (*UNIO PICTORUM*) ЗА ДІЇ ПІДВИЩЕНИХ КОНЦЕНТРАЦІЙ ІОНІВ МЕТАЛІВ У ВОДІ

*Досліджено роль процесів переамінування амінокислот у тканинах коропа лускатого (*Cyprinus carpio* L.) та перлівниці звичайної (*Unio pictorum* L.) у підтриманні гомеостазу метаболітів білкового обміну за дії 2 та 5 гранично допустимих концентрацій (ГДК) іонів Mn^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} та Pb^{2+} . Зміни показників активності аспартамінотрансферази (АсАТ) та аланінамінотрансферази (АлАТ) в організмі гідробіонтів за токсичного впливу мають видову специфіку, залежать від природи та концентрації металу у воді, тканинної та субклітинної локалізації ферментів.*

Дія обох досліджуваних концентрацій іонів усіх металів, за винятком купруму, викликала зростання активності мітохондріальної АсАТ у печінці та м'язах коропа. Вплив сублетальних концентрацій іонів Zn^{2+} , Cu^{2+} та Pb^{2+} також, в цілому, призводив до активації АсАТ у мітохондріях обох тканин молюсків. Активність АлАТ

Ц и т у в а н н я: Хоменчук В.О., Балабан Р.Б., Герц Н.В., Курант В.З. Особливості процесів трансамінування у тканинах коропа лускатого (*Cyprinus carpio*) та перлівниці звичайної (*Unio pictorum*) за дії підвищених концентрацій іонів металів у воді. *Гідробіол. журн.* 2023. Т. 59. № 1. С. 54—73.

у цитоплазматичній фракції м'язів та печінки гідробіонтів зростала за дії високих концентрацій (5 ГДК) усіх іонів металів та знижувалась за впливу 2 ГДК іонів Mn^{2+} , Zn^{2+} та Cu^{2+} . Зміни показників активності АлАТ у мітохондріях та АсАТ у цитоплазмі тканин як риб, так і молюсків за дії сублетальних концентрацій металів були різноспрямовані та, в основному, визначалися концентраційним чинником та природою металу.

Роль трансаміназ в адаптації водних тварин до дії іонів важких металів полягає у перерозподілі амінокислотних резервів з метою використання одних для детоксикації аміаку (глутамат, аспартат), інших (кетокислоти) — у енергетичних цілях для протидії стрес-чиннику. Зміни активності ферментів переамінування здатні інформативно відображати стан організму за впливу підвищених концентрацій іонів важких металів, слугувати характеристикою ступеня витривалості досліджених гідробіонтів до забруднення, а також можуть бути використані для прогнозування зміни біоценозів у районах забруднення важкими металами. Доступність матеріалу та легкість відбору й обробки проб робить цих тварин об'єктом, придатним для біоіндикації стану навколишнього водного середовища.

Ключові слова: короп лускатий, перлівниця звичайна, трансамінази, важкі метали.

Широке використання металів та їхніх сполук у промисловості та сільському господарстві сприяє їхньому надмірному надходженню у природні води. Особливу небезпеку становлять метали, які знаходять широке застосування у різних сферах виробничої діяльності людини, такі як цинк, купрум, манган, хром, нікель, плумбум тощо [6, 17, 18, 23]. Важкі метали, що включають есенціальні (незамінні) та неесенціальні (токсичні) елементи, є стійкими, можуть акумулюватися та передаватися у трофічних ланцюгах і викликати широкий спектр токсичних ефектів у гідробіонтів [30].

Манган є одним із важливих мікроелементів для риб, що тісно пов'язаний з метаболізмом амінокислот та білків. Метал діє як допоміжний фактор для ферментів (пептидаза, аргіназа), активує ферменти (кінази, трансферази, гідролази і декарбоксилази), входить до складу металоферментів (супероксиддисмутаза, каталаза) [11, 26].

Цинк є другим за вмістом після феруму мікроелементом в організмі тварин та входить до складу 10 % їхніх білків. Метал має високу здатність утворювати міцні, але легко обмінні та гнучкі зв'язки з органічними лігандами, включаючи білки та нуклеїнові кислоти. Цинк входить до каталітичного центру широкого спектру металоферментів, а третинна структура багатьох білків визначається атомами цинку [7, 16]. Незважаючи на важливу роль металу для організму, цинк викликає токсичний ефект, якщо в клітині є його надлишкова кількість [17].

Купрум бере участь у процесах тканинного дихання, кровотворення, сперматогенезу, не лише входить до складу ензимів, але і є активатором багатьох ферментних комплексів. Невисокі дози купруму, як правило, виявляють позитивний ефект, тоді як перевищення оптимальних концентрацій спричиняють різні паталогічні зміни в організмі [20, 29].

Плюмбум є неесенціальним, дуже токсичним для водних тварин металом. Біонакопичення плумбуму в тканинах риб викликає окислюваль-

ний стрес, порушення функціонування ферментів, нейро-, імуно- та гемотоксичні ефекти [21]. Дія металу призводить до структурних і функціональних порушень молекул ліпідів, білків та нуклеїнових кислот [14].

У багатьох випадках токсичний вплив металів обумовлений порушенням функціонування ферментних систем організму водних тварин, у тому числі тих, що беруть участь у метаболізмі білків та амінокислот [10, 19]. Показники активності ферментів також можуть слугувати біомаркерами як для оцінки стану організму гідробіонтів, так і для моніторингу водних об'єктів [8, 28].

Молюски та риби є основними об'єктами біомоніторингу, що пов'язано з їхньою поширеністю, стійкістю до забруднення, здатністю акумулювати органічні та неорганічні речовини, в тому числі і метали. У попередній роботі нами було проаналізовано роль глутаматдегідрогеназ тканин молюсків та риб у адаптації до дії підвищених концентрацій іонів металів [19]. Ферментні системи трансамінування також відіграють важливу роль в інтеграції білкового та енергетичного обміну водних тварин як у нормі, так і за токсичного стресу. Тому завданням дослідження стало вивчення впливу підвищених концентрацій іонів Mn^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} та Pb^{2+} на активність аспартатамінотрансферази (АсАТ) і аланінамінотрансферази (АлАТ) тканин риб та молюсків, визначення їхньої ролі у захисті організму від шкідливої дії токсикантів, а також аналіз можливості використання отриманих показників для оцінки ступеня забрудненості прісноводних водойм металами.

Матеріал і методика досліджень

Моделльні експерименти були проведені на коропах лускатих (*Cyprinus carpio* L.) та прісноводних молюсках (*Unio pictorum* L.), яких відбирали з р. Серет (урочище Залісці). Для дослідження використовували коропів дворічного віку масою 250—300 г та молюсків віком 6 років середньою довжиною 95 ± 5 мм і масою 82 ± 3 г. Тварини, відібрані для експерименту, були здорові, без видимих механічних пошкоджень та паразитів.

Дослідження проводили в акваріумах об'ємом 200 дм^3 , які заповнювали відстояною водопровідною водою, з підтриманням постійного газового і температурного режиму, який не відрізнявся від природного. Вміст кисню у воді акваріумів становив $7,0\text{—}8,0 \text{ мг/дм}^3$, вуглекислого газу — $2,2\text{—}2,8 \text{ мг/дм}^3$, загальна твердість — $6,1 \pm 0,1 \text{ ммоль/дм}^3$. Значення рН було близьким до $7,7\text{—}7,9$. Температура в акваріумах, в яких утримувались контрольні та піддослідні гідробіонти, становила $18 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$. Для уникнення впливу на тварин їхніх власних екзометаболітів воду в акваріумах міняли кожні дві доби. В процесі експерименту риб та молюсків не годували.

Досліджували вплив на гідробіонтів підвищених концентрацій іонів Mn^{2+} — $2,4$ і $6,0 \text{ мг/дм}^3$; Zn^{2+} — $2,0$ і $5,0 \text{ мг/дм}^3$; Cu^{2+} — $0,2$ і $0,5 \text{ мг/дм}^3$ та Pb^{2+} — $0,2$ і $0,5 \text{ мг/дм}^3$, що відповідали 2 та 5 гранично допустимим концентраціям — далі ГДК [1]. Інтотоксикації створювали внесенням в акваріумну

воду, де знаходилися дослідні групи тварин, солей $MnCl_2 \cdot 4H_2O$, $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$, $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ та $Pb(NO_3)_2$ класифікації х.ч. Для максимального прояву компенсаторно-адаптивних реакцій до металів аклімацію риб та моллюсків здійснювали протягом 14 діб. Після зазначеного терміну у коропа лускатого відбирали тканини білих м'язів спини та передньої долі печінки, у двостулкового моллюска — гепатопанкреас (далі печінка) та м'язову тканину ноги.

Перед виділенням субклітинних фракцій тканини гомогенізували в охолоджену розчині такого складу: 0,22 М сахароза, 10^{-4} М ЕДТА та 0,01 М тріс-НCl (рН 7,2) у співвідношенні 1 : 5. Ядра виділяли центрифугуванням при 2000—2500 обертів за хвилину протягом 20 хв. Осад ідентифікували як ядерну фракцію, а надосад зливали і центрифугували 30 хв. при 12 000 обертів за хвилину. Надосад використовували як цитоплазматичну фракцію, а осад, після ресуспендування в 1 мл 0,1 М калій-фосфатному буфері (рН 7,4), — як фракцію мітохондрій.

Аланін- та аспаратамінотрансферази (КФ 2.6.1.2 і 2.6.1.1) у фракціях тканин визначали колориметрично за Рейтманом і Франкелем [25]. Інкубаційна суміш містила 0,1 М калійно-фосфатний буфер (рН 7,4); 200 мМ DL-аланіну або DL-аспартату; 2 мМ α -кетоглутарату. До 1 мл суміші додавали 0,2 мл субстрату та інкубували 30 хв за температури 37 °С, після чого реакцію зупиняли 2,4-динітрофенілгідразином. Гідрозони кетокислот після інкубації екстрагували водонасиченим толуолом і фотометрували при 420 нм. Активність ферментів виражали в нмоль пірувату на мг білку за хвилину.

Загальний вміст білків у тканинах досліджуваних тварин визначали за методом Лоурі та ін. [22]. Отримані результати піддавали статистичному аналізу з використанням пакету STATISTICA 12.

Результати досліджень та їх обговорення

Одним з важливих показників обміну речовин у гідробіонтів за зміни умов навколишнього середовища є рівень активності ферментів, що беруть участь в адаптивних перебудовах. До них відносяться ферменти переамінування — аспартат- та аланінамінотрансферази. Активність АсАТ і АлАТ часто використовуюється в діагностиці пошкоджень у тканинах гідробіонтів, спричинених забруднювачами водного середовища [4, 12].

Манган. Аналіз отриманих результатів показав, що активність трансаміназ тканин м'язів та печінки за дії іонів Mn^{2+} змінюється по-різному залежно від концентрації іонів металу та виду гідробіонтів (рис. 1, 2). За підвищених концентраціях іонів Mn^{2+} у воді відмічено зростання його акумулювання в окремих органах і тканинах, що супроводжується токсичним стресом в організмі водних тварин в цілому [27].

Так, в цитоплазматичній фракції м'язів коропа лускатого активність АсАТ за концентрації іонів досліджуваного металу 2,4 мг/дм³ у воді зменшується порівняно з контролем на 51 %, тоді як за дії 6,0 мг/дм³ практично не змінюється. В мітохондріальній фракції м'язів риб відбулося зростання активності цього ферменту за впливу обох концентрацій іонів Mn^{2+} .

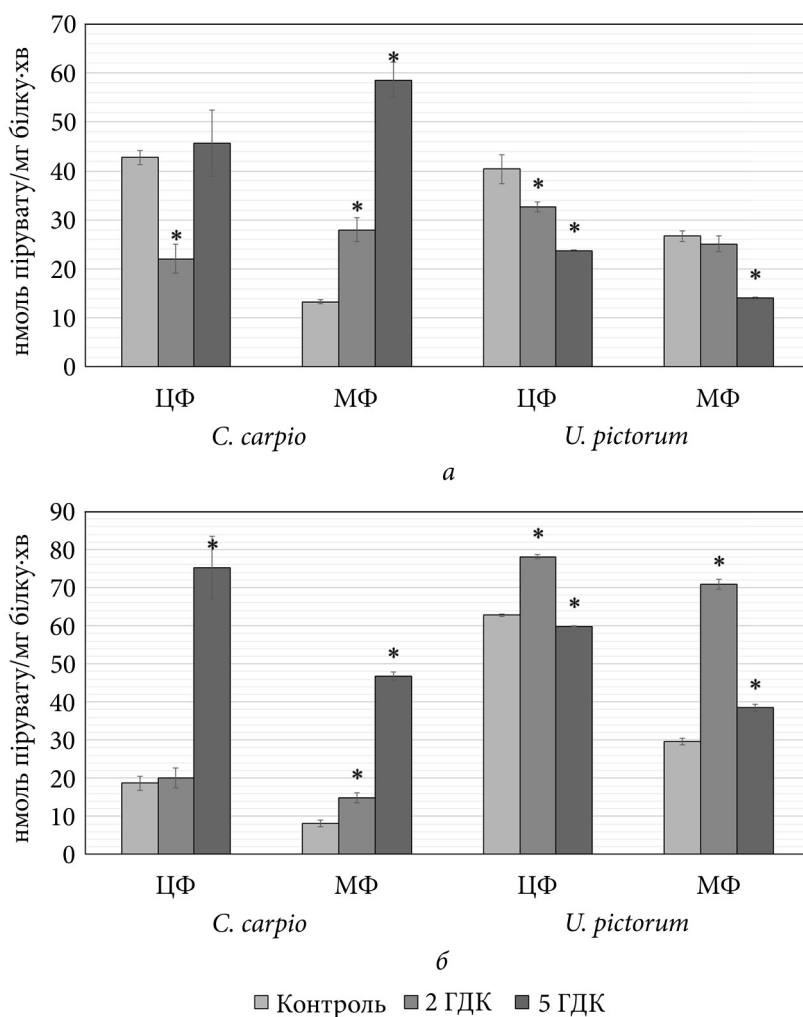


Рис. 1. Активність аспартатамінотрансферази в тканинах коропа та молюска за дії іонів Mn^{2+} ($M \pm m, n = 5$). Тут і на рис. 2—8: *а* — м'язи; *б* — печінка; ЦФ — цитоплазматична фракція; МФ — мітохондріальна фракція; * різниця щодо контролю достовірною ($p < 0,05$)

Так, за дії 2 ГДК активність ферменту зросла в 2,1 раза, а за 5 ГДК іонів металу — в 4,4 раза порівняно з контрольними величинами (див. рис. 1).

Така модуляція функціонування досліджуваного ферменту свідчить про значну роль мітохондріальної форми АсАТ у процесах адаптації коропа до високих концентрацій іонів Mn^{2+} . Манган має здатність до акумулювання в мітохондріях риб, де його концентрація вища порівняно з цитоплазмою, що також може сприяти активації процесів трансамінування [11]. Очевидно, трансаміназна система здійснює дезамінування амінокислот з метою використання їхніх вуглецевих скелетів як у енергетичних процесах, так і в перерозподілі азотних резервів організму.

У двостулкового молюска *Unio pictorum* за дії підвищених концентрацій іонів мангану активність АсАТ цитоплазматичної фракції м'язів також зменшується: за впливу 2 ГДК Mn^{2+} — на 20 % від контролю, а за впливу 5 ГДК металу у воді — на 48 %. Щодо активності мітохондріальної АсАТ у м'язах молюска, то за концентрації 2 ГДК вона практично не змінювалась, а при 5 ГДК іонів Mn^{2+} спостерігалось інгібування ферменту на 47 %.

Аналіз особливостей функціонування АсАТ у печінці коропа показав, що у цитоплазматичній фракції за впливу 2 ГДК іонів металу достовірних змін щодо контролю відмічено не було, тоді як за дії 5 ГДК іонів Mn^{2+} у воді спостерігалось збільшення рівня активності АсАТ у 4 рази. У мітохондріальній фракції печінки риб за дії 2 та 5 ГДК іонів металу активність АсАТ зростала відповідно у 1,8 та 5,7 рази. Такі зміни активності ферменту свідчать про важливе значення печінки у забезпеченні гомеостазу в організмі риб та зростання ролі процесів переамінування з участю АсАТ у детоксикації металу із зростанням його концентрації у воді.

За дії 5 ГДК іонів мангану в цитоплазматичній фракції печінки молюска активність АсАТ практично не змінювалась, в той час як за 2 ГДК іонів Mn^{2+} відмічено зростання активності ферменту на 20 %. У мітохондріальній фракції гепатоцитів активність досліджуваного ензиму в молюска зростала за впливу 2 ГДК у 2,4 раза, а за 5 ГДК — у 1,3 раза.

Іони мангану є порівняно слабким інгібітором метаболізму при інтоксикаціях, що, очевидно, пов'язано з тим, що вони є більш жорстким акцептором порівняно з Cu^{2+} , Zn^{2+} та Pb^{2+} і мають меншу здатність до взаємодії з м'якими донорами в організмі та до інактивації ферментів, особливо сульфур- та селенвмісних (у тому числі аспартатамінотрансфераз) [13].

Отже, в цілому відмічено зниження активності мітохондріальної та цитоплазматичної АсАТ у м'язах молюска за впливу іонів мангану, тоді як у коропа, навпаки, відмічено активацію мітохондріальної форми ферменту у м'язовій тканині, що може бути обумовлене як видовою специфікою досліджуваних тварин, так і субклітинною локалізацією ферменту. Дослідження рівня активності трансаміназ печінки показали, що у коропа та молюска дія іонів Mn^{2+} здебільшого призводила до збільшення активності АсАТ як у цитоплазматичній, так і в мітохондріальній фракціях.

Дія іонів мангану на активність АлАТ у м'язах коропа призводила до зростання активності ферменту в цитоплазматичній фракції за 5 ГДК на 78 % (див. рис. 2). У м'язах активація АлАТ за високих концентрацій металу, очевидно, пов'язана з активацією системи детоксикації аміаку, яка полягає у синтезі аланіну і спрямована на підтримку кислотно-лужного гомеостазу шляхом зв'язування аміаку піруватом. У роботі [24] показано, що дія цинку в концентрації 6 мг/дм³ викликала зростання активності лактатдегідрогенази, вмісту пірувату і лактату у м'язах та печінці *Cyprinus carpio*, що опосередковано може свідчити про активацію глюкозо-аланінового циклу.

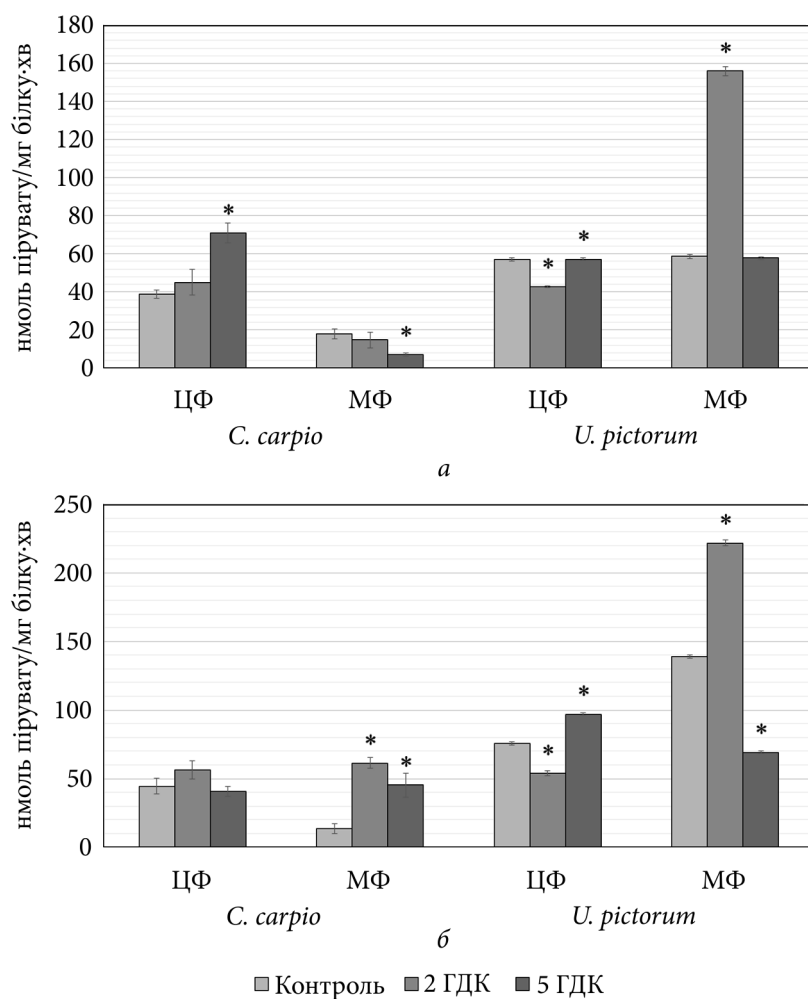


Рис. 2. Активність аланінамінотрансферази в тканинах коропа та молюска за дії іонів Mn^{2+} ($M \pm m$, $n = 5$)

У мітохондріальній фракції м'язів коропа активність АлАТ достовірно знижувалась лише за дії 5 ГДК іонів металу на 57 %. Зниження активності мітохондріальної АлАТ у м'язах за впливу високих концентрацій іонів Mn^{2+} , на фоні зростання активності її цитоплазматичної форми, свідчить про переважаючу роль останньої у синтезі аланіну в м'язах за стресорного впливу металу.

Разом з тим, у м'язах молюска відбувалося зменшення активності АлАТ у цитоплазматичній фракції за впливу 2 ГДК іонів мангану на 33 %, а у мітохондріальній фракції мало місце збільшення активності ферменту в 2,6 раза. За 5 ГДК активність АлАТ у м'язах *U. pictorum* не відрізнялась від контрольних величин.

У печінці риб вплив 2 та 5 ГДК іонів мангану призводив до зростання активності мітохондріальної АлАТ відповідно у 4,5 та 3,4 рази, тоді як активність цитоплазматичної форми ферменту практично не змінювалась.

Вплив 2 ГДК іонів Mn^{2+} призводив до зменшення активності АлАТ у цитоплазматичній фракції печінки молюска *U. pictorum* на 29 % та до активації ферменту в 1,6 раза — у мітохондріальній. За експозиції до 5 ГДК іонів металу навпаки: зростала на 28 % активність цитоплазматичної АлАТ та зменшувалась у 2 рази активність мітохондріальної форми ферменту.

Отже, величини показників активності ферментів переамінування змінюються різноспрямовано. Реакція цих систем на дію іонів Mn^{2+} має тканинну та видову специфіку, залежить від концентрації елемента у водному середовищі і спрямована на поповнення пулу вільних амінокислот та метаболітів циклу Кребса, що забезпечує сполучення амінокислотного і вуглеводного обміну з метою протидії токсичному стресу в організмі водних тварин.

Цинк. Результати досліджень показали, що за дії іонів 2 та 5 ГДК цинку в цитоплазматичній фракції м'язів коропа відмічено зростання активності АсАТ відповідно на 31 та 43 % (рис. 3). Активність АсАТ у мітохондріальній фракції також зростає: за 2 ГДК іонів цинку — на 64 %, а за впливу 5 ГДК — на 29 %.

Подібний характер змін функціонування АсАТ за інтоксикації цинком виявлено і у печінці риб. Так, у цитоплазматичній фракції за експозиції до 2 ГДК іонів металу у воді активність фермента зростала на 64 %, а за дії 5 ГДК — на 15 %. У мітохондріальній фракції активність АсАТ за впливу 2 і 5 ГДК іонів Zn^{2+} також зростала відповідно у 3,1 та 2,8 рази. Зростання активності ферментів трансамінування також було виявлено у тканинах *Oreochromis niloticus* за дії 7 мг/дм³ іонів цинку [4]. Підвищення активності АсАТ і АлАТ може бути спричинене пошкодженням печінки, що, в свою чергу, призводить до витоку цих ферментів із цитозолу печінки у кровотік. Це підтверджується збільшенням активності АлАТ і АсАТ у сироватці нільської тилапії, викликаним окремими та комбінованими ефектами впливу Zn і Cd [15].

У тканинах молюска зростання активності АсАТ за впливу підвищених концентрацій цинку було відмічено лише у мітохондріальній фракції. Так, у м'язах за експозиції до 2 ГДК іонів Zn^{2+} мало місце збільшення активності фермента на 56 %, а за 5 ГДК іонів металу у воді — на 65 %. У цитоплазматичній фракції за 2 ГДК іонів Zn^{2+} рівень активності АсАТ порівняно з контролем не змінювався, а за 5 ГДК — зменшувався на 13 %.

У печінці *U. pictorum* активність цитоплазматичної форми АсАТ зменшувалась в 2,1 раза за 2 ГДК і в 1,6 раза — за 5 ГДК іонів цинку у воді. Разом з тим, було відмічено зростання активності мітохондріальної АсАТ за 2 ГДК іонів Zn^{2+} у 2,6 раза, а за впливу 5 ГДК — у 2,7 раза.

Зростання активності мітохондріальної АсАТ у м'язах і печінці водних тварин може свідчити про важливу роль саме цієї форми ферменту у процесах детоксикації іонів цинку. Разом з тим, за дії іонів цинку, як і за

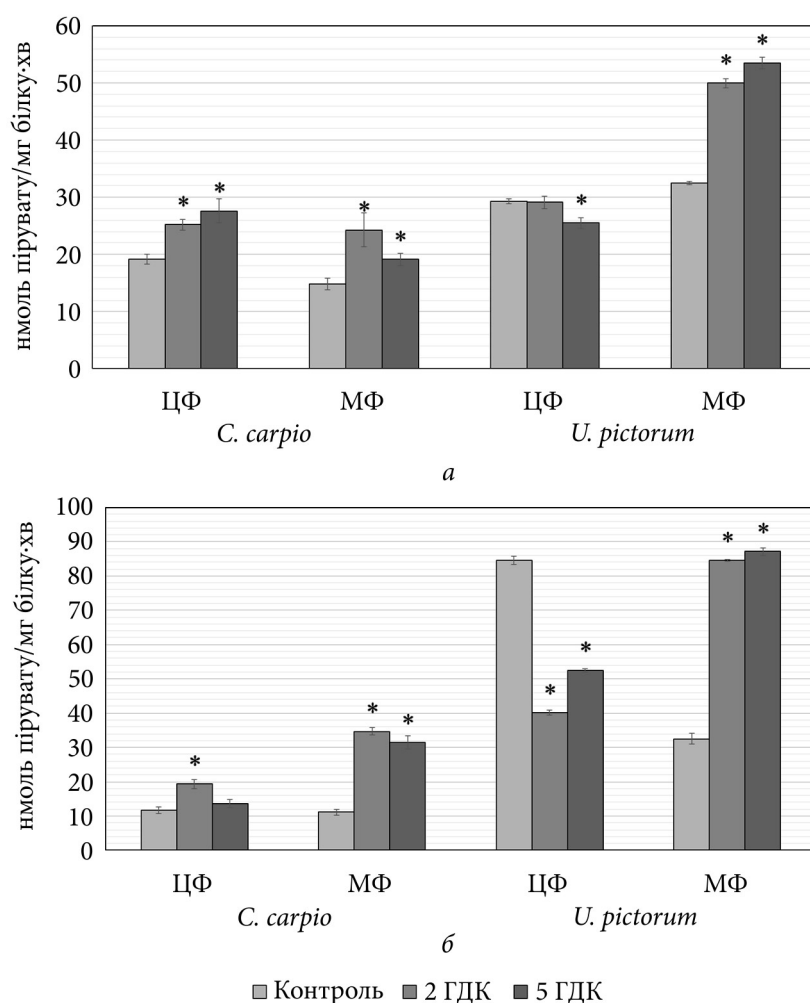


Рис. 3. Активність аспартатамінотрансферази в тканинах коропа та молюска за дії іонів Zn^{2+} ($M \pm m$, $n = 5$)

впливу іонів мангану, спостерігається вища абсолютна активність АсАТ у молюска порівняно з коропом, що, очевидно, вказує на видову специфічність функціонування ферменту.

Аналіз показників функціонування АлАТ за дії підвищених концентрацій іонів цинку показав, що у цитоплазматичній фракції м'язів коропа відмічено зростання активності ферменту при 2 і 5 ГДК на 22 %, а у мітохондріальній фракції — на 20 % за 2 ГДК іонів Zn^{2+} і у 3 рази — за впливу 5 ГДК іонів металу (рис. 4). Це може бути ознакою посилення процесів катаболізму білку, роль якого в адаптації до дії важких металів відома [3].

Натомість у печінці було встановлено тенденцію до зниження активності АлАТ в обох фракціях як за впливу 2, так і 5 ГДК іонів Zn^{2+} . Печінка є важливим органом, що пов'язаний з багатьма ключовими ферментами для підтримання гомеостазу. Патологічні зміни в печінці через токсич-

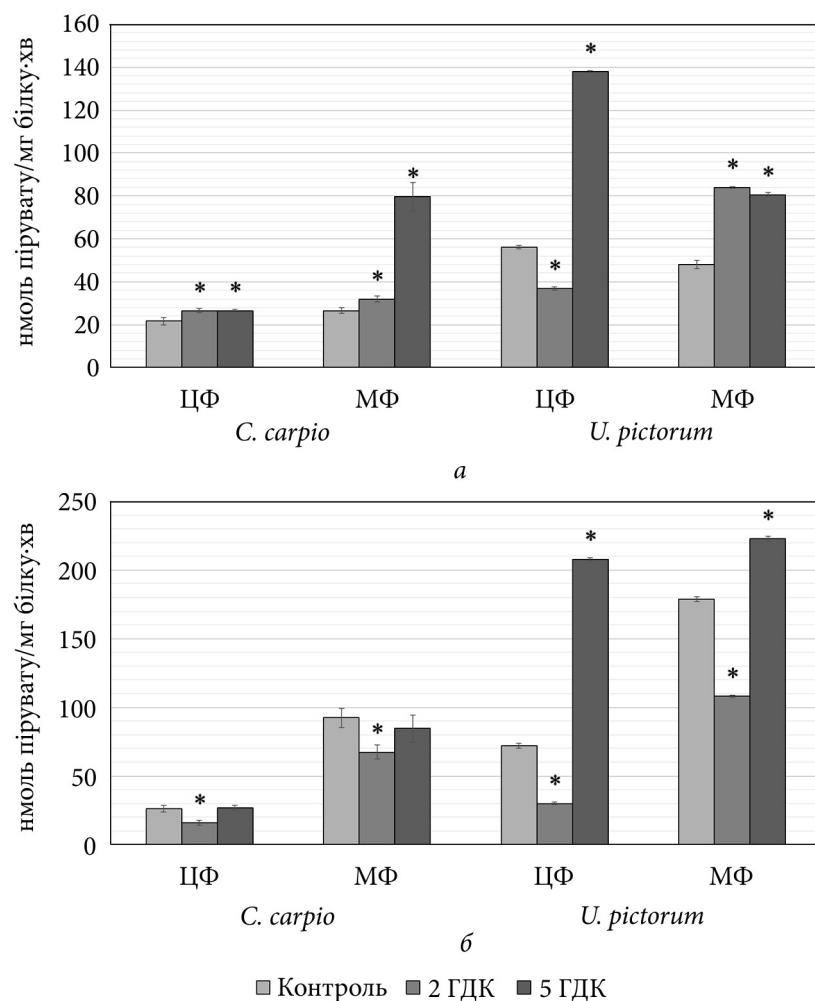


Рис. 4. Активність аланінамінотрансферази в тканинах коропа та молюска за дії іонів Zn^{2+} ($M \pm m$, $n = 5$)

ність металів часто відображаються на функціонуванні ферментів, які є чутливими біохімічними індикаторами токсичних ефектів у риб і можуть бути використані як важливі параметри для тестування води [5].

У цитоплазматичній фракції печінки коропа активність АлАТ за дії 2 ГДК іонів цинку зменшувалась на 48 % і поверталась до контрольних величин за 5 ГДК іонів металу. Активність досліджуваного ферменту у мітохондріальній фракції зменшувалась за експозиції до 2 ГДК іонів металу на 37 %, що може свідчити про накопичення в цьому органі риб аланіну, який може брати активну участь у функціонуванні глюкозо-аланінового циклу [3].

У цитоплазматичній фракції м'язів двостулкових молюсків активність АлАТ знижувалася за дії 2 ГДК іонів Zn^{2+} на 40 % та зростала у 2,4

раза за впливу 5 ГДК іонів металу. Разом з тим, у мітохондріях м'язів мало місце зростання активності АлАТ як за дії 2, так і 5 ГДК іонів цинку — відповідно в 1,8 та 1,7 рази, що, ймовірно, пов'язано із забезпеченням м'язів інтермедіатами циклу трикарбонових кислот у відповідь організму *U. pictorum* на токсичний чинник.

У печінці молюсків за дії іонів цинку у кількості 2 ГДК було відмічено зниження активності цитоплазматичної і мітохондріальної форм АлАТ відповідно на 59 і 34 %. Дія 5 ГДК іонів цинку призводила до зростання активності досліджуваного ферменту у 2,9 раза в цитоплазматичній та в 1,24 раза — у мітохондріальній фракції. Це може бути обумовлено тим, що збільшення дози токсиканта активує функціонування захисних механізмів організму молюска.

Отже, дія іонів цинку призводить до різноспрямованих змін у функціонуванні АлАТ тканин м'язів та печінки молюска, що насамперед визначається концентраційним чинником.

Купрум. У результаті проведених досліджень встановлено, що у цитоплазматичній фракції м'язів коропа іони купруму в кількості 2 ГДК зменшували активність АсАТ у 11,3 раза, а 5 ГДК іонів металу викликали пригнічення активності ферменту в 1,36 раза (рис. 5). У мітохондріальній фракції м'язів риб активність АсАТ зменшувалась у 7,7 раза за дії 2 ГДК іонів Cu^{2+} та у 7 разів — за впливу 5 ГДК іонів металу. У печінці коропа було відмічено зниження активності досліджуваного ферменту у цитоплазматичній фракції лише за дії 2 ГДК іонів Cu^{2+} у воді — на 40 %.

Відомо, що за дії купруму відбувається інгібування циклу трикарбонових кислот та активація гліколізу [20]. В результаті цього зменшується потреба організму в щавелевооцтовій кислоті, яка утворюється у риб, як правило, шляхом переамінування в аспартатамінотрансферазній реакції, що пояснює низьку активність досліджуваного ферменту.

У мітохондріальній фракції печінки риб спочатку мало місце зростання активності АсАТ на 71 % за 2 ГДК іонів металу, з наступним інгібуванням ферменту на 47 % порівняно з контролем за впливу 5 ГДК токсиканту. Зниження активності ферментів переамінування іонами купруму може бути також обумовлено високою токсичністю металу для риб [28].

Активність АсАТ в організмі молюска *U. pictorum* за дії іонів металу в кількості 0,2 мг/дм³ у цитоплазматичній фракції м'язів залишалась у межах контрольних величин, тоді як за вмісту іонів Cu^{2+} у воді 5 ГДК — зросла на 16 %. У мітохондріальній фракції м'язів виявлено збільшення активності АсАТ за 2 ГДК іонів купруму в 2,5 раза, а за дії 5 ГДК металу — в 2,3 раза. За інтоксикації молюсків іонами важких металів, ймовірно, підвищуються енерговитрати організму, пов'язані з детоксикацією та виведенням надлишку політанту.

Схожу динаміку змін активності АсАТ було зафіксовано і у мітохондріальній фракції печінки молюсків. Так, за дії 0,2 мг/дм³ та 0,5 мг/дм³ іонів купруму у воді спостерігалось зростання активності ферменту відповідно в 2,8 та 3,2 рази. В цитоплазматичній фракції печінки молюска активність АсАТ зменшувалась у 2,6 раза за впливу 2 ГДК іонів купруму і

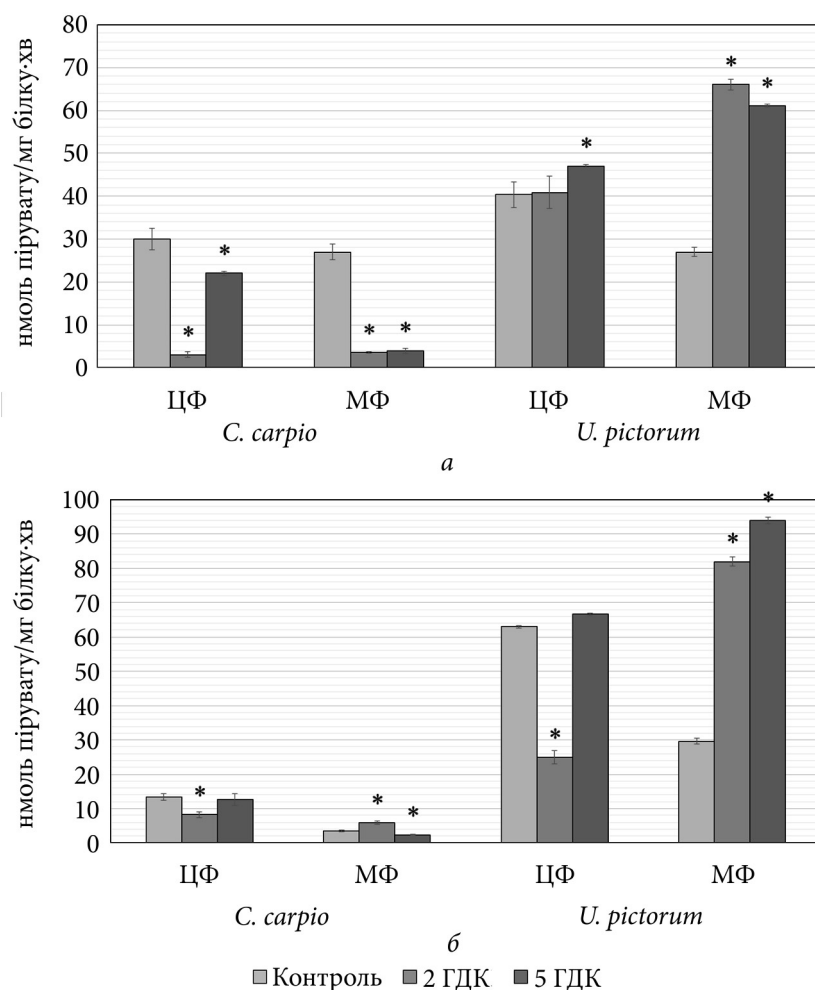


Рис. 5. Активність аспартатамінотрансферази в тканинах коропа та молюска за дії іонів Cu^{2+} ($M \pm m$, $n = 5$)

практично не змінювалась порівняно з контролем при вмісті металу у воді 5 ГДК.

Аналіз показників функціонування АсАТ у тканинах риб показав, що активність цитоплазматичної форми ферменту у м'язах коропа за дії 2 та 5 ГДК іонів Cu^{2+} зменшувалась відповідно на 32 і 46 % (рис. 6). У мітохондріальній фракції за експозиції до 2 ГДК іонів Cu^{2+} у воді спостерігалось зменшення активності АсАТ в 2 рази, а за 5 ГДК встановлено зростання активності досліджуваного ферменту на 21 % порівняно з контрольними величинами. Зниження активності АсАТ у м'язах риб в результаті дії іонів купруму, ймовірно, свідчить про зміщення реакції в бік утворення у цій тканині аланіну — амінокислоти, яка може активно використовуватись на енергетичні потреби організму [3].

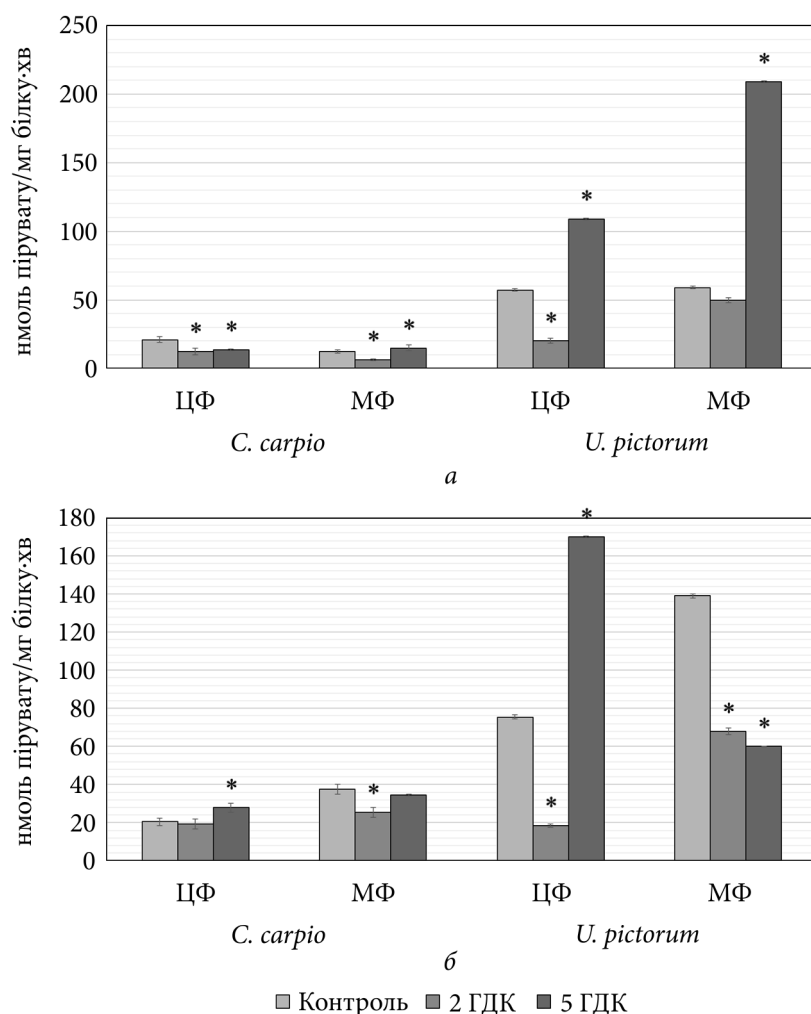


Рис. 6. Активність аланінамінотрансферази в тканинах коропа та молюска за дії іонів Cu^{2+} ($M \pm m$, $n = 5$)

У цитоплазматичній фракції печінки коропа активність АлАТ за дії 2 ГДК іонів купруму не змінювалася щодо контрольних величин, а за 5 ГДК — зростала на 37 %.

У мітохондріальній фракції печінки коропа активність АлАТ зменшувалася за дії 2 ГДК іонів Cu^{2+} на 47 % і практично не змінювалася за 5 ГДК іонів металу у воді. Зниження активності АлАТ у тканинах риб, ймовірно, можна пояснити участю ферменту в підтриманні лужно-кислотного гомеостазу шляхом зв'язування аміаку, який інтенсивно утворюється за інтоксикації купрумом [9].

У цитоплазматичній фракції м'язів молюска *U. pictorum* за 2 ГДК іонів Cu^{2+} активність АлАТ зменшувалась у 2,8 раза, а після впливу 5 ГДК — зростала в 1,9 раза порівняно з контролем. У мітохондріальній фракції

м'язів молюска активність АлАТ знижувалась за дії 2 ГДК іонів купруму лише на 17 %, тоді як за 5 ГДК — зростала в 3,6 раза. Збільшення активності досліджуваного ферменту за 0,5 мг/дм³ підтверджує те, що системи переамінування молюсків за участю АлАТ займають ключову роль у адаптації до високих концентрацій металу [10].

У печінці молюска зафіксовано зменшення в 4 рази активності досліджуваного ферменту в цитоплазматичній фракції за 2 ГДК і зростання активності у 2,3 раза — за впливу 5 ГДК іонів купруму.

У мітохондріальній фракції печінки молюска за дії 2 ГДК Cu^{2+} у воді активність АлАТ зменшувалась у 2 рази, а за 5 ГДК — у 2,3 раза, що підтверджує високу токсичність металу для мітохондрій *U. pictorum*. Це підтверджується і вищими абсолютними значеннями активності АлАТ у тканинах молюска порівняно з рибами.

Плюмбум. Аналіз отриманих даних показав, що в цитоплазматичній фракції м'язів коропа активність АсАТ як за дії 2 ГДК, так і 5 ГДК іонів плюмбуму зросла на 30 % (рис.7). У печінці ж активність цитоплазматичної форми АсАТ зменшувалась на 30 % за експозиції риб при 2 ГДК токсиканта у воді і практично поверталась до контрольних величин за впливу максимальної з досліджуваних концентрацій іонів плюмбуму.

Активність АсАТ у мітохондріальній фракції м'язів риб за впливу 2 ГДК іонів Pb^{2+} збільшувалась в 1,5 раза, а за дії 5 ГДК токсиканта у воді спостерігалось зростання активності досліджуваного ферменту у 2,1 раза. У мітохондріальній фракції печінки коропа за інкубації при 2 ГДК мало місце зростання активності АсАТ у 7,5 раза, а за 5 ГДК — у 6,2 раза відносно контрольних величин. Згідно літературних даних [3], за дії надлишку іонів плюмбуму зростає вміст аспарагінової кислоти в печінці коропа, що узгоджується з вищезгаданими змінами функціонування АсАТ. Також слід зазначити, що зростання активності АсАТ забезпечує надходження щавлевооцтової кислоти для функціонування циклу трикарбонових кислот. Зростання активності АсАТ також було виявлено авторами [5] за 33-добової експозиції коропів до сублетальних концентрацій плюмбум нітрату.

Ймовірно, за дії токсиканту відбувається порушення фізико-хімічних властивостей мітохондріальних мембран, в результаті чого вивільняються зв'язані, неактивні форми вказаного ферменту.

У молюска активність цитоплазматичної форми АсАТ у м'язах зменшувалась на 11 % за дії 2 ГДК іонів Pb^{2+} і зростала в 2,3 раза за вмісту 5 ГДК іонів плюмбуму у воді. Активність АсАТ у мітохондріях м'язів молюска зростала як за впливу 2, так і 5 ГДК іонів металу — відповідно у 3,0 та 2,7 рази. Вищі показники відхилення активності мітохондріальної форми АсАТ свідчать про її більшу чутливість до високих концентрацій токсиканту.

У печінці *U. pictorum*, в обох фракціях, спостерігалось зменшення активності досліджуваного ферменту за 2 ГДК і збільшення за — 5 ГДК іонів плюмбуму у воді. Так, в цитоплазматичній фракції активність АсАТ зменшувалась у 2,3 раза за інкубації при 2 ГДК токсиканту і зростала на

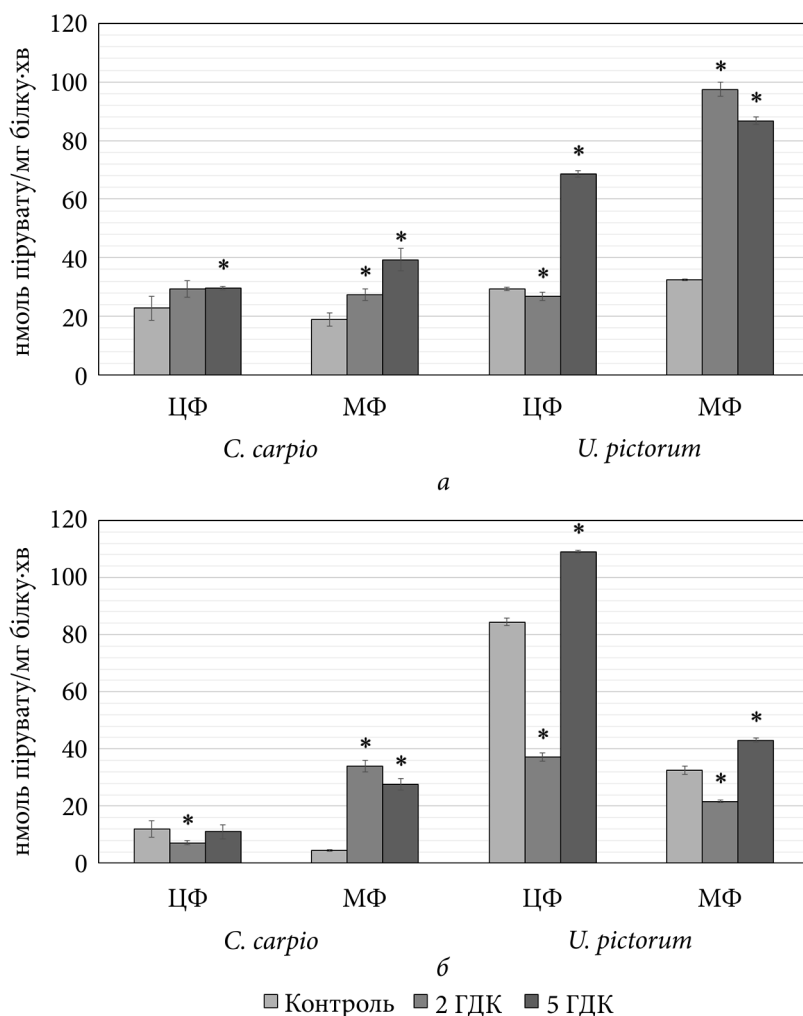


Рис. 7. Активність аспартатамінотрансферази в тканинах коропа та молюска за дії іонів Pb^{2+} ($M \pm m$, $n = 5$)

29 % за 5 ГДК іонів металу. У мітохондріальній фракції активність АсАТ знижувалась на 34 % за дії 2 ГДК іонів плумбуму і збільшувалася на 32 % за вмісту 5 ГДК. Така варіативність показників функціонування АсАТ може свідчити, як і у випадку з дією високих доз іонів купруму, про надзвичайну токсичність плумбуму для організму двостулкового молюска, а також про специфічну реакцію системи переамінування у досліджуваного виду за отруєння іонами цього металу.

Аналіз результатів показав, що активність цитоплазматичної АЛАТ у м'язах коропа за дії 2 ГДК іонів Pb^{2+} зменшувалась на 30 %, а за 5 ГДК — зростала на 33 % порівняно до контролю.

У мітохондріальній фракції м'язів характер змін активності АЛАТ протилежний: за 2 ГДК іонів металу у воді активність АЛАТ зростала на

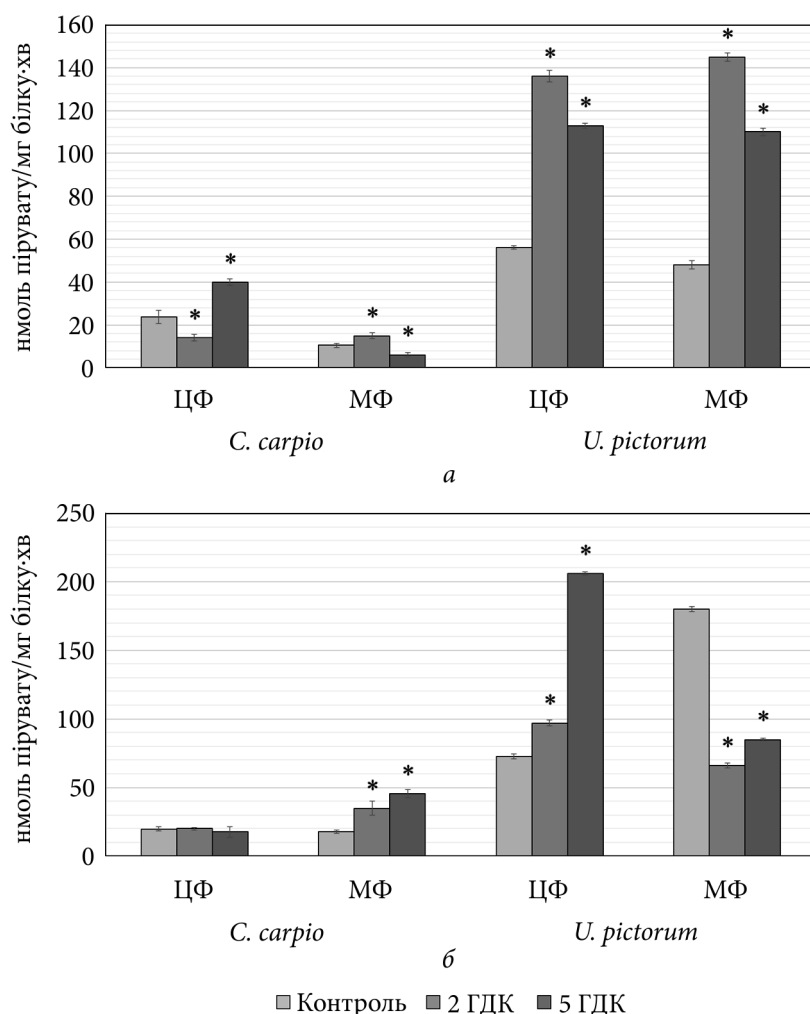


Рис. 8. Активність аланінамінотрансферази в тканинах коропа та молюска за дії іонів Pb^{2+} ($M \pm m$, $n = 5$)

30 %, а за впливу 5 ГДК токсиканта — знижувалася на 27 %. Збільшення активності АЛАТ у м'язах за дії іонів свинцю підтверджується також літературними даними [2].

Дослідження функціонування цитоплазматичної АЛАТ у печінці коропа показало, що за обох досліджуваних концентрацій іонів металу у воді величини активності ферменту близькі до контрольних. У мітохондріальній фракції активність досліджуваного ферменту зростала пропорційно концентрації іонів Pb^{2+} у воді: за 2 ГДК у 2,0 рази, а за дії токсиканта 5 ГДК — у 2,6 рази.

За експозиції молюсків у воді, що містила іони Pb^{2+} у кількості 2 ГДК, зафіксовано зростання активності цитоплазматичної АЛАТ м'язів у 2,4 рази порівняно з контролем, а за дії 5 ГДК іонів металу — у 2,0 рази. У

мітохондріальній фракції активність м'язової АЛАТ також зростає: за 2 ГДК іонів металу у воді в 3,0 рази, а за впливу 5 ГДК токсиканту — у 2,3 рази.

У цитоплазматичній фракції печінці двостулкових молюсків активність АЛАТ зростає за дії 2 ГДК іонів Pb^{2+} в 1,3 рази, а за впливу 5 ГДК токсиканту — у 2,8 рази. Можливо, за інтоксикації іонами плюмбуму вичерпуються запаси глікогену в організмі молюсків і це компенсується синтезом аланіну.

За дії 2 та 5 ГДК іонів плюмбуму в мітохондріальній фракції печінки коропа активність АЛАТ знижувалась відповідно у 2,7 і 2,1 рази. Ймовірно, таке інгібування ферментів, в деяких випадках, є наслідком перетворень у мітохондріях амінокислот у кетокислоти, з наступним їх використанням як енергетичних ресурсів [3].

Висновки

Отже, функціонування трансаміназ відображає зміни інтенсивності та спрямованості обмінних процесів в організмі досліджуваних гідробіонтів за інтоксикації металами. Адаптація водних тварин до дії іонів важких металів полягає у перебудові обміну речовин у напрямку протидії на вплив зовнішнього стрес-чинника. Роль трансаміназ у цьому процесі може полягати у перерозподілі амінокислотних резервів.

Результати наших досліджень свідчать про те, що зміни показників активності АСАТ та АЛАТ в організмі гідробіонтів за токсичного впливу металів мають видову специфіку, залежать від природи та концентрації металу у воді, тканинної та субклітинної локалізації ферментів.

Дія 2 та 5 ГДК іонів усіх металів, за винятком Cu^{2+} , викликала зростання активності мітохондріальної АСАТ у печінці та м'язах коропа. Вплив сублетальних концентрацій іонів Zn^{2+} , Cu^{2+} та Pb^{2+} також, в цілому, призводив до активації АСАТ у мітохондріях обох тканин молюсків. Активність АЛАТ у цитоплазматичній фракції м'язів та печінки гідробіонтів зростала за дії високих концентрацій (5 ГДК) усіх іонів металів та знижувалася за впливу 2 ГДК іонів Mn^{2+} , Zn^{2+} і Cu^{2+} . Зміни показників активності АЛАТ у мітохондріях та АСАТ у цитоплазмі тканин як риб, так і молюсків за дії сублетальних концентрацій металів були різноспрямовані та насамперед визначалися концентраційним чинником та природою металу. Отримані показники функціонування трансаміназ риб та молюсків можуть бути використані як індикатори функціонального стану організму в нормі і за дії на них екстремальних чинників водного середовища, в тому числі і металів.

Список використаної літератури

1. Беспмятнов Г.П., Кротов Ю.А. Предельно допустимые концентрации химических веществ в окружающей среде. Справочник. Ленинград : Химия, 1985. 240 с.
2. Коновец И.Н., Кулик В.А., Арсан О.Н. Влияние свинца на азотистый обмен у карпа при различной температуре водной среды. *Гидробиол. журн.* 1994. Т. 30, № 5. С. 78—86.

3. Курант В.З. Роль білкового обміну в адаптації риб до дії іонів важких металів : автореф. дис. ... д-ра біол. наук. Київ, 2003. 38 с.
4. Abdel-Tawwab M., El-Sayed G.O., Shady S.H. Growth, biochemical variables, and zinc bioaccumulation in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) as affected by water-born zinc toxicity and exposure period. *Int. Aquat. Res.* 2016. Vol. 8. P. 197—206.
5. Abedi Z., Fatemeh H., Mohammad A. et al. Effect of sublethal concentrations of cadmium, lead and chromium on some enzymatic activities of common carp; *Cyprinus carpio*. *Word J. Zool.* 2013. Vol. 8. P. 98—105.
6. Ali H., Khan E. Environmental chemistry in the twenty-first century. *Environ. Chem. Lett.* 2017. Vol. 15. P. 329—346.
7. Baltaci A.K., Yuce K., Mogulkoc R. Zinc metabolism and metallothioneins. *Biol. Trace Elem. Res.* 2018. Vol. 183. P. 22—31.
8. Biological indicators of aquatic ecosystem stress / Ed. by Adams S.M. Bethesda, MD : Am. Fish. Soc., 2002. 656 p.
9. Blanchard J., Grosell M. Copper toxicity across salinities from freshwater to seawater in the euryhaline fish *Fundulus heteroclitus*: Is copper an ionoregulatory toxicant in high salinities? *Aquat. Toxicol.* 2006. Vol. 80, N 2. P. 131—139.
10. Blasco J., Puppo J. Effect of heavy metals (Cu, Cd and Pb) on aspartate and alanine aminotransferase in *Ruditapes philippinarum* (Mollusca: Bivalvia). *Comp. Biochem. Physiol. Part C: Pharmacol. Toxicol. Endocrinol.* 1999. Vol. 122, N 2. P. 253—263.
11. Chanda S., Paul B.N., Ghosh K., Giri S.S. Dietary essentiality of trace minerals in aquaculture: A Review. *Agricultural Reviews.* 2015. Vol. 36, N 2. P. 100—112.
12. Coppo J.A., Mussart N.B., Fioranelli S.A. Physiological variation of enzymatic activities in blood of bullfrog, *Rana catesbeiana* (Shaw, 1802). *Rev. Veter.* 2003. Vol. 12. P. 22—27.
13. David W. Christianson, Structural chemistry and biology of manganese metallo-enzymes. *Progress in Biophysics and Molecular Biology.* 1997. Vol. 67, N 2—3. P. 217—252.
14. Ercal N., Gurer-Orhan H., Aykin-Burns N. Toxic metals and oxidative stress Part I: Mechanisms involved in metal-induced oxidative damage. *Curr. Top. Med. Chem.* 2001. Vol. 1. P. 529—539.
15. Firat O., Kargin F. Individual and combined effects of heavy metals on serum biochemistry of Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 2010. Vol. 58. P. 151—157.
16. Hambidge M., Krebs N.F. Zinc metabolism and requirements *Food and Nutrition Bulletin.* 2001. Vol. 22. P. 126—132.
17. Kao L.W., Rusyniak D.E. Chronic poisoning: trace metals and others. Ed. by Goldman L., Schafer A.I. *Goldman-cecil medicine.* Philadelphia: Elsevier/Saunders, 2016. P. 91—98.
18. Karadede-Akin H., Unlü E. Heavy Metal Concentrations in Water, Sediment, Fish and Some Benthic Organisms from Tigris River, Turkey. *Environ. Monit. Assess.* 2007. Vol. 131. P. 323—337.
19. Khomenchuk V.O., Balaban R.B., Chen I.B., Kurant V.Z. Comparative Characteristics of Glutamate Dehydrogenase Functioning in *Cyprinus carpio* and *Unio pictorum* under the Impact of Elevated Metal Ions Concentrations. *Hydrobiol. J.* 2022. Vol. 58, N 1. P. 45—55.
20. Lauer M.M, de Oliveira C.B., Yano N.L., Bianchini A. Copper effects on key metabolic enzymes and mitochondrial membrane potential in gills of the estuarine crab *Neohelice granulata* at different salinities. *Comp Biochem Physiol C. Toxicol Pharmacol.* 2012. Vol. 156, N 3—4. P. 140—147.
21. Lee J.-W., Choi H., Hwang U.-K. et al. Toxic effects of lead exposure on bioaccumulation, oxidative stress, neurotoxicity, and immune responses in fish: A review. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 2019. Vol. 68. P. 101—108.
22. Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 1951. Vol. 193, N 1. P. 265—75.

23. Malik D.S., Maurya P.K. Heavy metal concentration in water, sediment, and tissues of fish species (*Heteropneustis fossilis* and *Puntius ticto*) from Kali River, India. *Toxicol. Environ. Chem.* 2014. Vol. 96, N 8. P. 1195—1206.
24. Radhakrishnaiah K, Suresh A, Sivaramakrishna B. Effect of sublethal concentration of mercury and zinc on the energetics of a freshwater fish *Cyprinus carpio* (Linnaeus). *Acta Biol. Hung.* 1993. Vol. 44, N 4. P. 375—385.
25. Reitman S., Frankel S. Colorimetric determination of glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminases. *Am. J. Clin. Path.* 1957. Vol. 28. P. 53—56.
26. Tuormaa T.E. The adverse effects of manganese deficiency on reproduction and health: a literature review. *J. Orthomol. Med.* 1996. Vol. 11, N 2. 1996. P. 69—79.
27. Vieira M.C., Torronteras R., Córdoba F., Canalejo A. Acute toxicity of manganese in goldfish *Carassius auratus* is associated with oxidative stress and organ specific antioxidant responses. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 2012. Vol. 78. P. 212—217.
28. Vutukuru S.S., Suma C., Madhavi K.R. et al. Studies on the development of potential biomarkers for rapid assessment of copper toxicity to freshwater fish using *Esomus danricus* as model. *Int. J. Environ. Res. Public Health.* 2005. Vol. 2, N 1. P. 63—73.
29. Wood Ch. M., Farrell A. P., Brauner C. J. Homeostasis and toxicology of essential metals edited. *Fish Physiol.* London : Academic Press. 2011. Vol. 31, part A. P. 1—497.
30. Yousafzai A.M., Chivers D.P., Khan A.R. et al. Comparison of heavy metals burden in two freshwater fishes *Wallago attu* and *Labeo dyocheilus* with regard to their feeding habits in natural ecosystem. *Pak. J. Zool.* 2010. Vol. 42, N 5. P. 537—544.

Надійшла 20.09 2022

V.O. Khomenchuk, PhD (Biol.), Assistant Prof.,
Ternopil Volodymyr Hnatiuk National Pedagogical University,
Maxyma Kryvonosa St., 2, Ternopil, 46027, Ukraine
e-mail: khomenchuk@tnpu.edu.ua
ORCID 0000-0003-0500-6754

R.B. Balaban, PhD (Biol.), senior laboratory assistant,
Ternopil Volodymyr Hnatiuk National Pedagogical University,
Maxyma Kryvonosa St., 2, Ternopil, 46027, Ukraine
e-mail: poslanya@ukr.net
ORCID 0000-0002-6347-7581

N.V. Herts, PhD (Biol.), Assistant Prof.,
Ternopil Volodymyr Hnatiuk National Pedagogical University,
Maxyma Kryvonosa St., 2, Ternopil, 46027, Ukraine
e-mail: herts_nv@chem-bio.com.ua
ORCID 0000-0002-3574-2288

V.Z. Kurant, Dr. Sci. (Biol.), Prof.,
Ternopil Volodymyr Hnatiuk National Pedagogical University,
Maxyma Kryvonosa St., 2, Ternopil, 46027, Ukraine
e-mail: kurant@tnpu.edu.ua
ORCID 0000-0002-3349-046X

DISTINCTION OF TRANSAMINATION PROCESSES IN TISSUES OF *CYPRINUS CARPIO* AND *UNIO PICTORUM* UNDER THE EFFECT OF INCREASED CONCENTRATIONS OF METAL IONS IN WATER

The role of the processes of transamination of amino acids in the tissues of carp (*Cyprinus carpio* L.) and freshwater mollusc (*Unio pictorum* L.) in maintaining the homeostasis of protein metabolism under the action of 2 and 5 maximum permissible concentrations (MPC) of Mn^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} and Pb^{2+} ions was studied. Changes in the activity indicators of aspartate aminotransferase (AST) and alanine aminotransferase (ALT) in the body of hydrobionts under toxic effects are species-specific and depend on the nature and concentration of metal in water, tissue and subcellular localization of enzymes.

The action of both investigated concentration of all metal ions, except for copper, caused an increase in the activity of mitochondrial AST in the liver and muscles of carp. Exposure to sublethal concentrations of Zn^{2+} , Cu^{2+} , and Pb^{2+} ions also, in general, led to the activation of AST in the mitochondria of both mollusk tissues. ALT activity in the cytoplasmic fraction of muscles and liver of hydrobionts increased under the influence of high concentrations (5 MPC) of all metal ions and decreased under the influence of 2 MPC of Mn^{2+} , Zn^{2+} and Cu^{2+} ions. Changes in indicators of ALT activity in mitochondria and AST in the cytoplasm of tissues of both fish and molluscs under the influence of sublethal concentrations of metals were multidirectional and primarily determined by the concentration factor and the nature of the metal.

The role of transaminases in the adaptation of aquatic animals to the action of heavy metal ions consists in the redistribution of amino acid reserves in order to use some for ammonia detoxification (glutamate, aspartate), others (keto acids) for energy purposes to counteract the stress factor. Changes in the activity of peramination enzymes can informatively reflect the state of the organism under the influence of increased concentrations of heavy metal ions, serve as a characteristic of the degree of resistance of the studied hydrobionts to pollution, and can also be used to predict changes in biocenoses in areas of heavy metal pollution. The availability of material and the ease of sample selection and processing make these animals a suitable object for bioindication of the state of the aquatic environment.

Key words: *Cyprinus carpio*, *Unio pictorum*, transaminases, heavy metals.