

УДК 639.215.09:577.112:612.1

I.М. КУРБАТОВА, д. б. н., доц.,

Національний університет біоресурсів і природокористування України,
вул. Героїв Оборони, 15, Київ, 03041, Україна
e-mail: innakurbatova@ukr.net
ORCID 0000-0002-7333-7371

М.О. ЗАХАРЕНКО, д. б. н., проф., чл.-кор. НААН,

Національний університет біоресурсів і природокористування України,
вул. Героїв Оборони, 15, Київ, 03041, Україна
e-mail: sangin1996@ukr.net
ORCID 0000-0001-7055-9086

О.С. ЯРЕМЧУК, д. с-г. н., проф.,

Вінницький національний аграрний університет,
вул. Сонячна, 3, Вінниця, 21008, Україна
e-mail: office@vsau.org
ORCID 0000-0002-3283-6107

Е.Е. РОМАНОВА, аспірант,

Національний університет біоресурсів і природокористування України,
вул. Героїв Оборони, 15, Київ, 03041, Україна
e-mail: romanova_ella@ukr.net
ORCID 0000-0002-2624-2513

ФРАКЦІЙНИЙ СКЛАД БІЛКІВ ПЛАЗМИ КРОВІ КОРОПА (*CYPRINUS CARPIO L.*) ЗА ДІЇ АЛІФАТИЧНИХ АМІНІВ

Досліджено вплив різної концентрації метиламіну та пропіламіну у воді на вміст та фракційний склад білків плазми крові коропа (*Cyprinus carpio L.*). Метиламін за концентрації у воді 0,009 мг/дм³ підвищував, а у дозі 0,005 і 0,007 мг/дм³, як і пропіламін за концентрації 0,04, 0,06 і 0,08 мг/дм³, не впливав на вміст загального білка в плазмі крові дворічок коропа. Виявлено, що основними в плазмі крові коропа є білки з молекулярною масою 52—54, 68—72 і 90 кДа, а вміст протеїнів з іншою молекулярною масою 35, 80, 100, 150—170, 340 і 900 кДа значно нижчий.

У риб, що перебували у воді з різною концентрацією метиламіну протягом 72 год, в плазмі крові підвищувався вміст білків з молекулярною масою 25, 90 і 100 кДа та знижувався рівень протеїнів, розміщених у зонах 35—52, 150—170 і 180—190 кДа, а інших — не змінювався. Виявлені зміни фракційного складу білків плазми крові коропа за дії пропіламіну залежать від його концентрації у воді і характеризуються підвищеним вмістом протеїнів з молекулярною масою 90 і 100 кДа та пониженим рівнем білків, які відносяться до зон 150—170 і 180—190 кДа, за сталих значень

Ц и т у в а н н я: Курбатова І.М., Захаренко М.О., Яремчук О.С., Романова Е.Е. Фракційний склад білків плазми крові коропа (*Cyprinus carpio L.*) за дії аліфатичних амінів. *Гідробіол. журн.* 2023. Т. 59. № 1. С. 91—102.

вмісту протеїнів інших фракцій. Зроблено висновок про вплив незначної концентрації метиламіну і пропіламіну у воді на білковий спектр пазми крові риб.

Ключові слова: короп, пазма крові, білки, метиламін, пропіламін.

Аміни — органічні сполуки, які містять у складі молекули одну або декілька аміногруп і утворюються при взаємодії вуглеводнів з аміаком, або в біологічних системах у процесах декарбоксилювання амінокислот, перетворенні пептидів та білків. В організмі тварин біогенні аміни проявляють регуляторні, пластичні та стимулюючі функції [9, 10]. Широке використання амінів у промисловості при виробництві синтетичних полімерів, барвників, пестицидів, косметичних засобів та лікарських препаратів призводить до їхнього потрапляння у виробничі стоки підприємств та у природні водойми [12, 20, 23]. Джерелами амінів у воді також можуть бути білки та азотовмісні органічні речовини, в результаті деградації яких утворюється значна кількість токсичних сполук [24]. Найбільшу небезпеку для людей становлять нижчі аліфатичні аміни, які здатні подразнювати шкіру, слизові оболонки очей та органів дихання, а продукти їхнього перетворення нітрозоаміни мають канцерогенні властивості [15, 21]. Нітрозоаміни та галоаценітрили утворюються також із амінів при знезарядженні води дезінфікуючими засобами [10, 16, 25]. Останнім часом особливве занепокоєння викликають знайдені у воді диметиламін, диетиламін, морфолін і ди-N-бутиламін, які можуть бути попередниками низки нітрозосполук [21, 25]. Аліфатичні аміни, будучи низькомолекулярними речовинами, важко піддаються деградації при очищенні води, тому здатні потрапляти в організм людей, викликаючи порушення різноманітних біохімічних процесів у тканинах [5, 22].

Дію аліфатичних амінів в організмі тварин пов'язують із негативним впливом на нервову і серцево-судинну систему, окисно-відновні процеси в тканинах, активність ензимів крові та печінки [4, 15].

Встановлено пригнічення етил- та пропіламіном окислювального фосфорилювання в мітохондріях печінки, зміну активності ряду ензимів ПОЛ, вмісту цитохромів P450 і b5 в мікросомальній фракції гепатоцитів щурів [4, 8]. Механізм впливу аліфатичних амінів на фізіологічні функції і метаболічні процеси у теплокровних тварин досліджено досить детально, тоді як у прісноводних гідробіонтів, зокрема у риб, він до кінця не з'ясований. Останнім часом значно зросла кількість досліджень з вивчення токсичного впливу різних аліфатичних амінів на організм прісноводних риб [5, 15]. Доведено негативний вплив аліфатичних амінів на гематологічні показники та активність ряду ензимів у коропа (*Cyprinus carpio L.*) [7].

Однак одержані результати досліджень не дають можливості достаточно встановити молекулярні механізми токсичної дії нижчих аліфатичних амінів на риб, що спонукає до подальшого накопичення експериментального матеріалу із вказаної проблеми.

Мета роботи — дослідити вплив різних концентрацій метиламіну та пропіламіну у воді акваріума на загальний вміст та фракційний склад білків плазми крові дворічок коропа (*Cyprinus carpio* L.).

Матеріал і методика досліджень

Експерименти з впливу метиламіну та пропіламіну на загальний вміст та фракційний склад білків плазми крові риб виконано на коропах дворічного віку (*Cyprinus carpio* L.), живою масою 470—520 г. У першому експерименті досліджували вплив метиламіну у різній концентрації у воді на загальний вміст та білковий спектр плазми крові риб. Перед експериментом риб протягом двох діб витримували у воді акваріума об'ємом 200 дм³. Після цього риб по дві особини поміщали в акваріум об'ємом 40 дм³ води та витримували їх 72 год. Перед посадкою риб у воду акваріумів вносили метиламін, досягаючи концентрації 0,005 (перша), 0,007 (друга) і 0,009 мг/дм³ (третя дослідна група). Під час експерименту риб дослідних груп не годували та спостерігали за їхньою поведінкою, руховою активністю, контролюючи кількість дихальних рухів. Риб контрольної групи утримували в акваріумі об'ємом 40 дм³ без метиламіну у воді.

У другому експерименті досліджували вплив пропіламіну на загальний вміст та білковий спектр плазми крові дворічок коропа. Пропіламін у воду акваріумів додавали у кількості, щоб його концентрація становила 0,04 (перша), 0,06 (друга) і 0,08 мг/дм³ (третя дослідна група). Тривалість дослідів становила 72 год. Риб контрольної групи утримували у воді без додавання пропіламіну. Під час експериментів у воді акваріумів підтримували оптимальні значення температури (18,5—20,2 °C), концентрацію кисню (6,4—7,0 мг О₂/дм³) та величину pH (7,6).

Перед завершенням кожної серії експерименту у риб контрольної та дослідних груп відбирали кров із серця, з якої одержували плазму шляхом центрифугування зразків при 3500 об/хв. протягом 15 хв.

У плазмі крові риб контрольної та дослідних груп визначали загальний вміст білка за методом, описаним у [14]. Фракційний склад білків плазми крові риб досліджували за допомогою вертикального гель-електрофорезу, використовуючи ПААГ з градієнтом концентрації 7—18 % з додаванням додецилсульфату натрію [19]. Одержані гелі фіксували сумішшю метанолу, формальдегіду і води у співвідношенні 6 : 1 : 7. окремі фракції білків на гелях виявляли шляхом їхнього фарбування 0,1 %-вим розчином Кумасі R-250 (Serva, Швеція). Зафарбовані гелі відмивали розчином 7 %-вої оцтової кислоти при температурі 100 °C.

Виявлені фракції білків плазми крові риб ідентифікували за стандартними білками-маркерами (25—900 кДа) фірми «Thermo Bioscience» (Англія). Кількісну оцінку білкових зон здійснювали за допомогою гель-сканера HP SJ 550C («Hewlett-Packard», США), використовуючи спеціальну комп’ютерну програму (Densito Analyse) [11].

Одержані результати оброблено статистично [6, 17] з використанням комп’ютерної техніки та програмного забезпечення в MS Excel.

Результати дослідження

Дослідженнями встановлено, що нижчі аліфатичні аміни метиламін і пропіламін змінюють фракційний склад білків у плазмі крові дворічок коропа, а їхній вплив залежить від концентрації цих ксенобіотиків у воді (табл. 1—3). Встановлено, що метиламін за концентрації у воді 0,009 мг/дм³ (третя дослідна група) викликав підвищення загального вмісту білка в плазмі крові риб на 21,3 % порівняно з контролем, тоді як за дози 0,005 і 0,007 мг/дм³ не впливав на цей показник у коропів відповідно першої і другої дослідних груп (див. табл. 1). Загальний вміст білка в плазмі крові риб третьої дослідної групи залишився також на 24 % вищим, ніж у першій.

Відомо, що із подовженням радикала в молекулі аліфатичних амінів їхні токсичні властивості знижуються [15]. Ймовірно, цим можна пояснити відсутність достовірних змін вмісту загального білка в плазмі крові риб дослідних груп порівняно з контролем під впливом пропіламіну на відміну від метиламіну. Причому підвищення концентрації пропіламіну у воді з 0,04 мг/дм³ у коропів першої дослідної групи до 0,06 і 0,08 мг/дм³ відповідно для риб другої і третьої дослідних груп не впливало на вміст загального білка в плазмі крові (див. табл. 1).

Отже, не дивлячись на те, що аліфатичні аміни впливають на біосинтетичні процеси в тканинах риб, значних змін вмісту загального білка у плазмі крові коропів під дією метиламіну і пропіламіну не встановлено. Це, ймовірно, пов'язано з низькою концентрацією їх у воді та нетривалою дією цих ксенобіотиків на риб. Слід також зазначити, що вміст білка в плазмі крові риб контрольної і дослідних груп як за дії метиламіну, так і пропіламіну знаходився в межах фізіологічних значень даного показника у коропових риб [1].

Аналіз фракційного складу білків плазми крові коропів показав, що молекулярна маса виявлених електрофорезом в ПААГ протеїнів змінюється від 25 до 900 кДа і більше (див. табл. 2). У плазмі крові коропів найбільшу кількість становлять білки з молекулярною масою 25 кДа (зона N), 68—72 кДа (зона H), 90 кДа (зона F), 52—54 кДа (зона J), 340 кДа

Таблиця 1
Вміст загального білка в плазмі крові риб за дії аліфатичних амінів (г/л),
 $M \pm m$, $n = 5$

Групи	Аміни	
	метиламін	пропіламін
Контрольна	26,43±1,94	31,83±0,96
Дослідна 1	24,57±1,35	37,00±3,26
Дослідна 2	27,57±1,78	30,00±6,69
Дослідна 3	30,47±1,09*,**	29,63±2,13

* Різниця вірогідна ($p \leq 0,05$) порівняно з контролем; ** порівняно з першою дослідною групою.

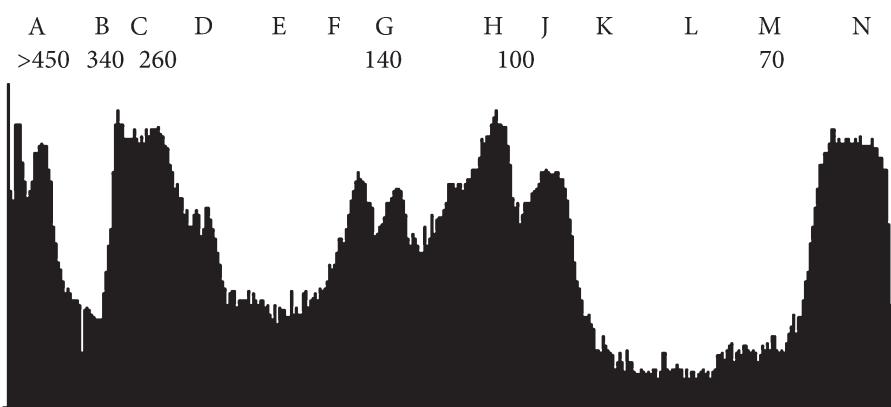


Рисунок. Електрофорограма білків плазми крові дворічок коропа

(зона В), 100 кДа (зона Е) і 150—170 кДа (зона Д). Вміст білків інших фракцій (зони — А, С, К, Л, М) у плазмі крові риб виявився значно нижчим (рисунок, табл. 2).

Показано, що за незначної концентрації у воді 0,005 мг/дм³ метиламін практично не впливав на фракційний склад білків плазми крові риб першої дослідної групи, за виключенням протеїнів з молекулярною масою 80 кДа (зона G), вміст яких підвищився в 1,39 раза порівняно з контролем (див. табл. 2). Оскільки у риб першої дослідної групи метиламін не вплиував на білковий спектр плазми крові, можна зробити висновок про здатність дворічок коропа адаптуватись до низької концентрації даного ксенобіотика у воді за його нетривалого впливу.

Підвищення концентрації метиламіну до 0,007 мг/дм³ у воді, в якій утримували коропів другої дослідної групи, змінювало білковий спектр плазми крові, про що свідчить зростання вмісту білків з молекулярною масою 80 кДа (зона G) у 1,49 раза та зниження рівня протеїнів з молекулярною масою 68—72 кДа (зона Н) у 1,34 раза і 52—54 кДа (зона Ј) — у 1,23 раза порівняно з контролем (див. табл. 2). Порівняння фракційного складу білків плазми крові риб першої і другої дослідних груп, яких утримували в акваріумах з різною концентрацією метиламіну у воді, значних відмінностей за вмістом як високомолекулярних протеїнів, так і білків з низькою молекулярною масою не виявило.

Це, ймовірно, пояснюється незначною різницею у концентрації ксенобіотика у воді. У плазмі крові риб другої дослідної групи встановлено лише підвищення вмісту білків з молекулярною масою 180—190 кДа (зона С) і 35—52 кДа (зона К) відповідно у 1,4 і 1,5 раза порівняно з аналогічними показниками у коропів першої дослідної групи (див. табл. 2). Виявлені зміни рівня білкових фракцій у плазмі крові риб другої дослідної групи порівняно з контролем, а також з першою дослідною групою за сталих значень його загального вмісту є результатом впливу даного

ксенобіотика на електрофоретичну рухливість окремих протеїнів і не пов'язані із біосинтезом білка в гепатопанкреасі коропів.

Підвищення концентрації метиламіну до 0,009 мг/дм³ у воді акваріума, в якій утримували риб третьої дослідної групи, збільшувало у плазмі крові коропів вміст білків з молекулярною масою 80 кДа (зона G) у 1,49 раза, знижувало вміст білків з молекулярною масою 170—150 кДа (зона D) у 1,3 раза і не впливало на вміст білків інших фракцій порівняно з аналогічними показниками у контрольній групі (див. табл. 2). Встановлено також деякі зміни фракційного складу білків плазми крові у риб третьої дослідної групи порівняно з аналогічними даними у коропів першої дослідної групи. Вони стосуються вмісту білків з молекулярною масою 180—190 кДа (зона C) і 900 кДа (зона A), рівень яких зростав відповідно у 1,7 і 1,2 раза (див. табл. 2).

Деякі відмінності у фракційному складі білків плазми крові зареєстровано між коропами третьої і другої дослідної групи, що є наслідком підвищення концентрації метиламіну у воді акваріума. У плазмі крові риб третьої дослідної групи порівняно з другою встановленовищий рівень білків з молекулярною масою 900 і 340 кДа (зони А і В) — відповідно у 1,15 і 1,2 раза, але нижчу кількість білків з молекулярною масою 150—170 кДа (зона D) — у 1,4 раза (див. табл. 2).

Таблиця 2
Фракційний склад білків у плазмі крові риб за дії метиламіну (%), $M \pm m$, $n = 4$

Білкові зони	Молекулярна маса, кДа	Групи			
		контрольна	дослідна 1	дослідна 2	дослідна 3
A	900	2,01±0,22	1,80±0,07	1,81±0,12	2,08±0,04***
B	340	8,53±0,95	6,78±0,86	7,24±0,12	8,39±0,48***
C	190—180	2,53±0,26	1,86±0,24	2,61±0,13**	3,08±0,32**
D	170—150	3,90±0,25	4,02±0,70	4,10±0,45	2,99±0,22***
E	100	4,80±1,56	4,10±0,88	4,44±0,25	4,11±0,28
F	90	10,52±1,02	11,35±0,61	13,01±0,84	11,11±0,61
G	80	5,48±0,50	7,60±0,51*	8,18±0,51*	8,16±0,30*
H	72—68	16,16±1,21	16,68±1,11	12,01±0,29*	13,97±0,74
J	54—52	10,00±0,52	9,11±1,18	8,52±0,21*	9,40±0,30
K	—	3,67±0,28	2,88±0,31	4,35±0,45**	3,86±0,62
L	—	3,60±0,50	2,96±0,14	3,16±0,31	3,21±0,33
M	35	0,85±0,11	0,72±0,05	0,87±0,07**	0,83±0,04
N	25	27,94±2,09	30,13±1,99	29,71±1,39	28,82±1,23

Тут і в табл. 3: * різниця достовірна ($p \leq 0,05$) порівняно з контролем; ** порівняно з першою дослідною групою; *** порівняно з другою дослідною групою.

Отже, проведеними дослідженнями встановлено, що метиламін за незначної концентрації і нетривалої дії практично не впливає на фракційний склад білків плазми крові дворічок коропа, а його дія посилюється зі збільшенням дози даного ксенобіотика у воді.

Показано, що витримування коропів впродовж 72 год у воді акваріума з різною концентрацією пропіламіну також впливало на фракційний склад білків плазми крові, що пов'язано зі зміною електрофоретичної рухливості протеїнів та дією даного ксенобіотика на процеси метаболізму у риб [18].

Встановлено, що в плазмі крові риб, навіть за нетривалого перебування у воді з пропіламіном, концентрація якого становила $0,04 \text{ мг}/\text{дм}^3$ (перша дослідна група), підвищується вміст протеїнів з молекулярною масою 25 кДа (зона N) і 90 кДа (зона F) відповідно у 1,2 і 1,4 раза та знижується рівень білків з молекулярною масою 180—190 кДа (зона C) у 1,8 раза і 52—35 кДа (зона L) — у 1,7 раза порівняно з контролем (табл. 3). Однак, не дивлячись на встановлені зміни фракційного складу білків, більшість білкових фракцій у плазмі крові коропів першої дослідної групи за вмістом не відрізнялась від аналогічних показників контрольної групи, що, ймовірно, свідчить про їхню здатність адаптуватись до низького рівня даного ксенобіотика у воді за його нетривалого впливу.

У коропів другої дослідної групи, які перебували у воді з концентрацією пропіламіну $0,06 \text{ мг}/\text{дм}^3$ впродовж 72 год, фракційний склад білків плазми крові зазнав більш виражених змін і характеризувався підвищено-

Таблиця 3
Фракційний склад білків у плазмі крові риб за дії пропіламіну (%), $M \pm m$, $n = 4$

Білкові зони	Молекулярна маса, кДа	Групи			
		контрольна	дослідна 1	дослідна 2	дослідна 3
A	900	$1,94 \pm 0,20$	$2,18 \pm 0,04$	$2,16 \pm 0,15$	$1,93 \pm 0,18$
B	340	$7,49 \pm 1,08$	$7,77 \pm 0,11$	$7,19 \pm 0,33$	$7,28 \pm 0,57$
C	190—180	$4,40 \pm 0,12$	$2,43 \pm 0,14^*$	$2,62 \pm 0,16^*$	$2,78 \pm 0,26^*$
D	170—150	$5,79 \pm 0,37$	$5,41 \pm 0,16$	$4,32 \pm 0,28^{**}^{***}$	$4,02 \pm 0,35^{***}$
E	100	$3,68 \pm 0,38$	$3,88 \pm 0,50$	$3,20 \pm 2,14$	$4,75 \pm 0,40^*$
F	90	$9,61 \pm 0,70$	$13,35 \pm 0,96^*$	$12,56 \pm 0,63^*$	$13,19 \pm 0,71^*$
G	80	$10,61 \pm 6,42$	$6,70 \pm 0,35$	$7,00 \pm 0,09$	$10,47 \pm 6,11$
H	72—68	$14,27 \pm 0,67$	$13,11 \pm 1,18$	$18,64 \pm 0,58^{**}^{***}$	$14,02 \pm 1,01^{***}$
J	54—52	$8,60 \pm 0,61$	$8,85 \pm 0,24$	$9,16 \pm 0,35$	$9,28 \pm 0,67$
K	—	$2,96 \pm 0,29$	$3,38 \pm 0,20$	$3,46 \pm 0,22$	$3,30 \pm 0,22$
L	—	$6,37 \pm 0,67$	$3,70 \pm 0,38^*$	$3,44 \pm 0,27^*$	$3,44 \pm 0,34$
M	35	$0,79 \pm 0,08$	$0,90 \pm 0,03$	$0,91 \pm 0,06$	$0,88 \pm 0,07$
N	25	$23,48 \pm 0,77$	$28,32 \pm 0,44^*$	$25,35 \pm 1,20$	$24,66 \pm 1,59$

ним вмістом протеїнів з молекулярною масою 68—72 і 90 кДа (зони Н і F) — відповідно у 1,3 і 1,3 раза, а також нижчим рівнем білків з молекулярною масою 52—35 кДа (зона L) — у 1,8 раза, 150—170 кДа (зона D) — у 1,7 раза і 180—190 кДа (зона C) — у 1,7 раза порівняно з контролем (див. табл. 3). Слід також зазначити, що підвищення концентрації пропіламіну у воді для риб другої дослідної групи до 0,06 мг/дм³, порівняно з першою, сприяло підвищенню в плазмі крові риб білків з молекулярною масою 68—72 кДа (зона Н) у 1,4 раза і зниженню — з молекулярною масою 150—170 кДа (зона D) — відповідно у 1,2 раза.

Одержані дані свідчать про те, що з підвищенням концентрації пропіламіну у воді його вплив на фракційний склад білків плазми крові риб посилюється, але незначним чином, що, ймовірно, пов’язано з невеликою різницею в кількості даного ксенобіотика у воді.

Цей висновок підтверджено результатами досліджень білкового спектру плазми крові дворічок коропа третьої дослідної групи. Подальше підвищення концентрації пропіламіну до 0,08 мг/дм³ у воді акваріума, в якому утримували коропів третьої дослідної групи, також не викликало значних змін у фракційному складі білків плазми крові. Однак у плазмі крові риб вказаної групи порівняно з контролем вміст протеїнів з молекулярною масою 150—170 і 180—190 кДа (зона D і C) виявився нижчим відповідно у 1,6 і 1,4 раза, а рівень протеїнів з молекулярною масою 100 і 90 кДа (зона Е і F) — вищим відповідно у 1,3 і 1,4 раза (див. табл. 3). У коропів третьої дослідної групи встановлено незначне зменшення вмісту білків з молекулярною масою 150—170 кДа (зона D) — у 1,3 раза і 25 кДа (зона N) — у 1,15 раза порівняно з першою дослідною групою, а також 72—68 кДа (зона Н) — у 1,3 раза порівняно з другою дослідною групою (див. табл. 3). Вміст білків інших низько- і високомолекулярних фракцій у плазмі крові коропів третьої дослідної групи не відрізнявся від контролю, а також аналогічних показників у риб першої і другої дослідної групи.

Отже, дослідженнями встановлено вплив пропіламіну на фракційний склад білків плазми крові дворічок коропа. Однак за незначної концентрації у воді і нетривалого впливу дворічки коропа здатні адаптуватись до негативного впливу даного ксенобіотика, що викликає зміну рівня протеїнів окремих фракцій за рахунок його впливу на електрофоретичну рухливість протеїнів.

Обговорення результатів досліджень

Ксенобіотики антропогенного походження, потрапляючи у воду, здатні впливати на фізіологічні функції та біохімічні процеси в організмі гідробіонтів, більшість із яких використовують в якості тестів при оцінці екологічного стану водойм [2]. Насамперед це стосується морфометричних ознак риб, морфологічного складу крові, показників метаболізму, а також білкового спектру плазми крові. Встановлено вплив сульфаніламідних препаратів, окремих антибіотиків, антигельмінтіків та гормонів на фракційний склад білків плазми крові, що дало можливість запропонувати цей показник в біотестуванні природних водойм [2]. До числа

широко розповсюдженіх ксенобіотиків води відносять також і значну кількість нижчих аліфатичних амінів, особливо метиламін та пропіламін. Їхній вплив на гідробіонтів обумовлений токсичними властивостями цих сполук і залежить від їхньої концентрації у воді, здатності дисоціювати у водному середовищі на іони, проникати в організм риб, впливати на кровотворні органи та білкові структури шляхом взаємодії з вільними карбоксильними групами залишків амінокислот в молекулі білків, внаслідок чого змінюється заряд білкової молекули [18]. Зміна заряду білкової молекули впливає на її електрофоретичну рухливість в електричному полі, що і викликає зміну фракційного складу білків плазми крові у дворічок коропа під дією метиламіну та пропіламіну (див. табл. 2, 3). Слід зазначити, що вплив даних ксенобіотиків на фракційний склад білків плазми крові риб залежав від їхньої концентрації у воді акваріума. До низької концентрації метиламіну та пропіламіну у воді за нетривалого впливу дворічки коропа здатні адаптуватись, змінюючи окремі ферментативні процеси, які лежать в основі пристосувальних реакцій в організмі риб. Це в першу чергу стосується процесів детоксикації досліджуваних ксенобіотиків, у яких задіяні цитохроми Р-450 і b5, а також низка ферментів — каталаза і пероксидаза крові та супероксиддисмутаза гепатопанкреаса риб [3, 4]. Можливо з цим механізмом пов'язаний той факт, що у плазмі крові риб першої дослідної групи за незначної концентрації метиламіну у воді встановлено зміни тільки однієї фракції білків, в той час як у коропів другої дослідної групи — шести, а у третьої — п'яти білкових фракцій із 13 виявлених. За високої концентрації у воді метиламін впливає не тільки на електрофоретичну рухливість білків плазми крові, але й на біосинтез білка у гепатопанкреасі риб, про що свідчить збільшення його вмісту у плазмі крові риб третьої дослідної групи.

Оскільки токсичні властивості аліфатичних амінів пов'язані із видом радикала і значно знижуються із збільшенням його молекулярної маси [13], ймовірно, це виявилося визначальним фактором щодо менш значного впливу пропіламіну як на загальний вміст, так і на фракційний склад білків плазми дворічок коропа порівняно з дією метиламіну, незважаючи на збільшення його концентрації у воді акваріума у більш ніж у 10 разів. Підтвердженням цього є результати досліджень вмісту загального білка в плазмі крові дворічок коропа третьої дослідної групи, який зростав на 21,3 % порівняно з контролем, а за нижчої концентрації — не змінювався, як і за впливу пропіламіну (див. табл. 1).

Вплив пропіламіну на риб проявляється у зміні фракційного складу білків плазми крові і також залежав від його концентрації у воді акваріума. Зареестровано зміну вмісту чотирьох білків у плазмі крові коропів першої дослідної групи і пяти протеїнів — у риб другої і третьої дослідної групи при підвищенні концентрації пропіламіну у воді з 0,04 до 0,06 і 0,08 мг/дм³, відповідно. Слід зазначити, що вказані зміни є наслідком впливу пропіламіну на електрофоретичну рухливість білків і не пов'язані зі зміною загального вмісту протеїнів у плазмі крові риб.

Таким чином, пропіламін, як і метиламін, маючи токсичні властивості, навіть у незначній концентрації здатний змінювати фракційний склад білків плазми крові риб, впливаючи на їхні функції, а отже — і на фізіологічні процеси в організмі.

Висновки

Встановлено, що дворічки коропа здатні адаптуватись до низької концентрації метиламіну у воді, не змінюючи загальний вміст та фракційний склад білків плазми крові. Підвищення концентрації метиламіну у воді збільшує вміст загального білка та змінює фракційний склад білків плазми крові, особливо високомолекулярних фракцій.

Пропіламін у низькій концентрації у воді не впливав на вміст загального білка та фракційний склад білків плазми крові, а при підвищенні рівня змінював значним чином білковий спектр плазми крові.

Список використаної літератури

1. Грубінко В.В., Синюк Ю.В., Прібіч Ф.А. Білки як адаптери та маркери інтоксикації у гідробіонтів. *Наук. зап. Терноп. нац. пед. ун-ту Сер. Біологія (Гідроекологія)*. 2009. Т. 39, № 1—2. С. 143—153.
2. Захаренко М.О., Курбатова І.М., Поляковський В.М. Механізми адаптації риб до дії ксенобіотиків води. Київ : Компрінт, 2020. 458 с.
3. Курбатова І.М. Вміст цитохромів b5 і P450 в мікросомах печінки щурів при дії етил- та пропіламіну і селеніту натрію. *Наук. вісник Нац. ун-ту ім. Т. Шевченка*. 2000. Т. 31. С. 18—19.
4. Курбатова І.М. Перекисне окислення ліпідів та ферментативна активність в тканинах щурів при дії аліфатичних амінів та селеніту натрію. *Наук. вісник Нац. аграр. ун-ту*. 2000. Т. 21. С. 120—125.
5. Курбатова І.М., Смоленський О.О. Характеристика амінів, шляхом надходження у середовище та токсична дія. *Наук. зап. Терноп. нац. пед. ун-ту Сер. Біол.* 2013. Т. 56, № 3. С. 49—53.
6. Лакин Г.Ф. Біометрія. Москва : Вищ. шк., 1990. 352 с.
7. Тупицкая О.Н., Смоленский О.О., Курбатова И.Н. Биохимические показатели крови карпа (*Cyprinus carpio* L.) под воздействием алифатических аминов. *Вестн. Твер. гос. ун-та: Сер. Биол. и экол.* 2017. Т. 4. С. 33—39.
8. Цудзевич Б.О., Курбатова І.М. Вплив первинних аліфатичних амінів на процеси окисного фосфорилювання в мітохондріях печінки щурів. *Укр. біохім. журн.* 1999. Т. 72, № 6. С. 31—38.
9. Al Bulushi I.M., Deeth Y.C., Poole S. Biogenic amines in fish: roles in intoxication, spoilage, and nitrozamine formation — a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2009. Vol. 49, N 4. P. 369—377.
10. Biji K.B., Ravishankar C.N., Venkateswarlu R. et al. Biogenic amines in seafood: a review. *J. Food Science Technology*. 2016. Vol. 53, N 5. P. 2210—2218.
11. Bondarenko S., Golovin A., Dmitrenko M. et al. Computer registration and analysis is of TLC. *Chromatogr. J. of the Society*. 2003. Vol. 2, N 4. P. 22—30.
12. Bulliet H.A.H. Amines from environmental sources. *J. Chromatogr. Library*. 1992. Vol. 51. (B). P. 583—595.
13. Finlay J.A., Callow M.E. The toxicity of alkyl amines: The effect of pH. *J. of Bio adhesion and Biofilm Res.* 1997. Vol. 11, Ass. 1. P. 19—30.
14. Gornely S. Determination of serum protein by means of biuretreaction. *J. Biochemistry*. 1949. Vol. 177, N 2. P. 751—755.
15. Greim H., Bury D., Klimisch H. J. et al. Toxicity of aliphatic amines: Structure-activity relationship. *Chemosphere*. 1998. Vol. 36, N 2. P. 271—295.

16. Joo S.H., Mitch W.A. Nitrile, aldehyde, and halonitroalkane formation during chlorination/chloramination of primary amines. *Environ. Sci. and Technol.* 2007. Vol. 41, N 4. P. 1288—1296.
17. Kokunin B.A. Statistical date processing with a small number of experiments. *Ukr. biochem. J.* 1975. Vol. 47, N 6. P. 776—790.
18. Krusemark C.J., Frey B.L., Smith L.M. Belshaw P.J. Complete chemical modification of amine and acid functional groups of peptides end small proteins. *Methods of Molecular Biology.* 2011. Vol. 753. P. 77 – 91
19. Leamml U.K. Cleavage of structural proteins daring the assembly of the bacteriophage. *Nature.* 1970. Vol. 227 (5259). P. 680—685.
20. Llop A., Pocurull E., Borrull F. Automated determination of aliphatic primary amines in wastewater by simultaneous derivatization and headspace solid-phase microextraction followed by gas chromatography-tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A.* 2010. Vol. 1217, N 4. P. 575—581.
21. Mitch W.A., Sharp J.O., Trussell R.R. et al. N-Nitrosodimethylamine (NDMA) as a drinking water contaminant: A review. *Environ. Engineer. Sci.* 2003. Vol. 20, N 5. P. 389—404.
22. Pietsch J., Hampel S., Schmidt W., Brauch H.D. Polar nitrogen compounds and their behaviour in the drinking water treatment process. *Water Res.* 2001. Vol. 35, N 12. P. 3537—3544.
23. Reemtsma T., Jekel M. Amines / Organic Pollutants in the Water Cycle. Wiley. Weiheim. 2006. Vol. 8. P. 181—210.
24. Sacher F., Lenz S., Brauch H. J. Analysis of primary and secondary aliphatic amines in waste water and surface water by gas chromatography mass spectrometry after derivatization with 2,4-dinitrofluorobenzene or benzenesulfonyl chloride. *J. Chromatogr. A.* 1997. Vol. 754 (17). P. 85—93.
25. Wang W.F., Ren S.Y., Zhang H.F. et al. Occurrence of nine nitrosamines and secondary amines in source water and drinking water: Potential of secondary amines as nitrosamine precursors. *Water Res.* 2011. Vol. 45 (16). P. 4930—4938.

Надійшла 10.05.2022

I.M. Kurbatova, Dr. Sci. (Biol.), Assoc. Prof.,
National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine,
Heneral Rodimtseva Str., 19, Kyiv, 03041, Ukraine,
y-mail: innakurbatova@ukr.net,
ORCID 0000-0002-7333-7371

M.O. Zakharenko, Dr. Sci. (Biol.), Prof., Corresponding Member of the NAAS
National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine,
Heneral Rodimtseva Str., 19, Kyiv, 03041, Ukraine,
e-mail: sangin1996@ukr.net
ORCID 0000-0001-7055-9086

O.S. Yaremchuk, Dr. Sci. (Agr.), Prof.,
Vynnytsya National Agrarian University,
Sonyachna, 3, Vynnytsya, 21008, Ukraine,
e-mail: office@vsau.org
ORCID 0000-0002-3283-6107

E.E. Romanova, PhD student,
National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine,
Heneral Rodimtseva str., 19, Kyiv, 03041, Ukraine,
e-mail: romanova_ella@ukr.net,
ORCID 0000-0002-2624-2513

FRACTIONAL PROTEIN COMPOSITION OF BLOOD PLASMA OF CARP (*CYPRINUS CARPIO* L.) UNDER THE ACTION OF ALIPHATIC AMINES

The effect of different concentrations of methylamine and propylamine in water on the content and fractional composition of carp (*Cyprinus carpio* L.) plasma proteins was studied. The content of total protein in the blood plasma of two-year-old carp increased of methylamine (at a concentration in water of 0,009 mg/dm³, or at a dose of 0,005 and 0,007 mg/dm³) and propylamine did not affect (at a concentration of 0,04; 0,06 and 0,08 mg/dm³). It was discovered that the main proteins in carp plasma are proteins with a molecular weight of 52—54, 68—72 and 90 kDa, and the protein content with other molecular weights of 35, 80, 100, 150—170, 340 and 900 kDa is much lower. Fish that were in water with different concentrations of methylamine for 72 hours had protein content with a molecular weight of 25, 90 and 100 kDa and decreased the level of proteins located in the zones 35—52, 150—170 and 180—190 kDa, and others did not change in the blood plasma. The detected changes in the fractional composition of carp plasma proteins under the action of propylamine depend on its concentration in water and are characterized by high protein content with a molecular weight of 90 and 100 kDa, and low levels of proteins belonging to the range of 150—170 and 180—190 kDa at constant values of proteins of other fractions. It is concluded that even the low concentration of methylamine and propylamine in water have huge effect on the protein spectrum of fish plasma.

Key words: carp, blood plasma, proteins, methylamine, propylamine.