

¹В.М. ПОЛЕТАЙ, ²С.П. ВЕСЕЛЬСЬКИЙ, ²М.Ю. МАКАРЧУК¹Чернігівський національний педагогічний університет імені Т.Г. Шевченка
вул. Гетьмана Полуботка, 53, Чернігів, 14038²Київський національний університет імені Тараса Шевченка
вул. Володимирська, 64, Київ, 01601

СПІВВІДНОШЕННЯ ОРГАНІЧНИХ СКЛАДОВИХ У ЖОВЧІ КОРОПІВ-ДВОЛІТОК ПРИ ДІЇ ГЕРБІЦИДІВ

Вивчалось співвідношення метаболітів ліпідного та жовчোকислотного обміну в міхуровій жовчі коропів-дволіток при адаптації їх до умов існування. Виявлено, що при екзогенному надходженні ксенобіотиків в організм у коропів-дволіток формувалась реакція, яка проявлялась в зміні ефективності роботи цілого ряду поліферментних систем клітин печінки, що забезпечують жовчоутворення.

Ключові слова: печінка, жовч, холато-холестероловий коефіцієнт; коефіцієнт етерифікації холестерину; коефіцієнт кон'югації; коефіцієнт гідроксилювання; ефективність роботи поліферментних систем, гербіциди

Органічні молекули відіграють головну роль у підтриманні колоїдної системи жовчі. Разом з тим, їх співвідношення в цих біорідинах є надто залежним від процесів біосинтезу, біотрансформації та транслокації через відповідні мембрани клітин, які відбуваються в тканинах різних органів тваринного організму, серед яких провідне місце займає печінка. Відомо, що у біотрансформації чужорідних речовин, в тому числі і гербіцидів, головну роль відіграє також цей орган [6].

Прісноводні риби, включно короп, піддаються значному екзогенному навантаженню гербіцидами у зв'язку з їх інтенсивним застосуванням у сільському господарстві та подальшим потраплянням до природних і штучних водойм [9].

Тому, нами досліджено вплив найпоширеніших гербіцидів раундапу та зенкору, що мають різну хімічну структуру, на співвідношення метаболітів ліпідного та жовчোকислотного обміну в жовчі, крові та тканині печінки при адаптації риб до змінених умов існування.

Матеріал і методи досліджень

Об'єктом дослідження слугував лускатий короп (*Cyprinus carpio* L.) дворічного віку масою 210-245 г.

Рівень досліджуваних гербіцидів задавали у 200-літрових акваріумах з розрахунку 0,04 – 0,08 мг/дм³ для раундапа (гліфосата) та 0,2 – 0,4 мг/дм³ для зенкора, що дорівнює відповідно двом та чотирьом гранично допустимим концентраціям (ГДК) для риб. Дослід проводився в осінньо-зимовий період впродовж 14 діб при температурі води в межах 8-10°C.

Відбір досліджуваних проб біорідин та тканин для визначення вмісту речовин ліпідної природи проводили за методикою, розробленою в нашій лабораторії [3]. Екстракцію загальних ліпідів з відібраних проб проводили за допомогою однофазної системи органічних розчинників: хлороформ-ацетон-етанол у співвідношенні 7:2:1. Основні фракції ліпідів визначали в препаратах загальних ліпідів, отриманих з проб міхурової жовчі риб, за допомогою методу тонкошарової хроматографії. Цей метод дозволяє в мікропробах біоматеріала виявити, ідентифікувати та кількісно визначити безпосередньо на хроматограмах такі складові як фосfolіпіди, вільний та ефірозв'язаний холестерин, неетерифіковані жирні кислоти та тригліцериди. Це забезпечується особливою методикою підготування біопроб коропа для визначення даного класу метаболітів у поєднанні з хроматографією на пластинках Sylufol (ЧССР) при використанні найчастіше вживаної системи розчинників, котра включає гексан, диетиловий ефір та концентровану льодяну оцтову кислоту в об'ємному співвідношенні 76:23:1.

Жовчні кислоти в пробах міхурової жовчі, крові та безпосередньо в тканині печінки риб після екстракції визначали за допомогою методу тонкошарової хроматографії, що був розроблений в нашій лабораторії [8]. Тонкошарова хроматографія здійснювалась на вищезазначених хроматографічних пластинках Silufol у системі розчинників: аміловий ефір

оцтової кислоти – бутанол – толуол – оцтова кислота – вода у співвідношенні 30:10:10:30:10 за об'ємом.

Кількісну оцінку вмісту окремих вільних та кон'югованих жовчних кислот і ліпідів у вищеназваних біоматеріалах проводили за допомогою прямої денситометрії (ДО-1М) у відповідності до калібрувальних кривих, побудованих з використанням чистих стандартних речовин. Денситометрія окремих фракцій ліпідів здійснювалась після фарбування хроматограм комплексним барвником, який містив 15 мл льодяної оцтової кислоти, 1 г фосфорномолібденової кислоти, 1 мл концентрованої сірчаної кислоти та 5 мл 50%-ного водного розчину трихлороцтової кислоти.

Розрахунки коефіцієнтів кон'югації (КК), гідроксилювання (КГ) жовчних кислот, а також оцінку ефективності роботи поліферментних систем (ЕРПС), залучених до біосинтезу різних груп даних сполук, здійснювали відповідно до рекомендацій Ганіткевича та Карбач [1]. Одночасно проводили розрахунки холато-холестеролового коефіцієнта (ХХК), коефіцієнта етерифікації холестеролу (КЕХ) та індексу потенційної здатності холестеролу до кристалізації (ПЗХК) відповідно до Скакуна та Саратикова [7].

Цифровий матеріал обробляли методом варіаційної статистики з урахуванням критерію Стьюдента. Вірогідною вважали різницю між дослідом та контролем при $P < 0,05$.

Результати досліджень та їх обговорення

Отримані кількісні дані щодо концентрацій окремих жовчних кислот та певних фракцій ліпідів в біорідинах та тканинах коропа після навантаження їх організму досліджуваними дозами раундапу та зенкору відображені в опублікованих нами раніше наукових працях. [4, 5]. Проведені подальші розрахунки коефіцієнтів співвідношення метаболітів жовчикоислотного та ліпідного обміну дають більш наочне уявлення про особливості перебігу фізіолого-біохімічних процесів у тканині печінки та змін характеристики колоїдної системи жовчі за умов токсичного враження тварин. Зокрема, у міхуровій жовчі дворічних коропів холато-холестероловий коефіцієнт під дією гербіциду зенкору знижувався від 3% (2 ГДК) до 41% ($P < 0,05$) (4 ГДК), тоді як при дії 2 ГДК раундапу він практично не змінився, але при дії 4 ГДК знизився на 22% (таб. 1). Такі зміни були викликані переважаючим зниженням жовчних кислот [5] на тлі незначного зниження холестеролу міхурової жовчі [4] за умов дії вказаних концентрацій гербіцидів.

Варто відзначити, що випробувані нами гербіциди по-різному впливають на перебіг процесів етерифікації в тканині печінки риб. Так, коефіцієнт етерифікації холестеролу зростає під дією зенкору на 9 – 37%, а під дією гербіциду раундапу мав тенденцію до зниження на 8 – 22% відповідно до діючої концентрації гербіциду. Це свідчить про те, що гербіцид зенкор в значній мірі пригнічує процеси етерифікації холестеролу в гепатоцитах і, як результат, у складі жовчі значно зростає концентрація вільного холестеролу, що збільшує літогенність жовчі.

Стосовно коефіцієнта кон'югації жовчних кислот зазначимо, що обидва гербіциди мали односпрямований вплив, який був більш вираженим для зенкора. Зниження даного коефіцієнту під дією вже 2 ГДК зенкору становило 65% ($P < 0,05$), а за дії 4 ГДК гербіциду знизило його більше, ніж у 6 разів ($P < 0,01$). Під дією раундапу мала місце тенденція до зниження даного коефіцієнту на 2–11% порівняно з контрольними величинами. Даний показник свідчить про те, що поліферментні системи печінки, що забезпечували процес кон'югації жовчних кислот, могли бути залученими в механізми детоксикації екзогенних токсинів, якими є гербіциди.

Більш виражене зниження коефіцієнту кон'югації жовчних кислот, прямо залежне від концентрації гербіциду, спостерігалось при дії зенкору. Це може бути обумовлене особливостями хімічної будови даного гербіциду. На відміну від зенкору, гербіцид раундап (гліфосат) є похідним амінокислоти гліцину і, можливо, в зв'язку з цим менше залучає систему детоксикації. Є припущення, що цей гербіцид модифікується в печінці і включається в обмін речовин, що є адаптивною компенсаторною реакцією, яка формується у риб через 14 діб [2].

Коефіцієнти співвідношення органічних складових жовчохолічного та ліпідного обміну в міхуровій жовчі коропів-дволіток при дії зенкору та раундапу

Умови досліджу	Коефіцієнт					
	холато-холестероловий ¹	етерифікації ХЛ ²	кон'югації ³	гідроксилування ⁴	Г/Т ⁵	ПЗХК ⁶
Контроль	126,44	3,73	165,39	0,06	0,03	0,77
Зенкор 2ГДК 4ГДК	123,17 74,07*	4,07 5,12	57,61* 25,45**	0,07 0,11**	0,02 0,03	0,78 1,26
Раундап 2ГДК 4ГДК	127,20 98,23	3,44 2,92	162,89 146,49	0,05 0,04	0,04 0,07*	0,76 0,99

Примітка: ¹ – відношення вмісту суми жовчних кислот до вмісту загального холестеролу

² – відношення вмісту вільного холестеролу до його ефірів

³ – відношення вмісту кон'югованих жовчних кислот до вільних жовчних кислот

⁴ – відношення вмісту тригідроксихолатів (холева кислота та її кон'югати з таурином та гліцином) до дигідроксихолатів (хенодезоксихолева та дезоксихолева кислота та їх кон'югати з таурином та гліцином)

⁵ – відношення вмісту глікокон'югатів жовчних кислот до таурокон'югатів (Г/Т – коефіцієнт), що характеризує ефективність роботи поліферментних систем

⁶ – показник потенційної здатності холестеролу до кристалізації [5]

* – P<0,05, ** – P<0,01 для показників ліпідного та жовчохолічного обміну, що використовувались для розрахунку коефіцієнтів

На коефіцієнт гідроксилування жовчних кислот досліджувані гербіциди мали різноспрямований вплив. Зенкор (4 ГДК) викликав переконливе зростання цього коефіцієнта на 83% (P<0,01), що можна пояснити компенсаторною активацією ферментів даної ланки за умов залучення інших в процесах детоксикації. Така ж концентрація раундапу спричинила зниження коефіцієнта гідроксилування жовчних кислот на 33% (P<0,05) (рис. 1).

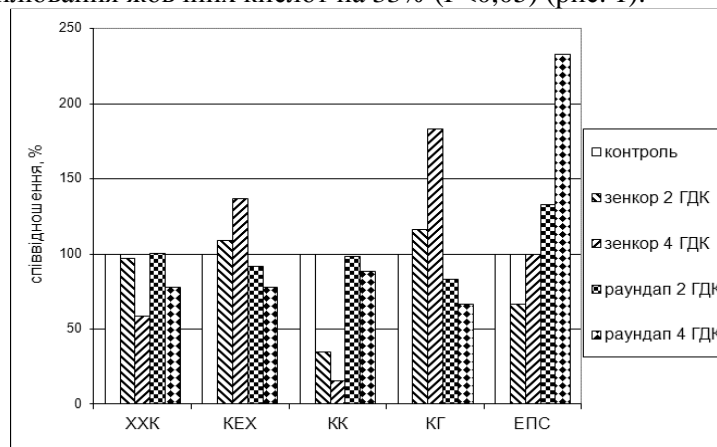


Рис. 1. Співвідношення органічних складових жовчохолічного та ліпідного обміну в жовчі коропів-дволіток при дії 2 та 4 ГДК гербіцидів зенкору та раундапу (у відсотках до контролю, контроль – 100%).

ХХК – холато-холестероловий коефіцієнт; КЕХ – коефіцієнт етерифікації холестеролу; КК – коефіцієнт кон'югації; КГ – коефіцієнт гідроксилування; ЕПС – ефективність роботи поліферментних систем, що характеризує відношення вмісту глікокон'югатів жовчних кислот до таурокон'югатів (Г/Т – коефіцієнт).

Зниження даного коефіцієнту, як і всіх інших, під дією раундапу вказує на його загальнотоксичну дію на гепатоцит.

Відношення глікохолатів до таурохолатів (Г/Т-коефіцієнт) зросло більше, ніж у 2 рази порівняно з контрольними величинами під дією раундапу. Збільшення вмісту в міхуровій жовчі жовчних кислот, кон'югованих саме з гліцином, свідчить на користь вищезгаданого припущення, щодо включення раундапу в обмін речовин, як похідного гліцину. Гербіцид зенкор не викликав достовірних змін цього показника.

Показник потенційної здатності холестеролу до кристалізації зростав за умов дії обох гербіцидів, а це вказує на те, що, незважаючи на певні відмінності у дії досліджуваних препаратів на перебіг фізіолого-біохімічних процесів у печінці, вони призводять до суттєвого зниження стабільності колоїдної системи жовчі коропа.

Висновки

1. Виявлені зміни співвідношення основних органічних компонентів жовчі вказують на те, що при екзогенному надходженні ксенобіотиків в організм у коропів-дволіток сформувалась відповідна реакція, яка проявлялась в зміні ефективності роботи цілого ряду поліферментних систем клітин печінки, що забезпечують біосинтетичну, дезінтоксикаційну та екскреторну функцію печінки.
2. Гербіцид зенкор викликав зниження холато-холестеролового коефіцієнта за рахунок пригнічення синтеза та екскреції жовчних кислот в жовч, збільшував кількість неетерифікованого холестеролу у складі жовчі, різко пригнічував процеси кон'югації жовчних кислот, але стимулював їх гідроксилування.
3. Гербіцид раундап в дещо меншій мірі порівняно з зенкором викликав зниження холато-холестеролового коефіцієнта, збільшував кількість етерифікованого холестеролу, помірно пригнічував процеси кон'югації та гідроксилування, змінював співвідношення кон'югатів жовчних кислот.
4. Обидва досліджувані гербіциди, в більшій мірі зенкор, порушували колоїдні властивості жовчі, що збільшувало її літогенність.

1. Ганиткевич Я.В. Исследования желчи. Биохимические и биофизические методы / Я.В. Ганиткевич, Я.И. Карбач. — 1985. — К.: Вища школа. — 136 с.
2. Жиденко А.О. Морфофізіологічні адаптації різновікових груп *Cyprinus carpio* L. за несприятливої дії екологічних факторів: автореф. дис. докт.біол. наук. 03.00.16 / Одеський національний університет імені І.І. Мечникова / А.О. Жиденко. — Одеса, 2009. — 40 с.
3. Патент 99031324 Україна, МБІ А61В5/14 Спосіб підготовки проб біорідин для визначення вмісту речовин ліпідної природи: Пат. 99031324 Україна, МБІ А61В5/14/ С.П. Весельський, П.С. Лященко, С.І. Костенко, З.А. Горенко, Л.Ф. Куровська (Україна) — № 33564А; Заявл. 05.10.99; Опубл. 15.02.2001, Бюл. № 1.
4. Полетай В.М. Вплив гербіцидів на проміжний обмін ліпідів в організмі коропа / В.М. Полетай, С.П. Весельський, П.І. Янчук // Вісник Черкаського університету, біологія. — 2010. — № 184. — С. 110—114.
5. Полетай В. Особливості проміжного обміну жовчних кислот в організмі коропа при дії пестицидів / В. Полетай, А. Жиденко, С. Весельський, М. Макарчук. — Вісник КНУ ім. Тараса Шевченка: Сер. Біологія, 2010. — №55. — С. 4—7.
6. Романенко В.Д. Печень и регуляция межклеточного обмена (млекопитающие и рыбы) / В.Д. Романенко. — К., Наукова думка, 1978. — 184 с.
7. Саратиков А.С. Желчеобразование и желчегонные средства / А.С. Саратиков, Н.П. Скакун — Томск: Изд-во Томского ун-та, 1991. — 260 с.
8. Способ определения желчных кислот в биологической жидкости: А.с. 4411066/14 СССР, МБІ G 01 N 33/50 / С.П. Весельський, П.С. Лященко, И.А. Лукьяненко (СССР). — № 1624322; Заявлено 25.01.1988; Опубл.30.01.1991, Бюл.№ 4.
9. Яковенко Б.В. Біохімічні зміни в організмі коропа лускатого під впливом гербіцидного забруднення навколишнього середовища / Б.В. Яковенко, О.Б. Мехед // Фальцвейнівські читання. Збірник наукових праць: Матеріали міжнародної наукової конференції 23-25 квітня 2003 року. — Херсон, 2003 — С. 395—396.

В.М. Полейтай, С.П. Весельский, Н.Е. Макаrchук

Черниговский национальный педагогический университет имени Т.Г. Шевченка

Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко

СООТНОШЕНИЕ ОРГАНИЧЕСКИХ СОСТАВЛЯЮЩИХ В ЖЕЛЧИ КАРПОВ-ДВУХЛЕТОК ПРИ ДЕЙСТВИИ ГЕРБИЦИДОВ

Изучали соотношение метаболитов липидного и желчекислотного обмена в желчи карпов-двухлеток при адаптации их к условиям существования. При экзогенном поступлении ксенобиотиков в организм у карпов-двухлеток формировалась ответная реакция, которая проявлялась в изменении эффективности работы целого ряда полиферментных систем клеток печени.

V.M. Poletay, S.P. Veselskyi, M.U. Makarchuk

T.G. Shevchenko Chernigiv National Pedagogical University, Ukraine

Taras Shevchenko Kyiv National University, Ukraine

RATIO OF THE ORGANIC CONSTITUENTS IN BILE OF THE TWO-YEAR-OLD CARP IN HERBICIDES ACTION.

Ratio of the constituents of lipid and bile acid metabolism was studied in fish bile during their adaptation to the changed conditions of existence. It was shown, that efficiency of functionation of some polyenzymatic systems in the liver cells of the two-year-old carp was drastically changed in exogenous intake of xenobiotics.

Рекомендує до друку

Надійшла 19.09.2014

В.В. Грубінко

УДК 598.221.1

¹ Д.В. СТРАШНЮК, ²Р.М. КИРИЧЕНКО

¹Тернопільський національний педагогічний університет імені Володимира Гнатюка
вул. М. Кривоноса, 2, Тернопіль, 46027

²Привільненська загальноосвітня школа І–ІІІ ступенів, Дубенський район, Рівненська область, 35622

ОСОБЛИВОСТІ ВИРОЩУВАННЯ АФРИКАНСЬКОГО СТРАУСА (STRUTHIO CAMELUS) В УМОВАХ ПОЛІССЯ РІВНЕНЩИНИ

З'ясовано чисельність та особливості утримання африканських страусів в умовах Полісся Рівненщини протягом 2012–2013 рр. на території фермерських приватних господарств. Описано біологічні особливості виду та залежності розвитку особин від клімату, годівлі та умов утримання.

Ключові слова: страус африканський, умови утримання, норми годівлі, корми

Вибір теми базується на новизні та маловивченості виду Страус (Struthio) та особливостей вирощування в умовах клімату України. Оскільки страуси вид, що історично невластивий для території України, проживає в інших кліматичних умовах, то їх особливості в Україні маловивчені. У наш час великого поширення набуває промислове вирощування страусів, як тварин для виробництва яєць, шкіри, пір'я та м'яса, а також як декоративних тварин, для відпочинку, розваг і предметів декору приміщень [5, 6].

В Україні на сьогодні існують спеціалізовані ферми та малі приватні господарства, зоопарки та багато місць для розведення та використання цих тварин, але у наукових колах, учбових закладах особливості вирощування страусів малодосліджені [1, 4].

Зважаючи на активне використання страусів для вироблення різної продукції для подальшої реалізації виникає питання: чи варто утримувати цих птахів?