



УДК 636.02:597.55:576.344

© 2009

В. Я. Бияк, Ю. В. Синюк, В. З. Курант, В. В. Грубінко

Видові особливості фракційного складу білків сироватки крові прісноводних риб заходу Поділля

(Представлено академіком НАН України В. Д. Романенком)

Показано видові особливості фракційного складу білків сироватки крові коропа, карася, окуня та щуки. Розглянуто зміну фракційного складу білків сироватки крові як відповідь організму риб на дію факторів оточуючого середовища.

Білки сироватки крові є досить лабільною метаболічною системою, що відображає адаптивні зміни в організмі, які відбуваються під впливом внутрішніх та зовнішніх факторів. Вміст та співвідношення фракцій білків сироватки крові є видоспецифічними [1]. Ізоморфізм білків риб розглядають, з одного боку, як наслідок внутрішньопопуляційної мінливості, що важливо для оцінки популяційної динаміки та видоутворення, а з іншого — як результат екстремального пресу антропогенних факторів, насамперед забруднення водойм, що може служити основою для екомоніторингу [2]. Характерні для представників окремих видів форми білків крові риб визначаються в першу чергу генотипом, однак оскільки більшість риб є поліплоїдами, то його реалізація залежить від низки біотичних та абіотичних чинників. Зміна загального вмісту білків та їх фракційного складу сироватки крові риб залежить від сезону [3], віку [4] та фізіологічного стану організму [5].

У зв'язку з вищесказаним метою нашого дослідження було встановлення білкового складу сироватки крові найпоширеніших прісноводних риб заходу Поділля — коропа, карася, окуня та щуки.

В експериментах використовували особин коропа *Cyprinus carpio* L., карася *Carassius auratus* L., окуня *Perca fluviatilis* L. та щуки *Esox lucius* L. масою 290–330 г, 150–230 г, 170–230 г та 200–350 г відповідно, яких відбирали з річок Серет, Стрипа та Золота Липа, що протікають на території Тернопільської області. Вода цих річок використовується в основному для господарсько-побутових потреб. Водопостачання комунального господарства, як правило, будується на зворотній основі. У межах цих територій формуються певні обсяги стічних вод та сміття, що негативно впливає на стан малих річок. У зв'язку з аграрною спрямованістю регіону найбільший вплив на режим малих річок здійснює сільськогосподарська діяльність. Її головним проявом, що визначає стан малих річок, є: зміна природної структури рослинного покриву річкових долин; застосування мінеральних добрив на полях, що

обумовлює надходження в річки великої кількості сполук азоту та фосфору; використання пестицидів, що може призводити до міграції отрутохімікатів по харчових ланцюгах та їх нагромадження в організмі кінцевих споживачів.

Риб виловлювали з водойм траловим способом безпосередньо перед експериментом, транспортували в лабораторію, де відразу відбирали тканини для досліджень.

Загальний вміст білків у сироватці крові визначали за методом Лоурі та ін. [6]. Для досліджень білкових фракцій сироватки крові риб використовували діагностичний набір для електрофоретичного розділення білків сироватки крові на агарозі “Corma gel protein 100” (“Corma”, Австрія). Розшифрування фореграм проводили на денситометрі цієї ж фірми. Одержані результати піддавали статистичній обробці за загальноприйнятою методикою з використанням t-критерію Стьюдента [7].

Результати досліджень свідчать про видові відмінності вмісту білків, співвідношення білкових фракцій, а також білкового коефіцієнта в сироватці крові коропа, карася, окуня та щуки. Так, найвищий вміст білків (табл. 1) відмічено у карася; у коропа, окуня та щуки цей показник нижчий на 15,1, 30,1 та 33,6% відповідно. Низький вміст білків у крові окуня та щуки можна пояснити тим, що це швидкоплаваючі види і їх білки швидше використовуються в метаболічних процесах [8]. Високі показники вмісту в крові карася, імовірно, пов'язані з підвищеним рівнем синтезу білків у цього виду риб.

Діагностичне використання має показник кількісного співвідношення між фракціями альбумінів та глобулінів, що названий білковим коефіцієнтом. За нашими даними, цей показник найвищий у коропа, в 1,53 раза він нижчий у окуня, в 2,3 раза — у щуки та в 3,3 раза — у карася. Зауважимо, що ці значення істотно нижчі, ніж у теплокровних тварин та людини, в яких величина білкового коефіцієнта знаходиться в межах 1,2–2,0 [9]. Це пояснюється еволюційно-екологічними особливостями білкового складу крові риб.

Гетерогенність білків сироватки крові виявлена як для різних видів риб, так і в межах екологічних груп цього класу хребетних тварин [1]. Згідно з отриманими даними, в сироватці крові кісткових риб містяться білки, подібні за електрофоретичною рухомістю до альбумінів, альфа-, бета- і гамма-глобулінів ссавців та людини. Тому для аналізу отриманих результатів нами використано номенклатуру Тізелюса, згідно з якою за рекомендаціями, даними в роботі [10], ідентифіковано альбуміни, α_1 -, α_2 -, β - і γ -глобуліни.

У сироватці крові досліджених видів риб нами виявлено білки усіх вищезазначених фракцій (табл. 2). У кількісному відношенні серед білків сироватки крові у коропа і окуня найбільшу частку становлять альбуміни. При цьому їх вміст у коропа перевищує аналогічний в окуня на 25,2%. Кількість білків у цій фракції у карася в 2,4 раза, у щуки в 1,8 раза нижча, ніж у коропа.

Альбуміни відіграють істотну роль у підтриманні колоїдно-осмотичного тиску крові, а також служать для організму важливим джерелом амінокислот. Крім того, з альбумінами пов'язують транспорт ряду як низько-, так і високомолекулярних речовин — аміно-

Таблиця 1. Загальний вміст білків та значення білкового коефіцієнта сироватки крові деяких видів риб річок заходу Поділля ($M \pm m$, $n = 9$)

Показник	Короп	Карась	Окунь	Щука
Загальний вміст білків, г/л	12,96 ± 0,12	14,91 ± 0,09	11,46 ± 0,12*	11,18 ± 0,19*
A/Г	0,60 ± 0,05	0,18 ± 0,01*	0,39 ± 0,02*	0,26 ± 0,02*

*Тут і в табл. 2 відхилення досліджуваних показників статистично достовірні порівняно з такими у коропа ($P < 0,05$).

кислот, жирних кислот, вітамінів, гормонів, а також катіонів та токсинів [11]. Тому різна кількість білка в цій фракції є наслідком інтенсивності метаболізму, що в різних видів риб визначається їх трофічним статусом та руховою активністю. Зменшення кількості альбумінів пов'язують не стільки із посиленням їх катаболізму, скільки із зниженням їх синтезу. Це відбувається тоді, коли блокуються шляхи синтезу цих білків або коли необхідні субстрати використовуються на інші потреби організму — пластичні чи енергетичні [12], що стає визначальним при адаптації риб до екстремальних екологічних чинників.

Глобуліни сироватки крові беруть участь у транспортуванні ліпідів, гормонів, вітамінів та іонів металів, утворюють важливі компоненти системи згортання крові, а фракція γ -глобулінів містить антитіла імунної системи [13]. У нашому дослідженні глобуліни сироватки крові вивчених видів риб були розділені на α_1 -, α_2 -, β - та γ -фракції. У коропа найвищий рівень білка виявлено у фракції β -глобулінів, у карася і щуки — у фракції α_1 -глобулінів, а в окуня — у фракції γ -глобулінів. До фракції α_1 -глобулінів належать такі білки, як анти-трипсин, який відповідає за інгібування трипсину, антихімотрипсин, що має значення в інгібуванні хімотрипсину, ліпопротеїн, протромбін та ін. Найвищий вміст білків у цій фракції виявлено у карася, на 12,5% його менше у щуки, на 54,8% — у окуня і на 72,3% — у коропа. При цьому концентрація α_1 -глобулінів у карася перевищує таку у коропа в 3,6 раза.

Щодо фракції α_2 -глобулінів, то тут відмічені значно менші відмінності у досліджених видів риб. Вміст білків у цій фракції у карася і щуки практично однаковий і становить близько 19%. Порівняно з карасем він на 4% нижчий у окуня та на 37,5% — у коропа. За даними літератури [14], у фракції α_2 -глобулінів містяться макроглобулін, функцією якого є перенесення іонів цинку, та церулоплазмін — білок, який активно транспортує іони міді. Отримані нами експериментальні дані свідчать про те, що синтез цих білків у сироватці крові досліджених видів риб відбувається на однаковому рівні.

Міжвидові відмінності вмісту білка у фракції β -глобулінів більш істотні. Найвищий показник виявлено у коропа, що вдвічі перевищує аналогічні у карася та щуки. Кількість білків у складі фракції β -глобулінів окуня також на 42,2% нижча, ніж у коропа. Однією з основних функцій β -глобулінів є транспорт іонів заліза [15]. Зниження вмісту цього металу в крові спричиняє зниження активності процесів окиснення в організмі та зміщення рівноваги в бік утворення енергії анаеробним шляхом. Аналізуючи отримані дані, можна зробити висновок про те, що саме у коропа білкова система крові найбільш пристосована до анаеробних умов існування.

Із функцією γ -глобулінів, білків, які містять антитіла, в основному пов'язують захисні властивості організму. Найвищий вміст білків цієї фракції нами виявлено в окуня (20,5% загальної кількості білків усіх фракцій). Практично вдвічі менша концентрація γ -глобулінів у сироватці крові у коропа, на 23,1% — у карася та на 29,5% — у щуки.

Таблиця 2. Фракційний склад білків сироватки крові деяких видів риб річок заходу Поділля, % від загального вмісту білків ($M \pm m$, $n = 9$)

Вид	Альбуміни	Глобуліни			
		α_1	α_2	β	γ
Короп	37,07 \pm 1,94	9,50 \pm 0,74	12,09 \pm 1,09	30,61 \pm 3,06	10,74 \pm 0,73
Карась	15,33 \pm 1,00*	34,32 \pm 1,58*	19,35 \pm 1,05*	15,24 \pm 1,37*	15,76 \pm 0,62*
Окунь	27,71 \pm 1,24*	15,52 \pm 0,97*	18,58 \pm 0,71*	17,69 \pm 1,38*	20,50 \pm 1,14*
Щука	20,62 \pm 1,10*	30,02 \pm 0,84*	19,28 \pm 1,93*	15,63 \pm 1,10*	14,45 \pm 0,41*

Як наслідок різноякісності білкового складу існують відмінності значення білкового коефіцієнта в сироватці крові досліджених видів риби (див. табл. 1). Зокрема, найвищий показник співвідношення альбумінів і глобулінів виявлений у коропа, в 3,3 раза він менший у карася, в 2,3 раза — у щуки та в 1,5 раза — в окуня. Зростання показників білкового коефіцієнта відзначено в роботі [15] у коропа та форелі при дії на їх організм іонів важких металів, тобто при зміні хімічного складу середовища існування риби.

Отже, незважаючи на високу лабільність білків сироватки крові, їх вміст знаходиться на певному сталому рівні, що характерний для даного виду риби. Згідно з даними літератури [1], екологічна детермінація вмісту білків крові риби в межах популяцій перевищує генетичну і це співвідношення становить у відсотках 60 до 40. Аналізуючи отримані дані щодо досліджених видів, вважаємо, що вміст та фракційний склад білків крові у карася та щуки більш варіабельний залежно від стану середовища існування, ніж у коропа та окуня, що дозволяє рекомендувати ці види як об'єкти біоіндикації стану водних екосистем.

1. Лукьяненко В. И., Хабаров М. В. Альбуминовая система сыворотки крови разных по экологии видов осетровых рыб. — Ярославль: ВВО РЭА, 2005. — 232 с.
2. Кузьмин Е. В., Кузьмина О. Ю. Популяционный анализ электрофоретических вариантов альбуминов сыворотки крови европейской и сибирской стерляди // Генетика. — 2005. — 41, № 2. — С. 246–253.
3. Сорвачев К. Ф. Основы биохимии питания рыб. — Москва: Легк. и пищ. пром-сть, 1982. — 247 с.
4. Субботкин М. Ф., Субботкина Т. А. Возрастная изменчивость антигенных свойств белков осетров (Acipenseridae, Acipenseriformes) // Онтогенез. — 2004. — 35, № 5. — С. 356–365.
5. Rehulka J. Haematological analyses in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* affected by viral haemorrhagic septicaemia (VHS) // Diseases of aquatic organisms. — 2003. — 56, No 3. — P. 185–193.
6. Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L., Randall R. J. Protein measurement with the Folin phenol reagent // J. Biol. Chem. — 1951. — 193, No 1. — P. 265–275.
7. Лакин Г. Ф. Биометрия. — Москва: Высш. шк., 1990. — 351 с.
8. Atwater W. O. The chemical composition and nutritive values of food-fishes and aquatic invertebrates // Rep. U. S. Comm. Fish and Fisheries for 188. — 1992. — Pt. 16. — P. 6779–8668.
9. Шульман Г. Е., Куликова Н. И. О специфичности белкового состава сыворотки крови рыб // Успехи соврем. биологии. — 1966. — 62, вып. 1 (4). — С. 42–60.
10. Остроумова И. Н. Белковый состав сыворотки крови каспийского лосося в связи с его систематическим положением // Вопр. ихтиологии. — 1970. — 10, № 3. — С. 475–478.
11. Чегер С. И. Транспортная функция сывороточного альбумина. — Бухарест: Изд-во АН СРР, 1975. — 183 с.
12. Конникова А. С., Крицман М. Г. Пути синтеза белка. — Москва: Медицина, 1965. — 358 с.
13. Березов Т. Т., Коровкин Б. Ф. Биологическая химия. — Москва: Медицина, 1982. — 750 с.
14. Кольман Я., Рем К. Г. Наглядная биохимия. — Москва: Мир, 2000. — 470 с.
15. Быков В. П. Белки и небелковые азотистые вещества рыб // Биологические ресурсы гидросферы и их использование. — Москва, 1980. — С. 106–130.

Тернопільський національний педагогічний
університет ім. Володимира Гнатюка

Надійшло до редакції 09.10.2008

V. Ya. Byyak, Yu. V. Synuik, V. Z. Kurant, V. V. Hrubinko

Specific features of the density composition of blood plasma proteins of freshwater fish of West Podillya

A change of the content of proteins and their fractions in blood serum of carp, crucian carp, perch, and pike is studied. The important role of proteins and their fractions in blood serum of freshwater fishes is shown.