

АКТИВНІСТЬ ЕНЗИМІВ МЕТАБОЛІЗМУ ВУГЛЕВОДІВ І АМІНОКИСЛОТ ТА ПЕРЕКИСНЕ ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ В ТКАНИНАХ КОРОПА ЗА ДІЇ 19-НОРТЕСТОСТЕРОНУ

Е. Е. РОМАНОВА, М. О. ЗАХАРЕНКО

Національний університет біоресурсів і природокористування України,

вул. Героїв Оборони, 15, м. Київ, 03241

e-mail: sangin1996@ukr.net

Метою роботи було дослідити активність ряду ензимів обміну вуглеводів, окремих амінокислот, креатинфосфату, неорганічного фосфору та показники перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) в гепатопанкреасі та плазмі крові коропів (*Cyprinus carpio* L.) за дії синтетичного стероїду 19-нортестостерону. Експерименти проведено на коропах дворічного віку, яких утримували впродовж 24 годин в акваріумах з різною концентрацією 19-нортестостерону у воді за оптимальної температури, вмісту кисню та рН. Активність лактатдегідрогенази (ЛДГ), лужної фосфатази (ЛФ), аланінамінотрансферази (АЛТ), аспаратамінотрансферази (АСТ), креатинфосфокінази (КФК) в надосадовій фракції гомогенату гепатопанкреаса контролювали УФ-кінетичними та колориметричними методами. Активність ізоцитратдегідрогенази (ІЦДГ) визначали спектрофотометрично за накопиченням NADPH, а лактатдегідрогенази (ЛДГ), глюкозо-6-фосфатдегідрогенази (Гл-6-ФДГ) і глюкозо-6-фосфатази (Гл-6-Фази) – за накопиченням NADH в реакціях перетворення відповідних субстратів. Для визначення концентрації дієнових кон'югатів, малонового діальдегіду (МДА), гідроперекисів ліпідів, активності каталази (КТ) і супероксиддисмутази (СОД) в плазмі крові і надосадовій фракції гомогенату гепатопанкреаса використовували загальноприйняті біохімічні методи досліджень. Встановлено, що у риб, які знаходились у воді з концентрацією синтетичного стероїду 19-нортестостерону 50 мкг/дм³ впродовж 24 годин, вищий вміст МДА, дієнових кон'югатів, зростає активність КТ і СОД у плазмі крові, підвищується активність ЛФ, АЛТ, АСТ, КФК, КТ і СОД в надосадовій фракції гепатопанкреаса, а ЛДГ не змінюється, як і рівень гідроперекисів ліпідів в плазмі крові. За дії 19-нортестостерону в мітохондріальній фракції гепатопанкреаса коропів підвищується активність Гл-6-ФДГ і ІЦДГ, а в супернатанті Гл-6-Фази.

В плазмі крові коропів за концентрації 19-нортестостерону у воді 200 мкг/дм³ зростає вміст гідроперекисів ліпідів, а в надосадовій фракції гепатопанкреаса - дієнових кон'югатів і активність СОД, тоді як ЛФ і КФК знижується відносно їх значень у риб за низького рівня ксенобіотики у воді. Вміст МДА, дієнових кон'югатів, а також активність КТ, СОД, ЛФ, КФК і ЛДГ в плазмі крові, ІЦДГ і Гл-6-ФДГ в мітохондріальній фракції та Гл-6-Фази і ЛДГ в супернатанті гепатопанкреаса не змінювались, але залишались вищими ніж в контролі.

Зроблено висновок про стимулюючий вплив 19-нортестостерону на обмін вуглеводів, переамінування амінокислот аланіну та аспартату, перетворення креатинфосфату, активність антиоксидантних ензимів та активацію ПОЛ у гепатопанкреасі дворічок коропа. Одержані результати поглиблюють розуміння механізму дії синтетичних стероїдів на метаболізм вуглеводів у кісткових риб, а встановлені відмінності активності ензимів та ПОЛ можуть бути важливими критеріями при екотоксикологічній оцінці водойм забруднених гормональними сполуками.

Ключові слова: короп, кров, гепатопанкреас, мітохондрії, ензими, ПОЛ, гормони

Вступ. У кісткових риб, як і в теплокровних тварин, стероїдні гормони, крім впливу на стать та фізіологічні функції (Guiguen Y., 2000), володіють також анаболічним ефектом, відіграють важливу роль при їх адаптації до різних забруднювачів у воді (Потрохов О.С. та ін, 2023; Rajakumar A., Senthilkumaran B, 2020). Регуляторну роль стероїдних гормонів в організмі риб пов'язують із активацією гіпоталамо-гіпофізарної системи, впливом на концентрацію внутрішньоклітинних месенджерів, зміною активності ензимів (Carbajal A. et al., 2019). У кісткових риб

стероїдні гормони синтезуються в інтерреналових клітинах нирок, а в основі їх механізму дії на метаболізм лежить здатність впливати на синтез та активність ключових ензимів вуглеводного та енергетичного обміну в тканинах (Rajakumar A. et al., 2020) Проникаючи в клітини органів-мішеней, вони взаємодіють з білками-рецепторами, утворюють гормон-рецепторні комплекси, які впливають на транскрипцію генів (Moormssen T.P., et al., 1999). Концентрація стероїдних гормонів в тканинах риб змінюється за дії ксенобіотиків у воді, в тому числі пестицидів, а також за різних стрес-

факторів (Потрохов О.С. та ін, 2023; Carbajal A. et al., 2019). Стероїдні гормони, до яких відносять естрон, 17β -естрадіол, тестостерон, а також синтетичні стероїди, все частіше виявляють у природних водоймах, розміщених в зоні діяльності тваринницьких підприємств та комунальних закладів, а останнім часом і у підземних водоносних горизонтах (Курбатова І.М. та ін., 2017; Belfroid A.C. et al, 1999; Fine D.D. et al., 2003). Значний вплив на гідробіотів чинять не тільки статеві гормони, але і синтетичні стероїди, зокрема 19-нортестостерон та продукти його деградації -19-норандростерон, 19-норетіохоланолон і 5-дигідро-19-нортестостерон так звані „ендокринні руйнівники” (Kurbatova I.M. et al., 2018; Bradley P. et al., 2009). Встановлено вплив синтетичних стероїдів на окремі показники обміну вуглеводів, ліпідів, фракційний склад білків плазми крові в тканинах, стан ендокринних органів (Kurbatova I.M. et al., 2018; Rajakumar A. et al., 2020).

Однак, практично не дослідженим залишається вплив синтетичного стероїду 19-нортестостерону на метаболічні процеси, зокрема активність NAD(P)-залежних дегідрогеназ, ензимів переамінування амінокислот і перетворення креатинфосфату та процесів ПОЛ в тканинах кісткових риб.

Мета роботи – дослідити вплив 19-нортестостерону за різної концентрації у воді на активність ензимів обміну вуглеводів, окремих амінокислот, перетворення креатинфосфату, неорганічного фосфору, а також показники ПОЛ в плазмі крові та гепатопанкреасі дворічок коропа.

Матеріали та методи. Досліди проведено на дворічках коропа лускатого (*Cyprinus carpio L.*) масою тіла 720 – 826 г , дотримуючись вимог Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей (Страсбург, 1986). Коропів після вилову із ставу доставляли в наукову лабораторію та поміщали в три різні акваріуми об'ємом 40 дм³ кожний, у воді яких підтримували оптимальну температуру (18-20 °C), вміст кисню (6,2-7,0 мг/дм³) та рН (7,82). Всього в дослідях використано 18 коропів, по 6 екземплярів в кожній групі. Під час експерименту риб контрольної групи утримували у відстояній водопровідній воді, а коропів дослідних груп в двох інших акваріумах з концентрацією 19-нортестостерону у воді 50 мкг/дм³ (перша дослідна група) та 200 мкг/дм³ (друга дослідна група). Під час експерименту риб не годували. У коропів через 24 години з початку експерименту відбирали кров, з якої одержували плазму шляхом центрифугування

зразків 15 хв. при 4000 об/хв. У риб видаляли кишечник та внутрішні органи, які охолоджували на льоду та відділяли гепатопанкреас. Відбирали 1 г тканини, з якої готували гомогенат на дистильованій воді (розведення 1 : 10), використовуючи гомогенізатор з тефлоновим пестиком, дотримуючись температурного режиму. Зразки гомогенату гепатопанкреаса центрифугували 15 хв при 800 g і температурі 4 °C та одержували надосадову фракцію в якій визначали активність ЛФ (3.1.3.1), КФК (2.7.3.2), ЛДГ (1.1.1.27) АЛТ (2.6.1.2) і АСТ (2.6.1.1) (Thomas L., 1998), використовуючи стандартизовані набори реактивів та автоматичний біохімічний аналізатор Beckman Coulter AU-480 (США).

Мітохондріальну фракцію гепатопанкреаса виділяли шляхом диференційного центрифугування (15000 g, 15 хв.), в середовищі, що містило 10 ммоль/л тріс-НСІ буфер (рН 7,4), 250 ммоль/л розчин сахарози і 1 ммоль/л ЕДТА, використовуючи загальноприйнятий метод (Schachman Н.К.,1959), з урахуванням ряду особливостей для риб (Casey С.А., Anderson Р.М., 1982). Використовуючи спектрофотометричні методи досліджень, в мітохондріальній фракції гепатопанкреаса визначали ПЦДГ (1.1.1.41) та Гл-6-ФДГ активність (1.1.1.49), яку виражали в мкмоль NADPH за 1 хв на 1 мг протеїну (Biohemica information, 1975). ЛДГ активність (1.1.1.27) в надосадовій фракції гомогенату (супернатанті), досліджували за окисненням NADH при $\lambda=340$ нм (Bergmeyer et al., 1963), а Гл-6-Фазну активність (3.1.3.9) - за загальноприйнятим методом (Мехед О.Б. та ін., 2004). В плазмі крові та надосадовій фракції гомогенатів гепатопанкреаса визначали вміст дієнових кон'югатів та МДА (Nedzvetsky V. et al., 2012), гідроперекисів ліпідів (Myronchuk V.V., 1981), активність КТ (Martines-Alvares et al., 2005) і СОД (Олексюк Н.П., Янович В.Г., 2010). Вміст протеїну в мітохондріальній фракції і супернатанті гомогенатів гепатопанкреаса риб контролювали за методом Лоупі (Lowry О.Н. et al., 1951), а в плазмі крові - за допомогою біуретового реактиву (Gornely S.,1949).

Результати досліджень оброблено статистично з використанням програми Statistika -10 та Mikrosoft Excel шляхом розрахунку середнього значення (М) із 5 визначень кожного показника, а також похибки середнього (m). Різницю між показниками у риб контрольної і дослідних груп оцінювали згідно критерія Ст'юдента і вважали достовірною при $P \leq 0,05$.

Результати та їх обговорення. Вплив різних за походженням, властивостями та хімічним

складом забруднювачів на рибу залежить від їх концентрації у воді, тривалості дії, а також токсичних властивостей і характеризується активацією адаптаційних механізмів, а при тривалій дії - порушенням фізіологічних функцій, енергетичних процесів, дисбалансом стероїдних гормонів та зміною активності низки ферментів в тканинах (Жиденко А.О. та ін., 2012; 2013; Бібчук К.В., Жиденко А.О., 2015). Встановлено, що 19-нортестостерон підвищує у 1,15 рази концентрацію МДА в плазмі крові риби першої дослідної групи порівняно до контролю, дієнових кон'югатів – у 1,31 рази, КТ активність – у 1,44 рази і СОД активність – у 1,34 рази, не дивлячись на те, що вміст гідроперекисів ліпідів не змінювався (табл. 1). У рибу другої дослідної групи, які перебували у воді з концентрацією 19-

нортестостерону 200 мкг/дм³ вміст МДА у плазмі крові також виявився вищим у 1,33 рази, дієнових кон'югатів – у 1,40 рази, КТ активність – у 1,83 рази, а СОД активність – у 1,46 рази порівняно до контролю. Однак, значне підвищення концентрації 19-нортестостерону у воді не впливало на вміст МДА, дієнових кон'югатів, каталазу і СОД активність в плазмі крові риби другої дослідної групи порівняно до їх значень у карпових першої дослідної групи. Встановлені зміни концентрації МДА та дієнових кон'югатів, а також КТ і СОД активності у плазмі крові риби дослідних груп порівняно до контролю можна пояснити впливом 19-нортестостерону на процеси ПОЛ в гепатопанкреасі та інших органах і тканинах (табл. 1).

Таблиця 1.

Показники перекисного окиснення ліпідів, каталазна та СОД активність в плазмі крові риби за дії 19-нортестостерону, $M \pm m$, $n=5$

Table 1.

Indicators of lipid peroxidation, activity of catalase and SOD in the blood plasma of fish under the influence of 19-nortestosterone, $M \pm m$, $n=5$

Показник	Контроль	Дослід (концентрація 19-нортестостерону, мкг/дм ³)	
		50	200
МДА, нмоль /мл	2,71 $\pm$ 0,11	3,17 $\pm$ 0,05*	3,65 $\pm$ 0,12*
Гідроперекиси ліпідів, од.Е 480/мл	1,63 $\pm$ 0,05	1,89 $\pm$ 0,07	1,96 $\pm$ 0,11*
Дієнові кон'югати, нмоль/мг протеїну	0,58 $\pm$ 0,01	0,76 $\pm$ 0,05*	0,81 $\pm$ 0,03*
Каталазна активність, мкмоль Н ₂ О ₂ /хв/мг протеїну	1,62 $\pm$ 0,06	2,34 $\pm$ 0,07*	2,97 $\pm$ 0,02*
СОД активність, у.о./хв /мг протеїну	3,41 $\pm$ 0,05	4,56 $\pm$ 0,08*	4,99 $\pm$ 0,1*

Примітка: * - Різниця достовірна порівняно до контролю ($P \leq 0,05$)

Note: * - The difference is significant compared to the control ($P \leq 0,05$)

Отже, одержані результати засвідчують не тільки вплив 19-нортестостерону на процеси ПОЛ в тканинах риби, але і розкривають важливу роль ліпідів в механізмі адаптації кісткових риби до дії синтетичних стероїдів. Цей висновок узгоджується із зміною концентрації продуктів ПОЛ та КТ і СОД активності в надосадовій фракції гомогенату гепатопанкреаса карпових дослідних груп, а також активності ферментів обміну глюкози, окремих амінокислот та креатинфосфату (табл. 2., табл. 3).

Встановлено, що у риби першої дослідної групи порівняно до контролю концентрація МДА в надосадовій фракції гомогенату гепатопанкреаса підвищилась у 1,16 рази, дієнових кон'югатів – у 2,35 рази, КТ активність – у 1,23 рази і СОД активність – у 1,51 рази (табл.2). Підвищення вмісту дієнових кон'югатів

та МДА в надосадовій фракції гомогенату гепатопанкреаса карпових дослідних груп, ймовірно, наслідком посилення процесів ПОЛ в тканинах під дією синтетичних стероїдів. Концентрація МДА в надосадовій фракції гомогенату гепатопанкреаса карпових другої дослідної групи виявилась також вищою у 1,29 рази, дієнових кон'югатів – у 2,97 рази, КТ активність – у 1,33 рази, а СОД активність – у 1,77 рази. В надосадовій фракції гомогенату гепатопанкреаса риби другої дослідної групи встановлено, на відміну від плазми крові, підвищення у 1,26 рази концентрації дієнових кон'югатів і у 1,17 рази СОД активності порівняно до карпових першої дослідної групи, не дивлячись на те, що за вмістом МДА і КТ активністю відмінностей не виявлено.

Таблиця 2.

Показники перекисного окиснення ліпідів, каталазна і СОД активність в гепатопанкреасі риб за дії 19-нортестостерону, $M \pm m$, $n=5$

Table 2.

Indicators of lipid peroxidation, catalase and SOD activity in the hepatopancreas of fish under the influence of 19-nortestosterone, $M \pm m$, $n=5$

Показник	Контроль	Дослід (концентрація 19-нортестостерону, мкг/дм ³)	
		50	200
МДА, нмоль/мг протеїну	2,23 $\pm$ 0,03	2,58 $\pm$ 0,02*	2,87 $\pm$ 0,03*
Каталазна активність, мкмоль H ₂ O ₂ /хв/ мг протеїну	48,5 $\pm$ 0,23	59,71 $\pm$ 0,31*	64,32 $\pm$ 0,26*
Дієнові кон'югати, нмоль/мг протеїну	0,71 $\pm$ 0,07	1,67 $\pm$ 0,11*	2,11 $\pm$ 0,09***
СОД активність, у.о./хв/мг протеїну	11,23 $\pm$ 0,12	16,97 $\pm$ 0,16*	19,88 $\pm$ 0,21***

Примітка: В табл. 2-4 * позначена достовірна різниця ($P \leq 0,05$) порівняно до контролю;

*** - порівняно до показників першої дослідної групи

Note: In Tabl. 2-4 * marked significant difference ($P \leq 0,05$) compared to the control;

*** - compared to the indicators of the first experimental group

Підвищення концентрації МДА в надосадовій фракції гомогенату гепатопанкреаса риб першої та другої дослідних груп, який утворюється із гідропероксидів ліпідів в клітинах під впливом 19-нортестостерону, відбулося, ймовірно, внаслідок зміни активності ензимів аеробного

окиснення енергетичних субстратів (Олексюк Н.П., Янович В.Г., 2010). Вказаний висновок доведено подальшими дослідженнями ензимної активності різних фракцій гомогенату гепатопанкреаса риб дослідних груп за дії 19-нортестостерону.

Таблиця 3.

Активність ензимів в надосадовій фракції гомогенату гепатопанкреаса риб за дії 19-нортестостерону, $M \pm m$, $n=5$

Table 3.

Activity of enzymes in the supernatant fraction of the hepatopancreas of fish under the influence of 19-nortestosterone, $M \pm m$, $n=5$

Ензим	Контроль	Дослід (концентрація 19-нортестостерону, мкг/дм ³)	
		50	200
ЛФ активність, нмоль/хв/мг протеїну	1,15 $\pm$ 0,21	7,11 $\pm$ 0,29*	3,86 $\pm$ 0,20***
АЛТ активність, мкмоль/хв/мг протеїну	0,49 $\pm$ 0,07	0,93 $\pm$ 0,08*	1,01 $\pm$ 0,08*
АСТ активність, мкмоль/хв/мг протеїну	0,26 $\pm$ 0,09	0,49 $\pm$ 0,04*	0,59 $\pm$ 0,13*
КФК активність, мкмоль/хв/мг протеїну	0,46 $\pm$ 0,02	0,92 $\pm$ 0,14*	0,55 $\pm$ 0,08**
ЛДГ активність, мкмоль/хв/мг протеїну	1,90 $\pm$ 0,36	3,40 $\pm$ 0,28*	3,13 $\pm$ 0,43*

Отже, одним із можливих шляхів впливу синтетичного стероїду 19-нортестостерону на організм кісткових риб є зміна, як показали подальші дослідження, активності ензимів окиснення енергетичних субстратів в тканинах.

Встановлено підвищення у 1,79 рази ЛДГ активності в надосадовій фракції гомогенату

гепатопанкреаса риб першої дослідної групи порівняно до контролю (табл. 3). Оскільки вказаний ензим каталізує реакцію перетворення пірувату в лактат за участю NADH, це свідчить про вплив 19-нортестостерону не тільки на редокс-потенціал клітин гепатопанкреаса, але і на активацію реакцій анаеробного окиснення

глюкози в тканинах риб. Відомо, що стероїдні гормони у риб підвищують активність ферментів глюконеогенезу в печінці, одночасно стимулюючи окислення глюкози в м'язах (Moommsen T.P., et al., 1999; Rajakumar A. et al., 2020). За концентрації даного ксенобіотику у воді 200 мкг/дм³ подальшого підвищення ЛДГ активності в надосадовій фракції гомогенату гепатопанкреаса риб не спостерігалось, але її активність залишалась у 1,65 рази вищою ніж в контролі.

Синтетичний стероїд 19-нортестостерон стимулює реакції переамінування глюкогенних амінокислот аланіну та аспартату в гепатопанкреасі коропів. Встановлено підвищення АЛТ-ної активності відповідно у 1,90 і 2,06 рази, а також у 1,88 і 2,27 рази АСТ-ної активності в надосадовій фракції гомогенату гепатопанкреаса риб першої та другої дослідної групи порівняно до контролю (табл. 3). Крім того у вказаній фракції гепатопанкреаса коропів першої дослідної групи зросла у 2,01 рази КФК активність порівняно до контролю, що ймовірно, свідчить, зважаючи на роль даного ензиму в обміні макроергів, про активацію синтетичними стероїдами у риб енергетичного обміну в тканинах. Це, ймовірно, може бути відповіддю метаболізму на зростаючу потребу в енергетичних ресурсах при адаптації риб до дії синтетичних стероїдів у воді. Однак, з підвищенням концентрації 19-нортестостерону у воді до 200 мкг/дм³ КФК активність в надосадовій фракції гомогенату гепатопанкреаса риб другої дослідної групи порівняно з першою знизилась у 1,67 рази, але не змінювалась порівняно до контролю (табл.3). Показано, що

19-нортестостерон підвищував ЛФ активність в надосадовій фракції гомогенату гепатопанкреаса, яка у риб першої дослідної групи зросла у 6,2 рази, а у другої – у 3,4 рази порівняно до контролю. Значне підвищення активності ЛФ в гепатопанкреасі риб дослідних груп пов'язане, ймовірно, із зростаючою потребою тканин у неорганічному фосфорі, необхідного для синтезу АТФ. Значний вплив 19-нортестостерону на ЛФ активність в надосадовій фракції гомогенату гепатопанкреаса риб може бути одним із критеріїв біотестування природних водойм забруднених синтетичними стероїдами. При цьому слід відмітити, що за концентрації 19-нортестостерону у воді 200 мкг/дм³ активність ЛФ в гепатопанкреасі риб другої дослідної групи порівняно з першою виявилась нижчою у 1,8 рази, що свідчить про гальмуючий вплив високої концентрації 19-нортестостерону у воді на процеси перетворення фосфорорганічних сполук в тканинах риб.

Встановлено стимулюючий вплив низької концентрації у воді синтетичного стероїду 19-нортестостерону на ензимну активність в тканинах риб першої дослідної групи. Однак, за значного підвищення його рівня у воді до 200 мкг/дм³ подальшого збільшення значень показників не спостерігалось. В супернатанті гомогенату гепатопанкреаса коропів першої та другої дослідної групи він підвищував ЛДГ активність відповідно у 1,4 і 1,5 рази, а Гл-6-Фазну активність у 1,48 і 1,80 рази. Відомо, що Гл-6-Фаза є одним із ключових ензимів синтезу глюкози, а зростання її активності вказує на стимуляцію синтетичними стероїдами глюконеогенезу в гепатопанкреасі риб (табл. 4).

Таблиця 4.

Активність ензимів в мітохондріальній фракції та супернатанті гепатопанкреаса риб за дії 19-нортестостерону, $M \pm m$, $n=5$

Table 4.

Activity of enzymes in the mitochondrial fraction and supernatant of the hepatopancreas of fish under the influence of 19-nortestosterone, $M \pm m$, $n=5$

Ензим	Контроль	Дослід (концентрація 19-нортестостерону, мкг/дм ³)	
		50	200
Супернатант			
ЛДГ активність, мкмоль NADH/хв/мг протеїну	0,37±0,03	0,51±0,03*	0,53±0,04*
Гл-6-Фазна активність, мкмоль NADH/хв/мг протеїну	0,25±0,01	0,37±0,02*	0,45±0,02*
Мітохондріальна фракція			
ЩДГ активність, мкмоль NADPH/хв/мг протеїну	0,028±0,001	0,050±0,004*	0,063±0,03*
Гл-6-ФДГ активність, мкмоль NADH/хв/мг протеїну	0,10±0,007	0,19±0,011*	0,22±0,012*

Підвищення Гл-6-ФДГ активності у 1,9 і 2,2 рази порівняно до контролю у супернатанті гепатопанкреаса риб першої та другої дослідних груп є, ймовірно, наслідком впливу 19-нортестостерону на початкові стадії процесу анаеробного окиснення глюкози. Крім цього у короїв 19-нортестостерон активує ПЦДГ в мітохондріальній фракції гомогенату гепатопанкреаса, про що свідчить зростання її активності порівняно до контролю у 1,79 рази у риб першої та у 2,25 рази у короїв другої дослідної групи (табл.4). ПЦДГ є одним із ключових ферментів аеробного окиснення, а підвищення її активності в мітохондріях гепатопанкреаса риб дослідних груп вказує на стимуляцію стероїдними гормонами енергетичних процесів.

Висновки. Отже, зростання активності низки ензимів вуглеводного та енергетичного обміну, а також переамінування глюкогенних амінокислот в гепатопанкреасі риб під впливом 19-нортестостерону розкриває один із важливих аспектів механізму його впливу на процеси метаболізму в тканинах кісткових риб, що забезпечує їх адаптацію до дії стероїдних гормонів.

Список літератури:

- Бібчук К.В., Жиденко А.О. Стан короїв риб в умовах інтенсивного застосування гербіцидів. Наукові записки Тернопільського національного педагогічного університету імені Володимира Гнатюка. Серія : біологія (спеціальний вип.) : Гідроекологія. 2015; 64 (3-4): 74–72.
- Жиденко А.О., Бібчук К.В., Барбухо О. В. Вплив гліфосату на енергетичний обмін в органах корої. *Укр. біохім. журн.* 2013; 85 (3): 22-30.
- Жиденко А.О., Бібчук К.В., Полетай В.М., Кривопиша В.В. Значення показників метаболізму печінки для адаптації риб в умовах гербіцидного забруднення водойм. *Біологічні системи.* 2012; 4 (4): 433–437.
- Курбатова І.М., Іванова О.В., Захаренко М.О. Антибактеріальні препарати, антигельмінтики та гормони відходів свинарського підприємства. *Агроєкол. журн.* 2017; 3: 122-129.
- Мехед О.Б., Жиденко А.О., Барбухо О.В. Вплив зенкору на вміст глюкози та активність ферментів глюконеогенезу у тканинах корої лускатого (*Surginus caprio* L.) за різних температур. *Укр. біохім. журн.* 2004; 76 (3): 110-113.
- Олексюк Н.П., Янович В.Г. Активність про- і антиоксидантних систем у печінці прісноводних риб у різні періоди року. *Укр. біохім. журн.* 2010; 82(3): 41-48.
- Потрохов О.С., Зінковський О.Г., Худіаш Ю.М., Водяницький О.М. Зміна гормонального статусу аборигенних риб за дії агропромислових стоків. *Гідробіол. журн.* 2023; 59 (3): 106-116.
- Belfroid A.C., Horst A., Van der Vethaak A.D. Analysis and occurrence of estrogenic hormones and their glucuronides in surface water and waste Water in the Netherlands. *Scienc. Tot. Environm.* 1999; 225: 101–108.
- Bergmeyer H.U., Bernt E., Hess B. In *Methods of enzymatic Analysis.* Verlag Chemie, Weinheim and Academic Press. NeuYork. 1963; 736- 741.
- Biochemica information. W. Germany: Boehringer Mannheim GmbH, Biochemica. 1975 1-2: 187.
- Bradley P., Barber F., Cray J. Biodegradation of 17-Estradiol, Estrone and Testosterone in stream Sediments. *Environm. Scienc. Technol.* 2009. 43(13). 1902–1910.
- Carbajal A., Reyes-López F.E., Tallo-Parra O. et al. Comparative Assessment of Cortisol in Plasma, Skin Mucus and Scales as a Measure of the Hypothalamic-Pituitary-Interrenal Axis Activity in Fish. *Aquaculture.* 2019; 506. 410–416.
- Casey C.A., Anderson P.M. Subcellular Location of Glutamine Synthetase and Urea Cycle Enzymes in Liver of Spiny Dogfish (*Squalus acanthias*). *J. Biol. Chem.* 1982; 257 (14): 8449-8453.
- Fine D.D., Breidenbach G.P., Price T.L. Quantification of estrogen in groundwater and swine lagoon samples using solidphase extraction, pentafluorobenzyl/ trimethylsilyl derivatizations and gas chromatography-negative ion chemical ionization tandem mass spectrometry. *Chromatography.* 2003;1017(1-2): 167–185.
- Gornely S. Determination of serum protein by mean of biuret reaction. *J. Biochem.* 1949 177 (2). 751—755.
- Guiguen Y. Implication of steroids in fish gonadal sex differentiation and sex inversion. *Carr. Top. Steroid Res.* 2000; 3. 127-143.
- Kurbatova I.M., Zacharenko M.O., Chepil L.V. Effect of chlortetracycline, nandrolone and albendazole on fractional composition of carp serum proteins. *Ukr. J. Ecology.* 2018. 8 (1). 57-63. (In Ukraine).
- Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J. Protein measurement with the Folin Phenol Reagent. *J. Biol. Chem.* 1951; 197 (1): 265-275.
- Martines-Alvares R.M., Morales A.E., Sanz A. Antioxidant defenses in fish: biotic and abiotic factors. *Rev. Fish Biol.* 2005, 15(1): 75-88.
- Myronchuk, V.V. (1984). А.с. № 1084681 SSSR, МКУ G № 33/48 Sposob opredeleniya glydropereklysej lypydov v byologicheskikh tkanjah. № 3468369/28–13; zayavl. 08.07.82; opubl. 07.04.84, Bjul. 13 (In Ukraine)
- Mommsen T.P., Vijayan M.M., Moon T.W. Cortisol in Teleosts: Dynamics, Mechanisms of Action, and Metabolic Regulation. *Rev. Fish Biol. Fish.* 1999; 9: 211–268. <https://doi.org/10.1023/A:1008924418720>
- Nedzvetsky V, Andrievsky G, Chachibaia T, Tykhomyrov A. Differences in antioxidant/protective efficacy of hydrated C60 fullerene nanostructures in liver and brain of rats with streptozotocin-induced diabetes. *J. Diabet. Metabol.* 2012; 3(8): 1-9.
- Rajakumar A., Senthilkumaran B. Steroidogenesis and Its Regulation in Teleost-a Review. *Fish Physiol.*

Biochem. 2020; 46: 803–818.
[https://doi.org/10.1016/S0303-7207\(00\)00383-X](https://doi.org/10.1016/S0303-7207(00)00383-X).

24. Schachman H.K. Ultracentrifugation in Biochemistry. New York: Acad. Press. 1959; 356.
25. Thomas L. Clinical laboratory diagnostics. Use and assessment of clinical laboratory results. Frankfurt/Main;TH-BuKs Verlagsgesellschaft. 1998; 1527.

References:

1. Bibchuk K.V., Zhydenko A.O. The state of carp fish under conditions of intensive use of herbicides. *Scientific Notes of Ternopil Volodymyr Hnatiuk National Pedagogical University. Series: Biology (special issue): Hydroecology*. 2015; 64 (3-4): 74-72.
2. Zhidenko A.O., Bibchuk K.V., Barbukho O.V. Influence of glyphosate on energy metabolism in carp organs. *Ukrainian Biochemical Journal*. 2013; 85 (3): 22-30.
3. Zhidenko A.O., Bibchuk K.V., Poletai V.M., Kryvopysya V.V. The importance of liver metabolism indicators for fish adaptation in conditions of herbicide pollution of water bodies. *Biological systems*. 2012; 4 (4): 433-437.
4. Kurbatova I.M., Ivanova O.V., Zakharenko M.O. Antibacterial drugs, anthelmintics and hormones of pig enterprise waste. *Agroecol. zhurn.* 2017; 3: 122-129.
5. Mekhed O.B., Zhidenko A.O., Barbukho O.V. Influence of zinc on glucose content and activity of gluconeogenesis enzymes in tissues of carp (*Cyprinus carpio* L.) at different temperatures. *Ukrainian Biochemical Journal*. 2004; 76 (3): 110-113.
6. Oleksiuk N.P., Yanovych V.G. Activity of pro- and antioxidant systems in the liver of freshwater fish in different periods of the year. *Ukrainian Biochemical Journal*. 2010; 82(3): 41-48.
7. Potrokhov O.S., Zinkovskiy O.G., Khudiyash Y.M., Vodianytskyi O.M. Changes in the hormonal status of native fish under the influence of agroindustrial wastewater. *Hydrobiol. zhurnal*. 2023; 59 (3): 106_116.
8. Belfroid A.C., Horst A., Van der Vethaak A.D. Analysis and occurrence of estrogenic hormones and their glucuronides in surface water and waste Water in the Netherlands. *Scienc. Tot. Environm.* 1999; 225: 101–108.
9. Bergmeyer H.U., Bernt E., Hess B. In Methods of enzymatic Analysis. Verlag Chemie, Weinheim and Academic Press. NeuYork. 1963; 736- 741.
10. Biochemica information. W. Germany: Boehringer Mannheim GmbH, Biochemica. 1975 1-2: 187.
11. Bradley P., Barber F., Cray J. Biodegradation of 17-Estradiol, Estrone and Testosterone in stream Sediments. *Environm. Scienc. Technol.* 2009. 43(13). 1902–1910.
12. Carbajal A., Reyes-López F.E., Tallo-Parra O. et al. Comparative Assessment of Cortisol in Plasma, Skin Mucus and Scales as a Measure of the Hypothalamic-Pituitary-Interrenal Axis Activity in Fish. *Aquaculture*. 2019; 506. 410–416.
13. Casey C.A., Anderson P.M. Subcellular Location of Glutamine Synthetase and Urea Cycle Enzymes in Liver of Spiny Dogfish (*Squalus acanthias*). *J. Biol. Chem.* 1982; 257 (14): 8449-8453.
14. Fine D.D., Breidenbach G.P., Price T.L. Quantification of estrogen in groundwater and swine lagoon samples using solidphase extraction, pentafluorobenzyl/ trimethylsilyl derivatizations and gas chromatography-negative ion chemical ionization tandem mass spectrometry. *Chromatography*. 2003;1017(1-2): 167–185.
15. Gornely S. Determination of serum protein by mean of biuret reaction. *J. Biochem.* 1949 177 (2). 751—755.
16. Guiguen Y. Implication of steroids in fish gonadal sex differentiation and sex inversion. *Carr. Top. Steroid Res.* 2000; 3. 127-143.
17. Kurbatova I.M., Zakharenko M.O., Chepil L.V. Effect of chlortetracycline, nandrolone and albendazole on fractional composition of carp serum proteins. *Ukr. J. Ecology*. 2018. 8 (1). 57-63. (In Ukraine).
18. Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J. Protein measurement with the Folin Phenol Reagent. *J. Biol. Chem.* 1951; 197 (1): 265-275.
19. Martinez-Alvares R.M., Morales A.E., Sanz A. Antioxidant defenses in fish: biotic and abiotic factors. *Rev. Fish Biol.* 2005, 15(1): 75-88.
20. Myronchuk, V.V. (1984). A.s. № 1084681 SSSR, MKY G № 33/48 Sposob opredeleniya gydropereklysej lypydov v byologicheskyyh tkanjah. № 3468369/28–13; zayavl. 08.07.82; opubl. 07.04.84, Bjul. 13 (In Ukraine)
21. Mommsen T.P., Vijayan M.M., Moon T.W. Cortisol in Teleosts: Dynamics, Mechanisms of Action, and Metabolic Regulation. *Rev. Fish Biol. Fish.* 1999; 9: 211–268. <https://doi.org/10.1023/A:1008924418720>
22. Nedzvetsky V, Andrievsky G, Chachibaia T, Tykhomyrov A. Differences in antioxidant/protective efficacy of hydrated C60 fullerene nanostructures in liver and brain of rats with streptozotocin-induced diabetes. *J. Diabet. Metabol.* 2012; 3(8): 1-9.
23. Rajakumar A., Senthilkumaran B. Steroidogenesis and Its Regulation in Teleost-a Review. *Fish Physiol. Biochem.* 2020; 46: 803–818.
[https://doi.org/10.1016/S0303-7207\(00\)00383-X](https://doi.org/10.1016/S0303-7207(00)00383-X).
24. Schachman H.K. Ultracentrifugation in Biochemistry. New York: Acad. Press. 1959; 356.
25. Thomas L. Clinical laboratory diagnostics. Use and assessment of clinical laboratory results. Frankfurt/Main;TH-BuKs Verlagsgesellschaft. 1998; 1527.

ENZYME ACTIVITY OF CARBOHYDRATE AND AMINOACID METABOLISM, LIPID PEROXIDATION IN CARP TISSUES UNDER THE EFFECT OF 19-NORTESTOSTERONE

E.E. Romanova, M.O. Zakharenko

*National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine
St. Herojiv Oborony, 15, Kyiv, 03041
e-mail: sangin1996@ukr.net*

*The aim of the study was to investigate the activity of a number of enzymes of carbohydrate metabolism, individual amino acids, creatine phosphate, inorganic phosphorus and lipid peroxidation (LPO) in the hepatopancreas and blood plasma of carp (*Cyprinus carpio* L.) under the influence of the synthetic steroid 19-norethisterone. The experiments were conducted on two-year-old carps, which were kept for 24 hours in aquariums with different concentrations of 19-nortestosterone in water at optimal temperature, oxygen content and pH. The activity of lactate dehydrogenase (LDH), alkaline phosphatase (ALP), alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), creatine phosphokinase (CPK) in the supernatant fraction of hepatopancreatic homogenate was monitored by UV-kinetic and colourimetric methods. The activity of isocitrate dehydrogenase (ICDH) was determined spectrophotometrically by the accumulation of NADPH, and lactate dehydrogenase (LDH), glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6-PDH) and glucose-6-phosphatase (G6-Phase) - by the accumulation of NADH in the reactions of conversion of the corresponding substrates. Conventional biochemical methods were used to determine the concentration of diene conjugates, malondialdehyde (MDA), lipid hydroperoxides, catalase (CAT) and superoxide dismutase (SOD) activity in blood plasma and supernatant fraction of hepatopancreatic homogenate. Conventional biochemical methods were used to determine the concentration of diene conjugates, malondialdehyde (MDA), lipid hydroperoxides, catalase (CAT) and superoxide dismutase (SOD) activity in blood plasma and the supernatant fraction of hepatopancreatic homogenate. It was found that fish exposed to water with a concentration of synthetic steroid 19-nortestosterone of 50 µg/dm³ for 24 hours had higher levels of MDA and diene conjugates, increased activity of CAT and SOD in blood plasma, increased activity of ALP, ALT, AST, CK, CAT and SOD in the hepatopancreatic supernatant fraction, and LDH remained unchanged, as well as the level of lipid hydroperoxides in blood plasma. Under the influence of 19-nortestosterone, the activity of G6-FDG and IDDG in the mitochondrial fraction of carp hepatopancreas increases, and that of G6-phase in the supernatant.*

At a concentration of 19-nortestosterone in water of 200 µg/dm³, the content of lipid hydroperoxides in the blood plasma of carp increases, and in the hepatopancreatic supernatant fraction - diene conjugates and SOD activity, while ALP and CPK decrease relative to their values in fish with a low level of xenobiotic in water. The content of MDA, diene conjugates, as well as the activity of CAT, SOD, ALP, CPK and LDH in blood plasma, IDH and G6-PDH in the mitochondrial fraction and G6-Phase and LDH in the hepatopancreatic supernatant did not change, but remained higher than in the control.

It was concluded that 19-nortestosterone stimulates carbohydrate metabolism, amino acids alanine and aspartate transamination, creatine phosphate conversion, antioxidant enzyme activity and lipid peroxidation in the hepatopancreas of two-year-old carp. The obtained results deepen the understanding of the mechanism of action of synthetic steroids in bony fish, and the differences in enzyme activity and lipid peroxidation can be important criteria for ecotoxicological assessment of water bodies contaminated with hormonal compounds.

Keywords: carp, blood, hepatopancreas, mitochondria, enzymes, POL, hormones

Отримано редколегією 04.11.2023 р.