

Effect of chlorotetracycline, nandrolone, and albendazole on fractional composition of carp serum proteins

I.M. Kurbatova, M.O. Zakharenko, L.V. Chepil

National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine,
Kyiv 03041, st. Heroev Oborony, 11, Ukraine, E-mail: innakurbatova@ukr.net

Submitted: 21.11.2017. Accepted: 10.01.2018

The influence of xenobiotics, in particular, the antibiotic chlortetracycline, anabolic steroid nandrolone and anthelmintic albendazole, on carp fish depends on their concentration in water and is associated with a change in a number of morphological indices and physiological and biochemical mechanisms in the process of their adaptation to the action of xenobiotics of water, and as shown by the study - total content and fractional composition of blood plasma proteins. In model experiments carried out on the bogs of carp, the main objective of which was to investigate the influence of xenobiotics of anthropogenic origin on the fractional composition of plasma proteins, it was established that for a short exposure (72 hours) and low concentrations of nandrolone 0.1 mg / dm³ (the first experimental group) and (0.5 mg / dm³ second experimental group), only slight changes in the protein content with a molecular weight of 25, 35-50 and 100-140 kDa in the water of the aquariums are observed at constant values of the parameters of other fractions. With an increase in the concentration of nandrolone in aquarium water up to 1.0 mg / dm³, the protein content with a molecular weight of 450 kDa and above increased by 91%, 340 kDa by 78%, 260 kDa by 101%, 70 kDa by 149%, 50 kDa - 111%, 25-50 kDa - 35-62% compared to control. Consequently, anabolic steroids, getting into the water at low concentrations do not affect, and in high stimulate biosynthesis processes of proteins in tissues, two decades of carp.

The intolerance (12 hours) of carps in an aquarium with an anthelmintic concentration of albendazole in water of 0.2 mg / L varied only with individual fractions of blood plasma proteins of fish. The increase in the concentration of albendazole in water to 0.5 mg / L and especially to 1.0 mg / L affects the protein spectrum of blood plasma fish to a large extent, reducing the content of most proteins of low and high molecular weight fractions. It was found that chlortetracycline in the concentration of 1.10 mg / dm³ did not affect, and when it increased in water to 3.15 and 6.30 mg / dm³, it reduced the level of proteins in the blood plasma of the carp in 3 days, with a molecular weight of 340-450 kDa, and higher and contributed to the appearance of protein fractions with a molecular weight of 140 - 200 and 70 - 90 kDa. Investigated xenobiotics chlortetracycline, nandrolone and albendazole, in the above-mentioned concentrations in water and short-term exposure of fish, did not affect their behavior, the number of respiratory movements and the tomographic indices of the internal organs. The state of the external body covers, as well as the organoleptic indices of the internal organs of fish of experimental groups for the effects of various concentrations of the studied xenobiotics, did not differ from the similar characteristics of the control group carps. The obtained results testify to the important role of blood plasma proteins in the mechanisms of their adaptation to the action of xenobiotics of water, in particular anabolic steroid nandrolone, antibiotic chlortetracycline and anthelmintic albendazole.

Key words: carp; blood plasma; proteins; nandrolone; albendazole; chlortetracycline

Фракційний склад білків крові коропа за дії хлортетрацикліну, нандролону та альбендазолу

I.M. Курбатова, М.О. Захаренко, Л.В. Чепіль

Національний Університет біоресурсів і природокористування України,
Київ 03041, вул. Героїв Оборони, 11, Україна, E-mail: innakurbatova@ukr.net

Вплив, антибіотиків, зокрема хлортетрацикліну, анаболічного стероїду нандролону та антигельмінтика альбендазолу, на коропових риб залежить від їх концентрації у воді та пов'язаний із зміною ряду морфологічних показників і фізіолого-

біохімічних механізмів в процесі їх адаптації до дії ксенобіотиків води. Як показали проведені дослідження значних змін під впливом даних ксенобіотиків зазнає загальний вміст та фракційний склад білків плазми крові риб. В модельних експериментах, проведених на дворічках коропа, встановлено, що за нетривалої експозиції (72 години) і низьких концентрацій нандролону 0,1 мг/дм³ (перша дослідна група) та (0,5 мг/дм³ друга дослідна група) у воді акваріумів спостерігаються лише незначні зміни вмісту білків з молекулярною масою 25, 35-50 і 100-140 кДа за сталих значень показників інших фракцій. Із підвищенням концентрації нандролону у воді акваріуму до 1,0 мг/дм³ вміст білків з молекулярною масою 450 кДа і вище зріс на 91 %, 340 кДа – на 78 %, 260 кДа – на 101 %, 70 кДа – на 149 %, 50 кДа – на 111 %, 25-50 кДа – 35-62 % порівняно з контролем. Отже, анаболічні стероїди, потрапляючи у воду за низьких концентрацій практично не впливають, а у високих стимулюють процеси біосинтезу білків в тканинах дворічок коропа. Нетривале перебування коропів у воді акваріумів з концентрацією антигельмінтика альбендазолу 0,2 мг/л змінювало лише окремі фракції білків плазми крові риб. Збільшення концентрації альбендазолу у воді до 0,5 мг/л і особливо до 1,0 мг/л впливало на білковий спектр плазми крові риб у значній мірі, знижуючи вміст більшості білків низько- та високомолекулярних фракцій. Встановлено, що хлортетрациклін у концентрації 1,10 мг/дм³ не впливав, а при підвищенні його дози у воді до 3,15 і 6,30 мг/дм³ знижував у плазмі крові коропа через 3 доби рівень білків з молекулярною масою 340 – 450 кДа і вище та сприяв появі білкових фракцій з молекулярною масою 140 – 200 і 70 – 90 кДа. Досліджувані ксенобіотики хлортетрациклін, нандролон та альбендазол, у вищевказаних концентраціях у воді та нетривалої експозиції риб, не впливали на їх поведінку, кількість дихальних рухів і на топографічні показники внутрішніх органів. Стан зовнішніх покривів тіла, а також органолептичні показники внутрішніх органів риб дослідних груп за дії різних концентрацій досліджуваних ксенобіотиків не відрізнялись від подібних характеристик коропів контрольної групи. Одержані результати свідчать про важливу роль білків плазми крові риб в механізмах їх адаптації до дії ксенобіотиків води, зокрема анаболічного стероїду нандролону, антибіотику хлортетрацикліну та антигельмінтика альбендазолу.

Ключові слова: короп; плазма крові; білки; нандролон; альбендазол; хлортетрациклін

Вступ

Водні екосистеми в останній час зазнають значного антропогенного впливу, що пов'язують із потраплянням у природні водойми із стічними водами очисних споруд цивільних об'єктів та промислових підприємств різних ксенобіотиків (Ivanova, Zakharenko, 2010).

Контроль за вмістом ксенобіотиків у природних водоймах показав, що у воді очисних споруд та річок виявлено близько 70 різних сполук, особливо велика кількість антибіотиків та сульфаніламідних препаратів (Barreteau et al., 2011, Białk-Bielińska et al, 2011, Gulkowska et al, 2008), гормони нандролон, болденон, кортикостероїди та продукти їх біодеградації (Göçer et al, 2013) антигельмінтики і кокцидіостатики (Tsudzevich et al., 2012). Це веде до деградації водних екосистем, що негативно впливає на гідробіонтів (Kurbatova et al., 2013).

Особливе занепокоєння викликає наявність у воді річок естрогенів і андрогенів та їх кон'югатів серед яких знайдено також і синтетичний стероїд 19-нортестостерон (нандролон), що широко використовується як терапевтичний засіб та стимулятор продуктивності тварин (Ivanova et al, 2011, Akbaba et al, 2014). Він входить до групи прогестерону і впливає на процеси травлення та стимулює метаболічні процеси у тканинах тварин (Mudra et al, 2008, Muradova, Rabadanova., 2012). У стічних водах виявлено і продукти деградації нандролону 19-норадростерон, 19-норетіхоланолон та 5-дигідро-19-нортестостерон (дигідронандролон), які також володіють гормональною активністю в організмі (Severina et al, 2008).

Стічні води містять антигельмінтик альбендазол – основний протипаразитичний препарат, який відноситься до групи бензімідазолу. Альбендазол викликає у паразитів дегенеративні зміни клітинних мембран шляхом гальмування процесу полімеризації тубуліна. Це веде до зникнення мікротубул цитоплазми клітин паразита та його загибелі (Dorogov, 2002) Крім того альбендазол є інгібітором ацетилхолінестерази та володіє нейротоксичною дією в організмі тварин (Göçer et al, 2013).

Одним із токсикантів, які виявлено у стічних водах тваринницьких підприємств та у воді ставів у значній кількості є хлортетрациклін. Він належить до групи тетрацикліну, є синтетичною сполукою яка практично не розкладається в навколишньому середовищі. Дія хлортетрацикліну на організм пов'язана із гальмуванням біосинтезу білка шляхом блокування антибіотиком фермента РНК-полімерази та зв'язуванням з матричною ДНК на рибосомах (Severina et al, 2008).

Ймовірно, накопичення хлортетрацикліну у ставах, як найбільш вживаного в тваринництві антибіотика, окрім впливу на розвиток риб на різних стадіях онтогенезу, буде змінювати і біосинтез білків в печінці та м'язах, а також фракційний склад білків плазми крові.

Оскільки хлортетрациклін, нандролон та альбендазол знайдено у стічних водах тваринницьких підприємств, а їх дестабілізуючий вплив на фізіологічні процеси у гідробіонтів вивчено недостатньо, актуальними є дослідження фракційного складу білків крові риб, що дасть можливість поглибити уявлення про механізми їх адаптації до дії штучних ксенобіотиків антропогенного походження. Мета роботи – з'ясувати вплив ксенобіотиків різного механізму дії хлортетрацикліну, нандролону та альбендазолу на вміст і фракційний склад білків плазми крові коропа.

Матеріали і методи

Дослідження проведені в лабораторії кафедри загальної зоології та іхтіології Національного університету біоресурсів природокористування України. Об'єктом дослідження служили дворічки коропа (*Cyprinus carpio* L.), вирощені у ВАТ «Київрибгосп». Для проведення експериментів було відібрано 48 коропів, масою тіла 450-500 г. Під час досліджень риб утримували в акваріумах з об'ємом води 40 літрів по 2 голови в кожному.

У воді акваріумів в процесі експериментів підтримували оптимальні значення температури (18–20°C) та вміст Оксигену (7–8 мг/л). Потягом досліду, який тривав 72 години, риб не годували.

У першому досліді вивчали вплив різних концентрацій хлортетрацикліну (хлортетрацикліну гідрохлорид фірми Sigma Aldrich) на загальний вміст та фракційний склад білків плазми крові риб. З цією метою у воду першого акваріума перед посадкою риб додавали хлортетрациклін у кількості, що відповідала його концентрації 1,10 мг/дм³ (перша), другого – 3,15 мг/дм³ (друга) і третього – 6,30 мг/дм³ (третья дослідна група). У воду акваріума в якому утримували риб контрольної групи антибіотик не вносили.

У другому досліді вивчали вплив різних концентрацій нандролону у воді на загальний вміст та фракційний склад білків плазми крові риб. З цією метою у воду першого акваріума перед посадкою риб додавали нандролон (Sigma-Aldrich), у кількості що відповідала його концентрації – 0,1(перша); 0,5(друга) і 1,0 (третья дослідна група) мг/дм³ води. У воду четвертого акваріума, де утримували риб контрольної групи, нандролон не вносили.

У третьому досліді вивчали загальний вміст та фракційний склад білків плазми крові коропа за дії альбендазолу. Для цього у воду акваріумів об'ємом 40 л перед посадкою риб вносили альбендазол, у кількості що відповідала його концентрації – 0,2 (перша), 0,5 (друга) і 1,0 мг/дм³ (третья дослідна група). Контрольна група риб знаходилася у воді без альбендазолу.

В процесі досліду спостерігали за поведінкою риб, контролюючи кількість дихальних рухів.

У кінці досліду у коропів контрольної та дослідних груп відбирали кров, з якої одержували плазму та визначали в ній загальний вміст та фракційний склад білків. Після взяття крові проводили візуальні дослідження зовнішніх покривів тіла коропів (луски, плавників), а після розтину — стан внутрішніх органів, контролюючи їх розмір, колір, консистенцію, наявність геморагій та запалень (Kamyishnikov, 2000). Вміст білка в плазмі крові риб визначали за Gornely (Gornelly, 1949), а фракційний склад білків – за Laemmli (Laemmli U.K., 1970). Білки плазми крові риб розділяли на фракції в поліакриламідному гелі, з градієнтом концентрації 7–18 %, додаючи додецилсульфат натрію. Одержані гелі фіксували сумішшю розчинів метанол формальдегід: вода у співвідношенні 6:1:7 та фарбували 0,1% розчином кумасі R-250 (Serva, Швеція).

Молекулярну масу білків окремих білових зон встановлювали за білками-маркерами ("Thermo Bioscience", Англія).

Одержані гелі сканували гелі-сканером "Hewlett-PackardHPSI 5500" (США), з наступною їх реконструкцією графічно. Кількість білка в окремій зоні обчислювали за відносними (%) та абсолютними (г/л) одиницями, з урахуванням значення загального білка в пробі, використовуючи спеціальну комп'ютерну програму "Densito Analyze" (Bondarenko et al., 2003). Статистичну обробку результатів досліджень здійснено з використанням критерія достовірності Ст'юдента (Kokunin, 1975). Дані в таблицях наведено як середнє значення та стандартне відхилення.

Результати досліджень та їх обговорення

За результатами першого досліду встановлено, що хлортетрациклін доданий у воду акваріумів у концентрації 1,10; 3,15 і 6,30 мг/дм³ та експозиції коропів 3 доби не впливав на загальний вміст білків в плазмі крові риб першої, другої та третьої дослідних груп порівняно з контролем (табл. 1). Цей показник у риб піддослідних груп та у контролі був у межах величин, які відповідали оптимальному рівню білків плазми крові коропових риб [6].

Таблиця 1. Загальний вміст білка в плазмі крові коропа за дії хлортетрацикліну, нандролону та альбендазолу г/л; n=4

Група	Ксенобіотики		
	Хлортетрациклін	Нандролон	Альбендазол
Контрольна	40,25 ± 3,5	22,80 ± 2,12	20,28 ± 2,29
Дослідні:			
– перша	42,50 ± 3,00	34,83 ± 2,07 *	20,95 ± 2,29
– друга	48,00 ± 4,10	26,65 ± 2,04	17,05 ± 1,28
– третя	43,00 ± 2,70	34,00 ± 1,19 *	23,20 ± 1,49

Примітка: *Тут і далі – різниця достовірною (p < 0,05) порівняно з контролем

Одержані результати вказують на те, що не дивлячись на здатність хлортетрацикліну пригнічувати синтез білка бактеріальних клітин за незначної його концентрації у воді і нетривалій експозиції його вплив на процеси біосинтезу білка в тканинах риб проявляється у меншій мірі.

У другому досліді, в якому вивчали вплив різних концентрацій нандролону, було встановлено, що у риб першої та третьої дослідних груп встановлено підвищення загального вмісту білків в плазмі крові в середньому у 1,5 разу, тоді як у коропів другої дослідної групи цей показник порівняно з контролем, не змінювався (див. табл. 1).

Слід відмітити, що за різної концентрації альбендазолу у воді та нетривалої дії також не виявлено різниці за вмістом загального білка в плазмі крові риб дослідних груп порівняно контролем (див. табл. 1).

Однак, як встановлено подальшими дослідженнями антибіотик хлортетрациклін доданий у воду акваріумів змінював значною мірою фракційний склад білків плазми крові риб особливо за концентрації 3,15 і 6,30 мг/дм³.

Аналіз електрофореграм білків плазми крові риб контрольної групи показав, що найбільшу кількість становлять протеїни, які знаходяться в зонах А, В, С, М і R, що відповідає молекулярним масам 260-450 кДа і більше, а також 70 і 25 кДа (табл. 2)

Таблиця 2. Фракційний склад білків плазми крові риб за дії хлортетрацикліну, г/л; n=4

Зона розподілу фракцій білків	Молекулярна маса стандарту, кДа	Концентрація хлортетрацикліну, мг/дм ³			
		контрольна	1,10	3,15	6,30
A	> 450	3,31±0,43	4,01±0,30	1,75±0,39**	2,01±0,33**
B	340	2,64±0,43	3,29±0,40	1,46±0,33**	1,47±0,20**
C	260	4,27±0,48	4,82±0,50	2,74±0,37	3,22±0,65
D	-	1,63±0,23	1,64±0,20	0,93±0,22	1,39±0,59
E	-	-	-	0,99±0,31	1,01±0,33
F	-	-	-	1,13±0,34	0,98±0,44
G	140	0,82±0,05	1,38±0,10*	1,38±0,60	1,50±0,22
H	100	1,36±0,09	1,49±0,10	1,23±0,53	1,14±0,11
J	-	2,04±0,90	2,21±0,70	2,65±1,25	1,81±1,13
K	-	1,94±1,01	3,86±1,60	1,19±1,16	1,57±1,06
L	-	-	-	2,60±1,35	2,70±1,28
M	70	6,16±1,52	4,75±0,60	3,77±1,13	5,23±0,77
N	-	3,3±0,20	3,24±0,20	1,81±0,19*	2,39±0,31
O	50	1,46±0,51	1,46±0,40	1,50±0,26	1,70±0,20
P	-	-	-	1,79±0,44	2,18±0,29
Q	35	0,66±0,04	0,56±0,10	0,43±0,18	0,48±0,29
R	25	6,91±0,95	6,26±0,60	5,98±1,46	7,70±0,78

При цьому слід відмітити, що білки розміщені у цих зонах, як правило належать до різних фракцій глобулінів та альбумінів, а також низькомолекулярної фракції, яка представлена в основному преальбумінами. Плазма крові коропів контрольної групи містила значно менше білків інших фракцій, зокрема розміщених в зонах D, G, H, J, K, O, P та Q, де знаходяться білки фракцій трансферинів, церулоплазміну, гаптоглобіну та інших груп преальбумінів. Одержані результати свідчать про те, що основними у плазмі крові у коропа є білки фракцій альбумінів та глобулінів, головна роль яких полягає у забезпеченні транспортних функцій крові та захисту організму риб від несприятливих факторів водного середовища.

Витримування риб у воді з концентрацією хлортетрацикліну 1,10 мг/дм³ протягом 3 діб практично не впливало на фракційний склад білків плазми крові порівняно з контролем (див. табл. 2).

Винятком виявились білки фракції G з молекулярною масою 140 кДа, кількість яких в плазмі крові коропів порівняно з контролем зросла в 1,7 раза. Незначні зміни фракційного складу білків плазми крові риб першої дослідної групи обумовлені в першу чергу низькою концентрацією антибіотика у воді та його інактивацією мікроорганізмами води. Не можна також виключати і малу тривалість експозиції риб у воді з цією концентрацією хлортетрацикліну та активацією захисних систем, зокрема активності цитохромів P₄₅₀ і b₅ до дії даного ксенобіотика.

Підвищення концентрації хлортетрацикліну у воді до 3,15 мг/дм³, тобто у 3 рази порівняно з першою дослідною групою, змінювало значно більшою мірою фракційний склад білків плазми крові коропів (див. табл. 2).

Виявилось, що плазма крові риб другої дослідної групи містила на 57% менше білків з молекулярною масою 450 кДа і більше (зона А), а також на 56 % – білків з молекулярною масою 340 кДа (зона В) порівняно з коропами першої дослідної групи. Оскільки вищевказані фракції білків у тварин містять, крім α₂-макроглобуліну, також і IgM та γ-глобуліни, ймовірно, у коропів підвищення концентрації хлортетрацикліну у воді знижує імунний захист риб. У коропів другої дослідної групи зареєстровано зниження на 46 % і рівня білків деяких низькомолекулярних фракцій, зокрема розміщених в зоні N, а також виявлено ряд додаткових білкових фракцій розміщених в зонах E, F і L з молекулярною масою від 140 до 200 і 70–90 кДа (див. табл. 2). Крім того у плазмі крові коропів другої дослідної групи виявлено фракцію білків (зона Р) з молекулярною масою від 35 до 50 кДа.

Одержані дані свідчать про суттєвий вплив підвищених концентрацій хлортетрацикліну у воді на фракційний склад білків плазми крові коропів, а також, ймовірно, і на електрофоретичну рухливість протеїнів окремих високо- та низькомолекулярних фракцій, що може бути пов'язане із зміною заряду білкової молекули H⁺ Cl⁻, які входять до складу даного ксенобіотика. Цей висновок підтверджується дослідженнями фракційного складу білків плазми крові коропів третьої дослідної групи, яких витримували у воді з концентрацією хлортетрацикліну 6,30 мг/дм³ (див. табл. 2).

В плазмі крові коропів цієї групи, порівняно з першою, рівень білків зони А з молекулярною масою понад 450 кДа знизився на 50 %, а зони В з молекулярною масою 340 кДа – на 56 %, що може бути пов'язано із впливом ксенобіотиків на фактори імунного захисту організму риб.

У коропів третьої дослідної групи, як і в другій, в плазмі крові, порівняно контролем та першою дослідною групою, виявлено ряд додаткових білкових фракцій, розміщених в зонах Е, F, L і Р, які мали різну молекулярну масу. Не виключено, що хлортетрациклін у високих концентраціях у воді як сильнодіючий антибіотик впливає на білоксинтезуючу функцію печінки, змінюючи таким шляхом фракційний склад білків плазми крові.

Отже, на основі одержаних результатів можна зробити висновок про те, що у невеликих дозах та при нетривалій експозиції хлортетрациклін не впливає на фракційний склад білків плазми крові коропів. Хлортетрациклін доданий до води у значних дозах змінює фракційний склад білків плазми крові коропа як з високою, так і з низькою молекулярною масою.

У риб дослідних груп за дії нандролону встановлено зміну фракційного складу білків плазми крові. У коропів, яких утримували у воді акваріума із концентрацією нандролону 0,1 мг/м³ (перша дослідна група) вміст білків у плазмі крові, з молекулярною масою 100–140 кДа (зона Е) і 35–50 кДа (зона L) збільшився відповідно на 54 і 43%, а білків з масою молекул 25 кДа (зона Р) – на 75% порівняно контролем (табл. 3).

Вміст білків в плазмі крові риб першої дослідної групи, з молекулярною масою 140–450 кДа і вище (зона А, В, С, D), до яких входять й імунні глобуліни, порівняно з контролем, не змінювався на відміну від рівня низькомолекулярних білків (зона L, О, Р) (див. табл. 2). Отже, нандролон у незначній концентрації у воді, підвищує в плазмі крові коропів вміст низькомолекулярних білків та деяких білків з молекулярною масою 100 кДа і практично не впливає на рівень білків з високою молекулярною масою.

Підвищення концентрації нандролону у воді до 0,5 мг/дм³ не вплинуло на фракційний склад білків крові коропів другої дослідної групи порівняно з контролем, за винятком білків зони А, вміст яких зріс на 74% (див. табл. 3). Рівень білків з високою (зони В, С, D), середньою (зони Е, F, G, H, I) та низькою молекулярною масою (зони K, L, M, N, O, P) в плазмі крові коропів другої дослідної групи порівняно з контролем не змінювався. Більш суттєві зміни білкового спектру плазми крові зареєстровано у риб третьої дослідної групи, причому розміщених, як в зоні високомолекулярних так і білків із низькою молекулярною масою.

Так, рівень білків з молекулярною масою 450 кДа і вище в плазмі крові риб третьої дослідної групи (зона А) порівняно з контролем збільшився на 91 %, 340 кДа (зона В) – на 78%, 260 кДа (зона С) – на 101%, 70 кДа (зона H) – на 149%, 50 кДа (зона K) – на 111%, зони О – на 35% і 25 кДа (зона Р) – на 62%. Вміст інших білків в плазмі крові риб третьої дослідної групи порівняно з контролем не змінювався.

Отже, за концентрації нандролону у воді акваріума 1,0 мг/дм³ білковий спектр плазми крові коропа змінюється у значній мірі, навіть за умови його нетривалої дії, що свідчить про суттєвий вплив даного ксенобіотика на біосинтетичні процеси в тканинах, як анаболічного стероїда.

Характер змін білкового спектру плазми крові риб за дії антигельмінтика альбендазолу був дещо іншим порівняно з нандролоном.

Витримування коропів у воді акваріума впродовж 72 годин, концентрація альбендазолу в якій становила 0,2 мг/дм³ (перша дослідна група), впливало лише на вміст деяких білків плазми крові риб. Зокрема, зареєстровано зниження в плазмі крові риб рівня протеїнів з молекулярною масою 70 кДа на 77%, 50 кДа – на 61% і 25кДа – на 48% порівняно з контролем (табл. 4). Вміст білків високомолекулярних фракцій в тому числі з молекулярною масою 100 кДа і вище, а також інших низькомолекулярних білків в плазмі крові риб першої дослідної групи не відрізнявся від контролю. Підвищення концентрації альбендазолу у воді акваріума до 0,5 мг/дм³ у більшій мірі впливало на білковий спектр плазми крові риб, про що свідчить зниження рівня білків розміщених в зонах А, В, С, D зокрема з молекулярною масою 140 кДа – на 63%, 260 кДа – на 62%, 340 кДа – на 55% і 450 кДа і більше – на 43% порівняно з контролем (див. табл. 4). В плазмі крові даної групи риб зареєстровано також зниження рівня білків з молекулярною масою 70 кДа – на 76%, розміщених в зоні J – на 34%, зоні K з молекулярною масою 50 кДа – на 66%, зоні L – на 36%, зоні M – на 45% і зоні P з молекулярною масою 25 кДа – на 49% порівняно з аналогічними показниками у риб контрольної групи. Вміст білків інших фракцій в плазмі крові риб другої дослідної групи за дії альбендазолу порівняно з контролем не змінювався.

Подібні зміни білкового спектру плазми крові риб зареєстровано і у коропів третьої дослідної групи, які протягом 72 годин перебували у воді акваріума з концентрацією антигельмінтика 1,0 мг/дм³. Так, рівень білків плазми крові даної групи розміщених у зонах А, В, С і D, що відповідає молекулярній масі 140, 260, 340, 450 кДа і вище знизився порівняно з контролем відповідно на 56, 36, 36 і 37% (див. табл. 4). Крім того у риб третьої дослідної групи порівняно з контролем альбендазол викликав зниження в плазмі крові рівня білків з молекулярною масою 50 кДа (зона K) на 54%, з молекулярною масою 35 кДа (зона N) – на 34%, з молекулярною масою 35 кДа (зона Р) – на 29%. Інші білки плазми крові риб за підвищеної до 1,0 мг/дм³ дози альбендазолу у воді акваріума змінювались у значно меншій мірі.

Вміст білків деяких інших фракцій у плазмі крові риб третьої дослідної групи порівняно з другою збільшився і досяг значень аналогічних показників у коропів контрольної групи. Так, вміст білків в плазмі крові риб третьої дослідної групи з молекулярною масою 70 кДа (зона H) зріс у 4 рази, а з молекулярною масою 25 кДа (зона Р) – на 40% порівняно з аналогічними показниками у коропів другої дослідної групи (див. табл. 4). Суттєвої різниці за фракційним складом інших білків плазми крові риб другої і третьої дослідних груп не встановлено не дивлячись на те, що концентрацію альбендазолу у воді акваріума для останньої було збільшено у 2 рази.

Отже результати досліджень свідчать про те, що альбендазол у воді акваріума у концентрації 0,2 мг/дм³ не впливає, а у високих — 0,5 і 1,0 мг/дм³ знижує вміст білків як високо- та низькомолекулярних фракцій, в плазмі крові коропа.

Слід зазначити, що хлортетрациклін, альбедазол і нандролон додані у воду акваріумів у незначній концентрації за нетривалої експозиції практично не впливали на електрофартичну рухливість білків плазми крові риб, що можливо пов'язано із відсутністю їх впливу на заряд білкової молекули.

Таблиця 3. Фракційний склад білків плазми крові коропа за дії нандролону, г/л; $M \pm m$, $n = 4$.

Зона	Молекулярна маса стандартних білків, кДа	Контрольна група	Дослідна група (концентрація нандролону у воді, мг/дм ³)		
			перша (0,1)	друга (0,5)	третя (1,0)
A	>450	0,71 ± 0,15	0,72 ± 0,26	1,25 ± 0,25 *	1,36 ± 0,13 *
B	340	1,01 ± 0,29	1,40 ± 0,22	1,15 ± 0,25	1,80 ± 0,11 *
C	260	1,06 ± 0,23	0,98 ± 0,93	1,32 ± 0,21	2,13 ± 0,16 *
D	140	1,40 ± 0,27	1,80 ± 0,28	1,46 ± 0,40	2,18 ± 0,32 *
E	-	0,92 ± 0,12	1,42 ± 0,14 *	1,13 ± 0,33	1,04 ± 0,21
F	100	1,01 ± 0,37	1,88 ± 0,44	1,16 ± 0,31	1,27 ± 0,09
G	-	1,32 ± 0,71	1,89 ± 0,26	1,46 ± 0,38	1,01 ± 0,17
H	70	0,55 ± 0,25	1,14 ± 0,23	0,64 ± 0,18	1,37 ± 0,25 *
J	-	1,31 ± 0,55	1,89 ± 0,22	1,39 ± 0,40	1,28 ± 0,97
K	50	2,83 ± 0,60	4,03 ± 0,33	3,33 ± 0,53	5,98 ± 1,15 *
L	-	2,32 ± 0,25	3,32 ± 0,37 *	2,97 ± 0,72	2,70 ± 0,34
M	-	3,13 ± 0,49	4,75 ± 0,84	3,86 ± 0,51	4,04 ± 0,59
N	35	0,71 ± 0,32	1,18 ± 0,31	0,76 ± 0,14	0,88 ± 0,13
O	-	0,69 ± 0,13	1,19 ± 0,29	0,70 ± 0,29	0,93 ± 0,24 *
P	25	4,53 ± 0,71	7,92 ± 0,69 *	5,32 ± 0,48	7,35 ± 0,32 *

Таблиця 4. Фракційний склад білків плазми крові коропа за дії альбендазолу, г/л; $M \pm m$; $n = 4$.

Зона	Молекулярна маса стандартних білків, кДа	Контрольна група	Дослідна група (концентрація альбендазолу у воді, мг/дм ³)		
			перша (0,2)	друга (0,5)	третя (1,0)
A	>450	1,36 ± 0,13	0,85 ± 0,35	0,77 ± 0,08 *	0,85 ± 0,21 *
B	340	1,80 ± 0,11	0,96 ± 0,25	0,80 ± 0,09 *	1,15 ± 0,08 *
C	260	2,13 ± 0,16	0,88 ± 0,30	0,81 ± 0,12 *	1,17 ± 0,03 *
D	140	2,18 ± 0,32	1,00 ± 0,42	0,81 ± 0,11 *	0,95 ± 0,05 *
E	-	1,09 ± 0,21	0,75 ± 0,23	0,73 ± 0,20	0,87 ± 0,08
F	100	1,27 ± 0,99	0,82 ± 0,27	1,08 ± 0,11	1,39 ± 0,16
G	-	1,91 ± 0,17	0,86 ± 0,33	0,85 ± 0,16	0,92 ± 0,05
H	70	1,37 ± 0,38	0,31 ± 0,11 *	0,33 ± 0,04 *	1,33 ± 0,27
J	-	1,28 ± 0,07	2,08 ± 0,79	0,84 ± 0,11 *	1,32 ± 0,18
K	50	5,98 ± 0,45	2,35 ± 0,37 *	2,05 ± 0,41 *	2,74 ± 0,26 *
L	-	2,70 ± 0,34	2,29 ± 0,35	1,73 ± 0,28 *	2,19 ± 0,33
M	-	4,04 ± 0,39	3,04 ± 0,56	2,23 ± 0,34 *	2,63 ± 0,21 *
N	35	0,88 ± 0,13	0,55 ± 0,21	0,50 ± 0,09	0,58 ± 0,10 *
O	-	0,93 ± 0,14	0,54 ± 0,18	0,57 ± 0,11	0,77 ± 0,25
P	25	7,35 ± 0,32	3,82 ± 0,41 *	3,71 ± 0,38 *	5,19 ± 0,35 *

Висновки

На основі проведених досліджень можна зробити висновок, що за незначного вмісту хлортетрацикліну, нандролону та альбендазолу у воді акваріумів та нетривалої експозиції коропів, не дивлячись на різні механізми їх впливу на організм, білковий спектр плазми крові та загальний вміст білків залишається без змін, що свідчить про здатність риб адаптуватись до дії цих ксенобіотиків. Високі концентрації даних ксенобіотиків у воді акваріума, зокрема, навіть за нетривалого перебування риб змінюють у значній мірі фракційний склад білків плазми крові дворічок коропа, нандролон підвищує, а альбендазол знижує вміст цілого ряду білків високо- та низькомолекулярних фракцій. Висока

концентрація хлортетрацикліну у воді викликає значні зміни білкового спектру плазми крові, що порушує фізіологічні функції у риб.

Перспективою подальших досліджень може бути вивчення впливу хлортетрацикліну, нандролону та альбендазолу на вміст окремих класів імуноглобулінів, показники резистентності організму риб, що дасть можливість поглибити розуміння механізмів їх адаптації до дії ксенобіотиків антропогенного походження та доповнити екологічну характеристику водойм рибогосподарського призначення.

References

- Akbaba, Y., Akıncioğlu, A., Göçer, H., Göksu, S. (2014). Carbonic anhydrase inhibitory properties of novel sulfonamide derivatives of aminoindanes and aminotetralins. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 29(1), 35-42.
- Atanasova, R., Hadjinikolova, I., Nikolova, I. (2008). National Centre for Agrarian Sciences investigations on the biochemical composition of carp fish (Cyprinidae) blood serum at conditions of organic aquaculture. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 14(2), 117-120.
- Barreateau, H., Simcic, M., Sink, R., Cesar, J. (2011). Second-generation sulfonamide inhibitors of d-glutamic acid-adding enzyme: activity optimisation with conformationally rigid analogues of d-glutamic acid. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 46(7), 2880-2894.
- Białk-Bielińska, A., Stolte, S., Arning, J., Uebers, U. (2011). Ecotoxicity evaluation of selected sulfonamides. *Chemosphere*, 85(6), 928-933.
- Dorogov S.M. (2002). *Farmakologiya*. Kharkov Kharkov Aviation Institute Press, 280. (in Ukrainian)
- Göçer, H., Akıncioğlu, A., Öztaşkın, N., Göksu, S., Gülçin, I. (2013). Synthesis, antioxidant, and antiacetylcholinesterase activities of sulfonamide derivatives of dopamine-related compounds. *Arch. Pharm*, 346(11), 783-792.
- Gornelly, S. (1949). Determination of serum protein by mean of the biuret reaction. *J. Biol. Chem*, 177(2), 751-755.
- Gulkowska, A., Leung, H.W., So, M.K., Taniyasu, S., Yamashita, N. et al. (2008). Removal of antibiotics from wastewater by sewage treatment facilities in Hong Kong and Shezhen, China. *Water research*, 42(1-2), 395-403.
- Ivanova A., Novozhytska Y., Zakharenko N, Shevchenko L.(2011). Osoblyvosti nakopychennia nandrolonu ta produktiv yoho metabolizmu v orhanakh i tkanyakh shchuriv. *Veterynarna medytsyna Ukrainy*, 6, 40-42. (in Ukrainian)
- Kamyshnikov, B.C. (2000). *Spravochnik po kliniko-biohimicheskoy laboratornoy diagnostike*. Minsk: Belarus (in Belorussian)
- Kokunin, B. (1975). Statistical data processing with a small number of experiments. *Ukrain. biochem. Journal*, 47(6), 776-790. (in Ukrainian)
- Kurbatova, I.M., Tsedik, V.V., Sviridenko, N.P. (2013). Rozvitok Ikri ta vzhivannya embrioniv koropa za diyi albendazolu. *Scientific Bulletin NUBIP*, 193, 127-131. (in Ukrainian)
- Laemmli, U.K. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage. *Nature (Gr.Brit)*, 227(5259), 680-685.
- Lone, Kh. (1989). The effect of feeding three anabolic steroids in different combinations on the growth, food conversion efficiency and protein and nucleic acid levels of liver, kidney, brain and muscle of mirror carp (*Cyprinus carpio*). *Fish physiology and biochemistry*, 6, 149-56. Doi: 10.1007/BF01874771.
- Mudra, A.E., Falfushinska, G.I., Stolyar, O.B. (2008). Integralniy anallz stanu antistresornih sistem gepatotsitlv prlsnovodnih tvarin za diyi poshkodzhuyuchih chinnikov seredovischa. *Naukovi zapiski Ternopil Pedagogical University. Ser. Biology*, 2(36), 151-160. (in Ukrainian)
- Muradova, G.R., Rabadanova, A.I. (2012). Dinamika sodержaniya belkov v syivorotke krovi segoletok karpa pri hronicheskom vozdeystvii tyazhelyih metallov. *Uspеhi sovr. Estestvoznaniya*, 7, 58-62. (in Russian)
- Severina, E.S., Aleynikova, T.L., Osipov, E.V., Silaeva, S.A. (2008). *Biologicheskaya himiya*. Moscow. Meditsinskoe informatsionnoe agentstvo (in Russian)
- Shandrenko, S., Holovin, A., Dmytrenko, M., Yurchenko, A., Babycheva, A. (2003). Kompiuterna reiestratsiia ta analiz rezultativ tonkosharovoї khromatohrafii. *Zhurnal Khromatohrafichnoho tovarystva*, 2(4), 22-30. (in Ukrainian)
- Tsudzevich, B.O., Stolyar, O.B., KallIn, I.V., Yukalo, V.G. (2012). *Ksenoblotiki: nakopichennya, detoksikatsiya ta vivedennya z zhivih organizmiv*. Ternopil. Ternopil National Technical University Press. (in Ukrainian)

Citation:

Kurbatova, I.M., Zakharenko, M.O., Chepil, L.V. (2018). Effect of chlorotetracycline, nandrolone, and albendazole on fractional composition of carp serum proteins. *Ukrainian Journal of Ecology*, 8(1), 57-63.



This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0. License