

УДК 639.2.09:597.551.2.57.085

М.О. ЗАХАРЕНКО, д. б. н., проф., член-кор. НААН,
Національний університет біоресурсів і природокористування України,
вул. Героїв Оборони, 15, Київ, 03041, Україна
e-mail: sangin1996@ukr.net
ORCID 0000-0002-7333-7371

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

ВПЛИВ 19-НОРТЕСТОСТЕРОНУ НА ВМІСТ СТЕРОЇДНИХ ГОРМОНІВ, ГЕМАТОЛОГІЧНІ ПОКАЗНИКИ ТА ОКРЕМІ ЛАНКИ МЕТАБОЛІЗМУ В ТКАНИНАХ КОРОПА (*CYPRINUS CARPIO L.*)

*Досліджено вплив різних концентрацій синтетичного стероїду 19-нортестостерону у воді на масу та індекс внутрішніх органів, гематологічні показники, вміст тестостерону, прогестерону та кортизолу, окремі ланки метаболічних процесів і активність ензимів в тканинах коропа (*Cyprinus carpio L.*). За нетривалої дії і концентрації у воді 50 мкг/дм³ 19-нортестостерон підвищував вміст загального білка та альбумінів, активність креатинфосфокінази і аспартатамінотрансферази, знижував рівень неорганічного фосфору та заліза, активність лужної фосфатази і аланінамінотрансферази у плазмі крові риб і не впливав на частоту дихання, зовнішні ознаки поверхні тіла, масу гепатопанкреаса та селезінки і їхній індекс, гематологічні показники, концентрацію стероїдних гормонів у плазмі крові і гепатопанкреасі, а також вміст глюкози, тригліцеридів, креатиніну, кальцію, неорганічного фосфору в плазмі крові.*

За концентрації 19-нортестостерону у воді 200 мкг/дм³ у коропів порівняно до контролю підвищувалась частота дихання та показник ШОЕ крові, збільшувався вміст кортизолу і тестостерону в плазмі крові і гепатопанкреасі, але знижувався вміст прогестерону в плазмі крові і зростав в гепатопанкреасі. У риб за високої концентрації 19-нортестостерону у воді вище вміст білка і альбумінів, активність креатинфосфокінази і аспартатамінотрансферази в плазмі крові, а концентрація глюкози, неорганічного фосфору, заліза та активність лужної фосфатази знижувалась. Синтетичний стероїд 19-нортестостерон не впливав на масу та індекс гепатопанкреаса і селезінки у риб, концентрацію гемоглобіну, кількість еритроцитів, лейкоцитів і лімфоцитів та співвідношення еозинофілів, нейтрофілів, лімфоцитів і моноцитів в крові, а також вміст тригліцеридів, креатиніну, кальцію, активність лактатдегідрогенази і аланінамінотрансферази в плазмі крові.

Ц и т у в а н н я: Захаренко М.О., Романова Е.Е. Вплив 19-нортестостерону на вміст стероїдних гормонів, гематологічні показники та окремі ланки метаболізму в тканинах коропа (*Cyprinus carpio L.*). *Гідробіол. журн.* 2024. Т. 60. № 2. С. 95—107.

Зроблено висновок про здатність риб адаптуватись до низьких концентрацій синтетичного стероїду 19-нортестостерону за його нетривалого впливу, змінюючи окремі ланки метаболізму та активність ензимів у тканинах. Висока концентрація 19-нортестостерону у воді значною мірою впливає на гормональний статус та метаболізм в організмі риб.

Ключові слова: короп, 19-нортестостерон, кров, гепатопанкреас, селезінка, стероїдні гормони, метаболізм, ензими, адаптація.

Стероїдні гормони у кісткових риб виконують низку важливих фізіологічних функцій, впливають на поведінку, процес відтворення, ембріональний розвиток, приймають участь у регуляції імунітету та метаболізму, а їхня концентрація в тканинах гідробіонтів залежить від виду, статі, сезону року та віку [13, 18, 19]. Вміст стероїдних гормонів у тканинах риб змінюється при дії стрес-факторів [22], а також при забрудненні води пестицидами [6], фармацевтичними препаратами, що потрапляють у водойми зі стічними водами комунальних закладів та тваринницьких підприємств [4, 10, 14, 15, 21]. Серед виявлених у природних водоймах стероїдних гормонів найбільшу проблему для водних організмів становлять естрогени, зокрема естрон та 17 β -естрадіол, а також синтетичні стероїди [9, 12, 14, 15, 21]. Вони впливають на структуру популяцій риб, розвиток ембріонів, морфометричні ознаки і морфологічний склад крові, метаболічні процеси в тканинах [13, 17]. Стероїдні гормони виявлено також у підземних водоносних горизонтах, в які вони потрапляють із стічних вод або з природних водойм, що створює значну екологічну проблему [9, 14]. У водоймах, забруднених стоками тваринницьких підприємств, часто виявляють синтетичний стероїд 19-нортестостерон (надролон), який використовують як терапевтичний засіб, а також для стимуляції продуктивності тварин [5]. Відомо, що 19-нортестостерон (17 β -hydroxy-19-nor-4-androsteron-3-on) є анаболічним стероїдом, який входить до групи прогестерону і є агоністом рецепторів андрогенів. У риб 19-нортестостерон впливає на біосинтез та фракційний склад білків, а також метаболічні процеси в тканинах [17]. Він метаболізується в печінці, утворюючи низку продуктів деградації, основними з яких є 19-норандростерон, 19-норетіохоланолон і 5-дигідро-19-нортестостерон, які також мають гормональну активність. Для риб, водних безхребетних та рослин LC_{50} 19-нортестостерону не з'ясована, тоді як для ссавців вона становить 4640 мг на 1 кг живої ваги. Потрапляючи в організм риб, стероїдні гормони стимулюють гіпоталамо-гіпофізарно-адреналову систему, яка впливає на синтез адреналіну, норадреналіну і катехоламінів, підвищуючи вміст кортикостероїдів у тканинах та органах-мішенях [11, 19]. Встановлено, що до незначних концентрацій забруднювачів у воді за їхньої нетривалої дії кісткові риби здатні адаптуватись, змінюючи концентрацію стероїдних гормонів, зокрема кортизолу, активність ферментів, вміст тригліцеридів, жирних кислот, амінокислот, фракційний склад білків плазми крові [17, 19]. Що ж стосується забруднювача водойм синтетичного стероїду 19-нортестостерону та його впливу на фізіологічні функції, то вміст сте-

роїдних гормонів та метаболічні процеси в тканинах кісткових риб залишаються мало дослідженими, що не дозволяє розкрити механізм його дії на риб та встановити допустиму концентрацію у воді ставків при використанні їх в рибогосподарських цілях.

Мета роботи — дослідити вплив різної концентрації синтетичного стероїду 19-нортестостерону у воді на частоту дихання, внутрішні органи, вміст стероїдних гормонів, гематологічні показники та окремі ланки метаболізму і активність ензимів в плазмі крові та гепатопанкреасі дворічок коропа (*Cyprinus carpio* L.).

Матеріал і методика досліджень

Дослідження проведені на коропях (*Cyprinus carpio* L.) дворічного віку, відповідно біоетичних норм. Коропів для досліду виловлювали із ставка сіткою у вересні 2022 р., поміщали по 4 ос. в ємність об'ємом 40 дм³ і доставляли в лабораторію. Риб зважували та визначали проміри тіла, використовуючи загальноприйняті методи [7, 8] та терези марки Axis BDM 30. Риб ділили на контрольну, першу та другу дослідні групи по 6 ос. в кожній і поміщали по 2 ос. в три різні акваріуми об'ємом 40 дм³ кожний, витримували 60 хв, спостерігали за їхньою поведінкою та визначали частоту дихання за кількістю дихальних рухів за хвилину. Потім у воду додавали синтетичний стероїд 19-нортестостерон, де його концентрація становила 50 мкг/дм³ (перша дослідна група) та 200 мкг/дм³ (друга дослідна група). У риб знову визначали частоту дихання одразу після внесення 19-нортестостерону у воду, а також через 30 хв, одну, три, 12 та 24 год. Під час експерименту, який тривав 24 год, у воді акваріумів підтримували оптимальну температуру (18—20 °С), вміст кисню (6,2—7,0 мг/дм³) та рН (7,82).

В кінці експерименту коропів зважували, визначали проміри тіла та оцінювали його покрив, а також контролювали стан та колір луски, плавців, очного яблука, ротового та анального отворів [8]. Відбирали кров пункцією серця, яку стабілізували гепарином та одержували плазму крові шляхом центрифугування зразків протягом 15 хв при 4500 об/хв. У риб видаляли гепатопанкреас і селезінку на охолоджене предметне скло, визначали їхню масу (Navigator, Ohaus Corporation, USA), колір, наявність ексудату та крововиливів. У коропів розраховували індекс гепатопанкреаса і селезінки [8] та визначали гематологічні показники [1, 2].

В плазмі крові та супернатанті гепатопанкреаса риб, який одержували з гомогенату (розведення дистильованою водою 1:10) та центрифугуванням проб 15 хв при 4000 об/хв, досліджували загальний вміст білка [16], а також концентрацію кортизолу, використовуючи стандартну тест-систему (ІФА) та специфічні моноклональні анти-кортизол антитіла (Monobid Inc., USA) і ІФА-аналізатор Sanrise Tekan (Austria). Вміст тестостерону та прогестерону в плазмі крові риб та супернатанті гепатопанкреаса визначали за допомогою стандартних тест-систем Testosterone ELISA та Progesterone ELISA DRG Instruments GmbH (Germany) та імунохемілюмінісцентний аналізатор Architekt 1000SR Abott (USA). Концент-

рацію метаболітів пластичного обміну, а також вміст кальцію, неорганічного фосфору та заліза в плазмі крові риб досліджували за загальноприйнятими методами [3], використовуючи стандартизовані набори реактивів фірми Beckman Coulter та біохімічний аналізатор Beckman Coulter AU-480 (USA).

Активність ензимів, а саме лактатдегідрогенази (ЕС 1.1.1.27), лужної фосфатази (ЕС 3.1.3.1), креатинфосфокінази (ЕС 2.7.3.2), аланінамінотрансферази (ЕС 2.6.1.2) і аспаратамінотрансферази (ЕС 2.6.1.1) в плазмі крові риб визначали з допомогою УФ-кінетичних методів [3], використовуючи стандартизовані набори реактивів та біохімічний аналізатор Beckman Coulter AU-480 (USA).

Одержані результати обробляли статистично [5] з використанням програм Statistika 10 та програм Excel (Microsoft Office). Різницю між показниками вважали достовірною згідно критерія Стьюдента при $p \leq 0,05$.

Результати досліджень

Вплив забруднювачів води на пластичний обмін у риб залежить від їхньої концентрації та токсичних властивостей і проявляється зміною фізіологічних функцій, мобілізацією захисних механізмів організму, посиленням функції детоксикації печінки, реакцій антиоксидантного захисту та енергетичного обміну в тканинах [6, 17, 22]. У коропів першої та другої дослідних груп частота дихання до внесення у воду гормону 19-нортестостерону становила в середньому відповідно 20 та 21 дихальних рухів за хвилину і не відрізнялась від контролю. Одразу після внесення у воду гормону 19-нортестостерону частота дихання у коропів першої та другої дослідних груп порівняно до контролю також не змінювалась. Цей показник у риб першої групи через 30 хв, 1, 3, 12 та 24 год перебування у воді з концентрацією гормону 19-нортестостерону 50 мкг/дм³ становив в середньому 18—20 дихальних рухів за хвилину, що відповідало контролю. У риб другої групи, яких утримували у воді з концентрацією гормону 19-нортестостерону 200 мкг/дм³, через 30 хв і 1 год частота дихання не змінювалась, а через 3, 12 та 24 год значно підвищувалась — в середньому до 28—31 дихальних рухів за хвилину, незважаючи на однакову концентрацію кисню у воді акваріумів. Підвищення кількості дихальних рухів у риб другої дослідної групи є, ймовірно, одним із компенсаторних механізмів у відповідь на зростаючу потребу тканин у кисні і активацією реакцій енергетичного обміну та біосинтетичних процесів під впливом стероїдних гормонів [18, 19].

Синтетичний стероїд 19-нортестостерон у досліджуваних концентраціях у воді не впливав на живу вагу коропів та довжину тіла, а також на його покрив, стан очного яблука, колір грудних, черевних, спинного, анального та хвостового плавців, що, ймовірно, пов'язано з нетривалою дією на риб. В експерименті не виявлено також впливу 19-нортестостерону на масу та індекс гепатопанкреаса і селезінки у риб дослідних груп порівняно до контролю, які змінюються при забрудненні води (табл. 1).

Відсутність впливу 19-нортестостерону на масу та індекс селезінки у риб, головного кровотворного органу, підтверджено дослідженнями гематологічних показників у риб дослідних груп. В експерименті не виявлено різниці між концентрацією гемоглобіну, кількістю лейкоцитів, еритроцитів і швидкістю їхнього осідання, а також відсотковим співвідношенням еозинофілів, паличкоядерних і сегментоядерних нейтрофілів, лімфоцитів і моноцитів у крові коропів першої дослідної групи і контролем (табл. 2).

Підвищення концентрації 19-нортестостерону у воді до 200 мкг/дм³ знижувало швидкість осідання еритроцитів (ШОЕ) в 1,87 раза, що може бути наслідком збільшення кількості альбумінів та зміни співвідношення інших фракцій білків у плазмі крові, і не впливало на вміст гемоглобіну, кількість еритроцитів, лейкоцитів, еозинофілів, нейтрофілів, лімфоцитів та моноцитів у коропів другої дослідної групи порівняно до контролю.

Отже, синтетичний стероїд 19-нортестостерон за низької концентрації і нетривалої дії не впливає, а за високої — знижує показник ШОЕ крові, що змінює транспортну функцію еритроцитів крові.

Відомо, що вміст стероїдних гормонів в тканинах риб змінюється за дії різних забруднювачів води, що свідчить про їх участь у регуляції пристосувальних механізмів у гідробіонтів [18, 19]. Дослідженнями встановлено, що 19-нортестостерон за концентрації 50 мкг/дм³ не впливав на вміст кортизолу, тестостерону і прогестерону в плазмі крові коропів першої дослідної групи порівняно до контролю (табл. 3). Не виявлено також різниці між концентрацією тестостерону, прогестерону і кортизолу в гепатопанкреасі коропів першої дослідної групи і контролем. Одержані результати свідчать, що дворічки коропа здатні адаптуватись до незначної концентрації 19-нортестостерону у воді не змінюючи при цьому вміст стероїдних гормонів в тканинах. За концентрації 19-нортестостерону у воді 200 мкг/дм³, навіть за нетривалого його впливу на риб, вміст стероїдних гормонів порівняно до контролю значно змінювався, зокрема

Таблиця 1
Маса, довжина тіла та маса і індекс гепатопанкреаса та селезінки риб за дії 19-нортестостерону, $M \pm m$, $n = 5$

Показники	Контрольна група	Дослідні групи (концентрація 19-нортестостерону у воді, мкг/дм ³)	
		перша (50)	друга (200)
Маса тіла, г	826,46±31,60	777,60±11,49	720,60±54,58
Довжина тіла, см	38,44±0,52	37,90±0,53	36,54±1,09
Маса гепатопанкреаса, г	14,4±1,72	10,34±0,93	12,02±1,73
Маса селезінки, г	5,34±0,38	4,02±0,59	4,56±0,45
Індекс гепатопанкреаса, %	1,71±0,15	1,33±0,18	1,66±0,13
Індекс селезінки, %	0,65±0,12	0,52±0,05	0,63±0,08

рівень тестостерону у плазмі крові збільшився у 1,5 рази, а прогестерону і кортизолу навпаки зменшився відповідно у 2,9 і 5,8 рази (табл. 3). Встановлено значну різницю за цими показниками між коропами першої та другої дослідної групи. Порівняно з першою дослідною групою концентрація тестостерону у плазмі крові риб другої групи була вищою у 1,5 рази, а прогестерону і кортизолу навпаки нижчою у 2,86 і 5,54 рази відповідно. Дещо інший характер впливу 19-нортестостерону на концентрацію стероїдних гормонів встановлено в гепатопанкреасі коропів другої дослідної групи. Виявлено збільшення концентрації тестостерону в гепатопанкреасі риб другої дослідної групи у 4,4 рази, прогестерону — у 2,26 рази і кортизолу — у 1,96 рази порівняно з аналогічними показниками в контролі (табл. 3).

Отже, 19-нортестостерон, будучи синтетичним аналогом тестостерону, за високої концентрації у воді, ймовірно, конкурує з ендогенними стероїдами за центри зв'язування, в результаті чого підвищує їхній вміст у тканинах риб. З цим фактом, можливо, пов'язане підвищення концентрації стероїдних гормонів у гепатопанкреасі риб другої дослідної групи порівняно з першою, зокрема тестостерону у 4,92 рази, прогестерону — у 1,89 рази і кортизолу — у 1,8 рази. Одержані дані свідчать про те, що до незначної концентрації 19-нортестостерону у воді, зокрема 50 мкг/дм³, коропи дворічного віку адаптуються без зміни вмісту стероїдних гормонів у тканинах, а за більш високих концентрацій їхній рівень в організмі риб значно зростає.

Таблиця 2

Гематологічні показники риб за впливу 19-нортестостерону, $M \pm m$, $n = 5$

Показники	Контрольна група	Дослідні групи (концентрація 19-нортестостерону у воді, мкг/дм ³)	
		перша (50)	перша (50)
Гемоглобін, г/дм ³	87,25±10,25	89,66±7,45	90,00±11,51
Еритроцити, Т/дм ³	1,40±0,15	1,36±0,09	1,29±0,07
Лейкоцити, Г/дм ³	4,88±0,37	4,55±0,16	3,90±0,36
Швидкість осідання еритроцитів, мм/год	2,66±0,20	1,91±0,41	1,41±0,41*
Еозинофіли, %	2,41±0,97	1,83±0,46	1,58±0,42
Нейтрофіли, %			
паличкоядерні	0	0	0
сегментоядерні	51,16±2,95	49,16±8,35	42,66±8,63
Лімфоцити, %	43,33±3,94	45,53±9,60	52,83±9,30
Моноцити, %	3,08±0,58	3,41±0,91	2,91±0,41

Примітка. Тут і в табл 3—5: * достовірна різниця ($p < 0,05$) порівняно до контролю; ** порівняно до даних у риб першої групи.

З підвищенням концентрації стероїдних гормонів, зокрема тестостерону, прогестерону і кортизолу, в гепатопанкреасі коропів під впливом 19-нортестостерону, враховуючи їхню роль у регуляції метаболізму, можна було очікувати на зміну показників пластичного обміну в тканинах.

У коропів першої дослідної групи, яких утримували впродовж 24 год в акваріумі з концентрацією гормону 19-нортестостерону 50 мкг/дм³, порівняно до контролю підвищилась концентрація білка в плазмі крові в 1,31 раза, а альбумінів — у 1,36 раза, що свідчить про стимуляцію процесів біосинтезу протеїнів у тканинах риб (табл. 4). За цих же умов експерименту концентрація глюкози, тригліцеридів і креатиніну в плазмі крові риб першої дослідної групи відносно контролю не змінювалась. Виявлено значне зниження концентрації неорганічного фосфору та заліза в плазмі крові коропів цієї групи — відповідно у 1,98 і 2,69 рази, тоді як вміст кальцію не змінювався (див. табл. 4). Одержані дані підтверджують висновок про те, що у кісткових риб, як і в теплокровних тварин, 19-нортестостерон проявляє анаболічний ефект, стимулюючи біосинтез протеїнів у тканинах. Цей висновок підтверджено результатами досліджень показників обміну речовин у риб другої дослідної групи, яких утримували впродовж 24 год в акваріумі з концентрацією гормону у воді 200 мкг/дм³. У коропів даної групи концентрація білка в плазмі крові підвищилась у 1,28 раза, альбумінів — у 1,3 раза, глюкози, фосфору і заліза — знизилась відповідно у 1,45, 1,6 і 3,48 рази, а вміст тригліцеридів і креатиніну не змінювався порівняно до контролю (див. табл. 4). Однак в плазмі крові риб другої дослідної групи вміст білка, альбумінів, глюкози, тригліцеридів, креатиніну, кальцію, неорганічного фосфору і заліза не відрізнявся від такого у коропів першої дослідної групи, незважаючи на значні зміни концентрації стероїдних гормонів (див. табл. 4).

Таблиця 3

Вміст стероїдних гормонів у плазмі крові та гепатопанкреасі риб під впливом 19-нортестостерону, $M \pm m$, $n = 5$

Гормони	Контрольна група	Дослідні групи (концентрація 19-нортестостерону у воді, мкг/дм ³)	
		перша (50)	друга (200)
Плазма крові			
Тестостерон, нг/дм ³ ×10 ⁻³	0,37±0,05	0,38±0,04	0,57±0,03 ^{*,**}
Прогестерон, нг/дм ³ ×10 ⁻³	0,61±0,15	0,60±0,18	0,21±0,03 ^{*,**}
Кортизол, мкг/дл	30,66±4,89	29,38±5,47	5,30±1,40 ^{*,**}
Гепатопанкреас			
Тестостерон, нг/г тканини	9,68±2,71	8,73±1,52	42,95±13,32 ^{*,**}
Прогестерон, нг/г тканини	2,03±0,33	2,3±0,26	4,58±0,61 ^{*,**}
Кортизол, мкг/дл	1,89±0,28	1,98±0,24	3,71±1,34 ^{*,**}

Встановлено зміну активності низки ензимів у плазмі крові коропів, яких витримували впродовж 24 год в акваріумах з різною концентрацією 19-нортестостерону у воді. Виявилось, що активність креатинфосфокінази у плазмі крові риб першої дослідної групи зросла у 1,76 раза, а аспаратамінотрансферази — у 1,31 раза, тоді як активність лужної фосфатази і аланінамінотрансферази, навпаки, знизилась відповідно у 2,1 і 1,58 рази, а лактатдегідрогенази — не змінювалась порівняно до контролю (табл. 5). З підвищенням концентрації 19-нортестостерону у воді до 200 мкг/дм³ активність ензимів у плазмі крові коропів змінювалась значно більше, ніж за низького рівня.

У плазмі крові риб другої дослідної групи порівняно до контролю активність креатинфосфокінази підвищилась у 1,57 раза, аспаратамінотрансферази — у 1,4 раза, лужної фосфатази і аланінатамінотрансферази, навпаки, знизилась відповідно у 1,37 і 4,46 рази, а лактатдегідрогенази не змінювалась. Крім того активність лужної фосфатази у плазмі крові риб другої дослідної групи виявилась нижчою у 2,13 раза, а лактатдегідрогенази, аланінамінотрансферази, аспаратамінотрансферази і креатинфосфокінази не відрізнялась від аналогічних показників у коропів першої дослідної групи (див. табл. 5).

Отже, на підставі проведених досліджень слід зробити висновок про те, що реакція дворічок коропа на синтетичний анаболічний стероїд 19-нортестостерон залежить від його концентрації у воді і супроводжується його впливом на дихальну функцію риб, вміст стероїдних гормонів у тканинах, активацією процесу біосинтезу білків, зміною активності низки ензимів та окремих метаболітів пластичного обміну в плазмі крові за відсутності змін гематологічних показників та внутрішніх органів гепатопанкреаса і селезінки.

Таблиця 4

Концентрація білка та вміст метаболітів у плазмі крові риб за впливу 19-нортестостерону, $M \pm m$, $n = 5$

Показники	Контрольна група	Дослідні групи (концентрація 19-нортестостерону у воді, мкг/дм ³)	
		перша (50)	друга (200)
Білок, г/дм ³	24,08±1,62	31,64±1,23*	30,92±2,54*
Альбуміни, г/дм ³	6,06±0,30	8,24±0,43*	7,86±0,34*
Глюкоза, ммоль/дм ³	7,03±0,63	5,00±0,57	4,86±0,55*
Тригліцериди, мкмоль/дм ³	1,18±0,23	1,34±0,15	1,48±0,18
Креатинін, мкмоль/дм ³	11,60±0,75	11,80±0,37	11,20±0,49
Кальцій, ммоль/дм ³	2,39±0,27	2,04±0,06	2,04±0,07
Фосфор (неорганічний), ммоль/дм ³	2,04±0,42	1,03±0,24*	1,30±0,20*
Залізо, мкмоль/дм ³	10,94±1,43	4,06±0,70*	3,14±0,81*

Обговорення результатів досліджень

Стероїдні гормони у кісткових риб відіграють важливу роль у механізмах їхньої адаптації до ксенобіотиків води [6, 18]. Взаємодіючи з білками-рецепторами в цитоплазмі клітин органів-мішеней, вони впливають на транскрипцію генів, стимулюють біосинтез білків-ферментів, підвищують їхню активність, що впливає на гомеостаз [17, 18]. До низької концентрації 19-нортестостерону у воді коропа адаптуються, змінюючи лише окремі ланки обміну білків, фосфат-іонів та заліза, а також активність лужної фосфатази, креатинфосфокінази, аланін- і аспаргатамінотрансферази в плазмі крові (див. табл. 4, 5). За таких умов 19-нортестостерон не впливає на частоту дихання, масу та індекс гепатопанкреаса і селезінки коропів, гематологічні показники, вміст кортизолу, тестостерону і нортестостерону в плазмі крові та гепатопанкреасі, що свідчить про наявність в організмі кісткових риб пристосувальних механізмів до низької концентрації забруднювачів води (див. табл. 1—3). У дворічок коропа 19-нортестостерон, як і у теплокровних тварин, незважаючи на низьку концентрацію у воді, проявляє анаболічний ефект, стимулюючи процеси біосинтезу білка, що збільшувало його рівень, а також вміст альбумінів у плазмі крові (див. табл. 4). Підвищення активності креатинфосфокінази в плазмі крові риб першої дослідної групи, яка контролює синтез АТФ у м'язах, може вказувати на зростаючу потребу організму риб в енергії, при їхній адаптації до забруднювачів води (див. табл. 5). У риб 19-нортестостерон, як синтетичний аналог тестостерону, змінював реакції переамінування амінокислот, не впливаючи при цьому на концентрацію глюкози, тригліцеридів, креатиніну, кальцію і активність лактат-

Таблиця 5

Активність ензимів у плазмі крові риб за впливу 19-нортестостерону,
 $M \pm m, n = 5$

Показники	Контрольна група	Дослідні групи (концентрація 19-нортестостерону у воді, мг/дм ³)	
		перша (50)	друга (200)
Активність лактатдегідрогенази, мкмоль НАДН·Н/год/мл	214,75±25,79	236,80±21,31	255,40±16,32
Активність лужної фосфатази, мкмоль Рн/год/мл	183,80±16,64	87,80±9,37*	41,18±9,09*.**
Активність креатинфосфокінази, мкмоль НАДФ ⁺ /год/мл	17,29±0,32	30,36±4,69*	27,19±3,95*
Активність аланінаінотрансферази, мкмоль НАДН·Н/год/мл	183,80±18,43	116,60±22,59*	134,00±21,36
Активність аспаргатамінотрансферази, мкмоль НАДН·Н/год/мл	162,40±19,57	212,20±12,07*	222,50±16,80*

дегідрогенази в плазмі крові (див. табл. 4, 5). Зменшення концентрації неорганічного фосфору в плазмі крові риб першої дослідної групи порівняно до контролю корелює із зниженням активності лужної фосфатази і пов'язано, ймовірно, з впливом 19-нортестостерону на синтез макроергічних сполук, а зменшення вмісту заліза в плазмі крові — з його накопиченням в тканинах. Можливо, одним із шляхів його впливу на активність ензимів у кісткових риб є утворення в клітинах органів-мішеней гормон-рецепторних комплексів, які регулюють транскрипцію відповідних генів, контролюючи таким чином синтез та активність ензимів [19].

Підвищення концентрації 19-нортестостерону у воді до 200 мкг/дм³ викликало значні зміни не тільки фізіологічних функцій у риб, але і метаболічних процесів в тканинах. Останнє, вірогідно, є наслідком його впливу на процеси стероїдогенезу в інтерреналових клітинах нирок короїв, про що свідчить підвищення концентрації кортизолу і тестостерону в плазмі крові та гепатопанкреасі (див. табл. 3). Зростання кількості дихальних рухів у риб другої дослідної групи порівняно до контролю пов'язано, ймовірно, із стимуляцією енергетичного обміну, що потребує збільшення рівня кисню в тканинах. Не виключено, що підвищення кількості дихальних рухів у риб другої дослідної групи відбулось внаслідок зростання концентрації кортизолу в плазмі крові і гепатопанкреасі (див. табл. 3). Відомо, що кортизол відноситься до групи глюкокортикоїдів, у кісткових риб стимулює процес глюконеогенезу в гепатопанкреасі, реакції окислення глюкози в тканинах, а його концентрація в крові змінюється при забрудненні води хімічними речовинами та дії стрес-факторів [6, 18, 19]. У кісткових риб він впливає на утворення та використання енергії, що сприяє підтриманню гомеостазу, забезпечує адаптацію риб до різних ксенобіотиків води [18]. З цим, ймовірно, пов'язано підвищення концентрації кортизолу і тестостерону, зміна рівня прогестерону в плазмі крові і гепатопанкреасі, а також зниження вмісту глюкози у короїв другої дослідної групи порівняно до контролю. Відомо, що в основі механізму впливу синтетичних стероїдів на кісткових риб є зміна концентрації стероїдних гормонів у тканинах, зокрема кортизолу, тестостерону і прогестерону, які контролюють перебіг метаболічних процесів і впливають на низку фізіологічних функцій в організмі [19]. Не виключено, що 19-нортестостерон у кісткових риб здатний конкурувати з прогестероном і, особливо, з тестостероном за рецептори зв'язування в цитоплазмі, або ж проявляти свій вплив на пострецепторному рівні дії стероїдів, що викликає підвищення концентрації останніх в плазмі крові та гепатопанкреасі. Встановлено, що у високій концентрації 19-нортестостерон значно підвищує вміст кортизолу в тканинах, впливаючи таким чином на низку метаболічних перетворень в гепатопанкреасі, м'язах та інших органах. Не виключено, що підвищення концентрації кортизолу, а також тестостерону у гепатопанкреасі та плазмі крові риб може бути наслідком впливу 19-нортестостерону на процес стероїдогенезу, що впливає на їхній вміст у крові та органах-мішенях. На це також вказує зниження концентрації попередника тестостерону — гормону прогестерону в тканинах риб другої

дослідної групи. Відомо, що ін'єкція кістковим риbam прогестерону змінює вміст 11-кетотестостерону в тканинах, як і при введенні тестостерону [20]. Показано, що досліджуваний синтетичний стероїд за високої концентрації також проявляв анаболічний ефект, про що свідчить підвищення вмісту білків, в тому числі альбумінів, у плазмі крові риб другої дослідної групи. Підвищення активності креатинфосфокінази і аспартат-амінотрансферази, зниження вмісту глюкози, неорганічного фосфору і заліза та активності лужної фосфатази в плазмі крові є наслідком впливу стероїдних гормонів на метаболізм вуглеводів, ліпідів та мінеральних речовин, попри те, що рівень тригліцеридів, креатиніну, кальцію та активність лактатдегідрогенази і аланінамінотрансферази не змінювались (див. табл. 4, 5).

Отже, дворічки коропа здатні адаптуватись до низької концентрації забруднювача природніх водойм синтетичного стероїда 19-нортестостерону, змінюючи окремі ланки метаболізму, а за високого вмісту його у воді у риб зростає частота дихання, активується стероїдогенез, що впливає на процеси метаболізму в тканинах.

Висновки

У кісткових риб синтетичний стероїд 19-нортестостерон чинить анаболічний ефект, а його вплив на дворічок коропа залежить від концентрації у воді і характеризується зростанням частоти дихання, зміною вмісту стероїдних гормонів, а також окремих ланок метаболізму і активності ензимів в тканинах.

Синтетичний стероїд 19-нортестостерон за концентрації 50 мкг/дм³ води навіть після короткотермінового впливу стимулює у дворічок коропа біосинтез білка в тканинах, підвищує активність креатинфосфокінази і аспартатамінотрансферази, знижує активність лужної фосфатази, вміст неорганічного фосфору і заліза і не впливає на концентрацію стероїдних гормонів, глюкози, тригліцеридів і креатиніну, а також активність лактатдегідрогенази і аланінамінотрансферази в плазмі крові.

Реакція дворічок коропа на високу концентрацію 19-нортестостерону у воді характеризується збільшенням частоти дихання, стимуляцією біосинтезу білка в тканинах, підвищенням концентрації кортизолу і тестостерону, зміною вмісту прогестерону в плазмі крові і гепатопанкреасі, посиленням впливу синтетичних стероїдів на окремі ланки метаболізму вуглеводів, обмін мінеральних речовин та активність ензимів у тканинах.

Список використаної літератури

1. Головина Н.А., Тромбицкий И.Д. Гематология прудовых рыб. Кишинев : Штиинца, 1989. 160 с.
2. Давыдов О.Н., Темниханов Ю.Д., Куровская Л.Я. Патология крови рыб. Киев : Мединформ, 2005. 212 с.
3. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике. Москва : Медпресс-информ, 2004. 920 с.

4. Курбатова І.М., Іванова О.В., Захаренко М.О. Антибактеріальні препарати, антигельмінтики та гормони відходів свинарського підприємства. *Агроекол. журн.* 2017. № 3. С. 122—129.
5. Лакин Г.Ф. Биометрия. Москва : Высш. шк., 1990. 352 с.
6. Потрохов О.С., Зінковський О.Г., Худяш Ю.М., Водяницький О.М. Зміна гормонального статусу аборигенних риб за дії агропромислових стоків. *Гідробіол. журн.* 2023. Т. 59, № 3. С. 106-116.
7. Правдин И.Ф. Руководство по изучению рыб преимущественно пресноводных. Москва : Пищ. пром-сть, 1966. 376 с.
8. Яржомбек А.А., Ламанский В.В., Щербина Т.В. Справочник по физиологии рыб. Москва : Агропромиздат, 1986. 192 с.
9. Belfroid A.C., Horst A., Van der Vethaak A.D. et al. Analysis and occurrence of estrogenic hormones and their glucuronides in surface water and waste water in the Netherlands. *Sci. Total Environ.* 1999. Vol. 225. P. 101—108.
10. Bradley P., Barber F., Cray J. Biodegradation of 17-estradiol, estrone and testosterone in stream sediments. *Environ. Sci. Technol.* 2009. Vol. 43, N 13. P. 1902—1910.
11. 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. Vol. 506. P. 410—416.
12. Ching-Hua Huang, Sedlak D.L. Analysis of estrogenic hormones in municipal wastewater effluent and surface water using enzyme-linked immunosorbent assay and gas chromatography/tandem mass spectrometry/. *Environ. Toxicol. Chem.* 2001. Vol. 20, N 1. P. 133—139.
13. Eriksen M.S., Espmark Å., Braastad B.O. et al. Long-term effects of maternal cortisol exposure and mild hyperthermia during embryogeny on survival, growth and morphological anomalies in farmed Atlantic salmon *Salmo salar* Offspring. *J. Fish Biol.* 2007. Vol. 70. P. 462—473.
14. Fine D.D., Breidenbach G.P., Price T.L. et al. Quantification of estrogen in groundwater and swine lagoon samples using solid phase extraction, pentafluorobenzyl /trimethylsilyl derivatizations and gas chromatography-negative ion chemical ionization tandem mass spectrometry. *Chromatography.* 2003. Vol. 1017, N 1—2. P. 167—185.
15. Furuichi T., Lamkanna K., Suzuki K. et al. Occurrence of estrogenic compounds in and removal by a swine farm waste treatment plant. *Environ. Sci. Technol.* 2006. Vol. 40. N 2. P. 7896—7902.
16. Gornely S. Determination of serum protein by mean of biuret reaction. *J. Biochemistry.* 1949. Vol. 177. N 2. P. 751—755.
17. Kurbatova I.M., Zacharenko M.O., Chepil L.V. Effect of chlortetracycline, nandrolone and albendazole on fractional composition of carp serum proteins. *Ukrainian J. Ecology.* 2018. Vol. 1, N 8. P. 57—63.
18. Mommsen T.P., Vijayan M.M., Moon T.W. Cortisol in teleosts: dynamics, mechanisms of action, and metabolic regulation. *Rev. Fish Biol. Fish.* 1999. Vol. 9. P. 211—268.
19. Rajakumar A., Senthilkumaran B. Steroidogenesis and its regulation in teleost: a review. *Fish Physiol. Biochem.* 2020. Vol. 46. P. 803—818.
20. Silva K., Almeida C. M.M., Rodrigues J.A. et al. Improving the control of pharmaceutical compounds in activated sludge wastewater treatment plants: key operating conditions and monitoring parameters. *J. Water Process Engineer.* 2023. Vol. 54. P. 1—30.
21. Tanaka H., Yakou Y., Takahashi A. et al. Evaluation of environmental estrogens in Japanese. *Water Sci. Technol.* 2001. WEFTEC 2001: Session 51 through Session 60. Vol. 20. P. 632—651.
22. Zaki M.S., Fawzi O.M., Refat A.Y. Biochemical and clinicopathological studies in common carp (*Cyprinus carpio L.*) fish exposed to pollution by heavy metals. *Inter. J. Pharm. Ech. Res.* 2016. Vol. 9, N 12. P. 838—842.

Надійшла 27.09.2023

M.O. Zakharenko, Dr. Sci. (Biol.), Prof., Corresp. Member of the NAAS of Ukraine,
National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine,
Geroyiv Oborony str., 15, Kyiv, 03041, Ukraine,
e-mail: sangin1996@ukr.net
ORCID 0000-0001-7055-9086
E.E. Romanova, PhD student,
National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine,
Geroyiv Oborony str., 15, Kyiv, 03041, Ukraine,
e-mail: romanova_ella@ukr.net,
ORCID 0000-0002-2624-2513

INFLUENCE OF 19-NORTESTOSTERONE ON THE CONTENT OF STEROID HORMONES, HEMATOLOGICAL INDICATORS AND INDIVIDUAL LINKS OF METABOLISM IN TISSUES OF CARP (*CYPRINUS CARPIO* L.)

The influence of different concentrations of the synthetic steroid 19-nortestosterone in water on the mass and index of internal organs, hematological parameters, the content of testosterone, progesterone and cortisol, individual links of metabolic processes and the activity of enzymes in the tissues of carp (*Cyprinus carpio* L.) was studied. With a short-term effect and a concentration in water of 50 µg/dm³, 19-nortestosterone increased the content of total protein and albumins, the activity of creatine phosphokinase and aspartate aminotransferase, decreased the level of inorganic phosphorus and iron, the activity of alkaline phosphatase and alanine aminotransferase in the blood plasma of fish and did not affect the respiratory rate, external signs of the body surface, the weight of the hepatopancreas and spleen and their index, hematological indicators, the concentration of steroid hormones in the blood plasma and hepatopancreas, as well as the content of glucose, triglycerides, creatinine, calcium, inorganic phosphorus in the blood plasma.

At a concentration of 19-nortestosterone in water of 200 µg/dm³ in carp compared to the control, the respiratory rate and blood ESR increased, the content of cortisol and testosterone in the blood plasma and hepatopancreas increased, but progesterone in the blood plasma decreased and increased in the hepatopancreas. In fish with a high concentration of 19-nortestosterone in the water, the protein and albumin content, the activity of creatine phosphokinase and aspartate aminotransferase in the blood plasma were higher, and the concentration of glucose, inorganic phosphorus, iron, and the activity of alkaline phosphatase decreased. The synthetic steroid 19-nortestosterone did not affect the weight and index of the hepatopancreas and spleen in fish, hemoglobin concentration, the number of erythrocytes, leukocytes and lymphocytes and the ratio of eosinophils, neutrophils, lymphocytes and monocytes in the blood, as well as the content of triglycerides, creatinine, calcium, activity of lactate dehydrogenase and alanine aminotransferase in blood plasma.

A conclusion was made about the ability of fish to adapt to low concentrations of the synthetic steroid 19-nortestosterone under its short-term exposure, changing individual links of metabolism and the activity of enzymes in tissues. The high concentration of 19-nortestosterone in water has a significant effect on the hormonal status and metabolism of fish.

Key words: carp, 19-nortestosterone, blood, hepatopancreas, spleen, steroid hormones, metabolism, enzymes, adaptation.