

З. Є. Захарієва, канд. біол. наук, доцент,
О. К. Будняк, канд. біол. наук, доцент,
А. В. Сорокін, канд. біол. наук, доцент,
О. Л. Будняк, аспірант, **С. А. Петров**, д-р біол. наук, професор
Одеський національний університет імені І. І. Мечникова, кафедра біохімії,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65082, Україна

ВМІСТ МЕТАБОЛІТІВ ВІТАМІНУ С В ОРГАНАХ МІДІЙ *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS* ЗА ДІЇ СУЛЬФАТУ МІДІ

Вивчали вплив різних концентрацій сульфату міді на вміст метаболітів вітаміну С в органах чорноморських мідій *Mytilus galloprovincialis*. Загальна кількість вітаміну С зменшується зворотно пропорційно концентрації токсиканту. При помірних концентраціях сульфату міді (15,6 та 156 нмоль/л) в тканинах мідій накопичується дегідроаскорбінова кислота, а велика концентрація сульфату міді (1560 нмоль/л) призводить до незворотнього перетворення дегідроаскорбінової кислоти у дикетогулонову кислоту.

Ключові слова: аскорбінова кислота, метаболіти, чорноморські мідії.

Мідії як біофільтратори у процесі своєї життєдіяльності контактують з великою кількістю токсичних речовин, що надходять до них із забрудненого навколишнього середовища. Загальні риси процесів, що відбуваються за таких обставин у головних біохімічних циклах мідій, відомі [3], але, якщо ферментні системи цих циклів більш — менш вивчені, то в меншій мірі це стосується балансу і метаболізму вітамінів та їх коферментних форм. Не виключенням з цього є і вітамін С, оскільки його вміст у тканинах мідій вивчався, як за правило, лише з точки зору їх харчової цінності [4]. Практично не визначені перетворення у мідій власне аскорбінової кислоти (АК) та її метаболітів — дегідроаскорбінової кислоти (ДАК) і дикетогулонової кислоти (ДКГК). В зв'язку з цим мета даного дослідження — оцінити дію різних концентрацій сульфату міді на вміст метаболітів вітаміну С в органах чорноморських мідій *Mytilus galloprovincialis*.

Ця робота є продовженням досліджень, по визначенню впливу найбільш суттєвих для Чорного моря токсикантів на біохімічні перетворення в тканинах мідій.

Матеріали та методи

Чорноморські мідії розміром 3–4 см збирали в лютому-березні 2007 року в прибережній частині акваторії Одеської затоки. Їх поміщали в акваріуми із розрахунку 1 мідія на 1 дм³ морської води. Для адаптації мідій витримували в умовах штучної аерації протягом 2 діб. Тварин ділили на чотири групи: перша група — контрольна, де мідії знаходилися в морській

аерованій воді, друга — мідії були в морській воді, що містила сульфат міді в концентрації 15,6 нмоль/л, третя та четверта — в морській воді із вмістом сульфату міді, відповідно 156 та 1560 нмоль/л. Час витримки мідій у присутності солей — дві доби (після акліматизації до лабораторних умов). Після закінчення терміну інкубації мідій використовували для біохімічних досліджень. В гомогенатах їх органів визначали вміст аскорбінової кислоти та її похідних (загальна аскорбінова кислота — ЗАК, саме аскорбінова кислота — АК, дегідроаскорбінова кислота — ДАК, дікетогулонова кислота — ДКГК) за Соколовським, Лебедевою, Ліелуп, 1974 [5]. Дані оброблені статистично [2].

Результати досліджень

Отримані дані щодо дії сульфату міді на вміст загального вітаміну С в органах чорноморських мідій представлені в табл. 1.

Як видно з таблиці, найбільший вміст загального вітаміну С спостерігається у зябрах, далі за зменшенням показника йшли мантия, гепатопанкреас та нога, хоч різниця між ними не була істотною. Дія сульфату міді стає достовірною за концентрацій 15,6 та 156 нмоль/л, причому рівень загальної аскорбінової кислоти відповідно зменшується у всіх органах із підвищенням концентрації токсиканту.

Таблиця 1

Дія сульфату міді на вміст вітаміну С (мг%) в органах мідій, n=8

Концентрація CuSO ₄ , нмоль/л	Органи			
	Зябри	Мантия	Гепатопанкреас	Нога
Контроль	11,1±1,0	8,5±0,8	7,1±0,7	5,8±0,5
15,6	10,5±1,0	8,3±0,8	6,6±0,7	5,2±0,5
156	9,8±0,8	7,5±0,6*	5,1±0,5*	4,4±0,4*
1560	7,8±0,6*	5,9±0,5*	4,3±0,4*	3,4±0,3*

Примітка: * — різниця з контролем достовірна, p<0,05.

Інтенсивність метаболізму вітаміну С можна простежити, вивчаючи співвідношення вмісту вітаміну С та його метаболітів, а саме власне АК, ДАК та ДКГК (рис.1-4).

Згідно отриманих даних вже концентрація 15,6 нмоль/л призводить до змін у співвідношенні метаболітів вітаміну С. Із підвищенням концентрації сульфату міді такі зміни стають більш суттєвими. Так, при дії сульфату міді у концентрації 15,6 та 156 нмоль/л спостерігалось відповідне підвищення процентної частки ДАК за рахунок АК та ДКГК. Це може свідчити про підвищення рівня окиснювальних процесів в органах, що призвело до зростання процесів окиснення АК у ДАК.

На тлі зменшення загальної аскорбінової кислоти доза сульфату міді у 1560 нмоль/л призводила до суттєвого зменшення ДАК і відповідного накопичення ДКГК, тобто вітамінна форма вітаміну С незворотно окиснювалася до ДКГК, при цьому частка АК трохи підвищувалася.

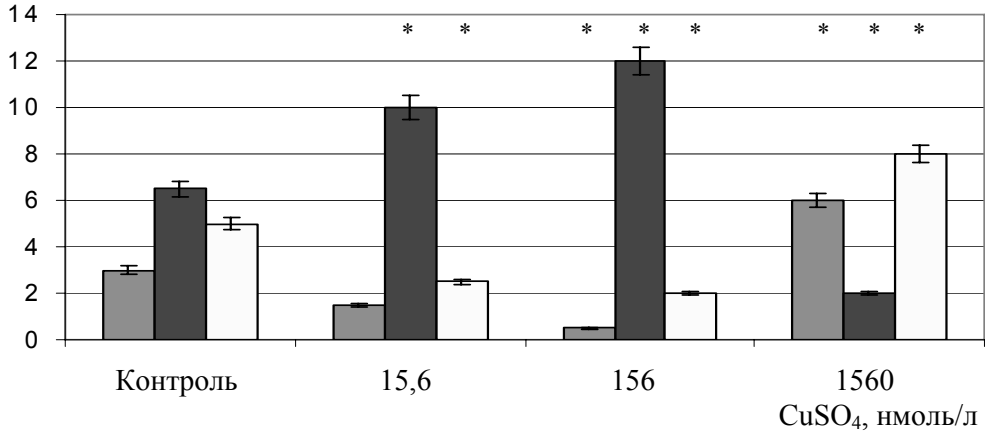


Рис. 1. Відсоткова частка метаболітів вітаміну С від його загальної кількості за дією сульфату міді у гепатопанкреасі мідій (%)

Примітки: Тут і далі: 1. АК ДАК ДКТГ
 2. : * - різниця з контролем достовірна, $p \leq 0,05$.

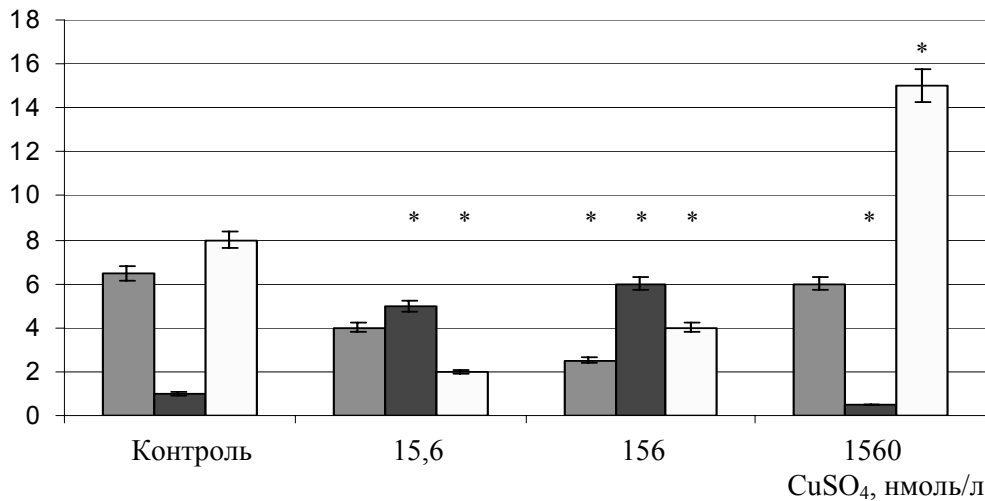


Рис. 2. Відсоткова частка метаболітів вітаміну С від його загальної кількості за дією сульфату міді у нозі мідій (%)

Більш точно ці та інші закономірності наведено у табл. 2, де представлено зміни у співвідношеннях АК\ДАК, АК\ДКТГ, АК\ЗАК за впливу на мідій різних концентрацій сульфату міді.

Таким чином, різні концентрації токсиканту призводять до різних пристосувальних ефектів. Висока концентрація сульфату міді (1560 нмоль/л) призводить до найбільш істотного перерозподілу досліджуваних сполук у всіх тканинах мідій.

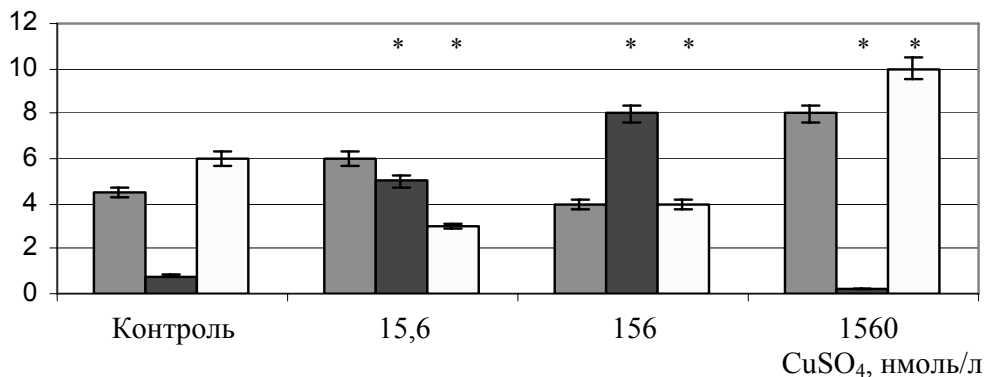


Рис. 3. Відсоткова частка метаболітів вітаміну С від його загальної кількості за дією сульфату міді у зябрах мідій (%)

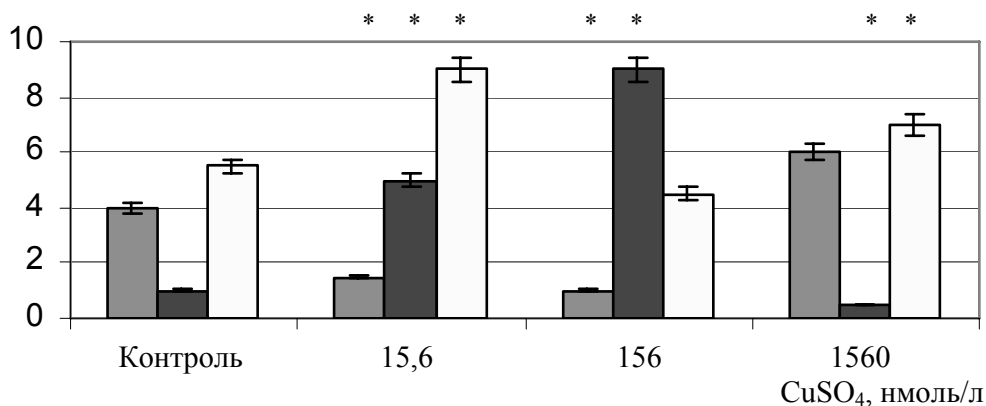


Рис. 4. Відсоткова частка метаболітів вітаміну С від його загальної кількості за дією сульфату міді в мантиї мідій (%)

Мідь — один із важливіших мікроелементів, необхідних для життєдіяльності людини, тварин, рослин. У мідій мідь в найбільшій кількості міститься у гемолімфі у складі гемоціаніну, який транспортує кисень від зябер мольоска до тканин і вуглекислий газ — у зворотньому напрямку. Мідь міститься у складі мідь-залежних ферментів, серед яких важливе значення мають термінальні оксидази. Це цитохромоксидаза, фенолоксидаза, пероксидаза, а також, церулоплазмін та аскорбатоксидаза, яка є тільки у рослин. Інші ферменти, які містять мідь у своєму складі, це супероксидадисмутаза (СОД), тирозиназа, дофамін-β-гідроксилаза, аміноксидаза та ін.

Надмірне надходження міді інгібує активність окиснювальних ферментів, що може призводити до загибелі клітин. Порушення кровообігу підсилює тканеву гіпоксію. Надлишок міді пригнічує дію мембранної АТФази, інгібує ферменти та кофактори, що містять SH-групи (глутатіон, ліпоєва

кислота) і призводить до затримки окиснення у тканинах метаболітів вуглеводного обміну (пентозофосфатний шлях (ПФШ), гліколіз) [1].

Таблиця 2

Співвідношення метаболітів вітаміну С за дії сульфату міді

Орган	Співвідношення метаболітів	Концентрації CuSO_4 , нмоль/л			
		контроль	15,6	156	1560
Гепатопанкреас	АК\ДАК	0,46	0,15	0,04	3,00
	АК\ДКТГ	0,60	0,60	0,25	0,75
	АК\ЗАК	0,21	0,11	0,03	0,38
Нога	АК\ДАК	6,50	0,80	0,42	4,00
	АК\ДКТГ	0,81	2,00	0,63	0,43
	АК\ЗАК	0,42	0,36	0,20	0,28
Зябри	АК\ДАК	0,03	0,13	0,08	0,09
	АК\ДКТГ	0,25	0,05	0,06	0,88
	АК\ЗАК	0,49	0,29	0,17	1,34
Мантія	АК\ДАК	13,17	2,72	2,42	2,98
	АК\ДКТГ	1,65	6,79	3,63	0,32
	АК\ЗАК	0,85	1,23	1,16	0,21

Відомо, що аскорбінова кислота спроможна неферментативно відновлювати іони міді, при цьому утворюється ДАК. Остання за допомогою НАДФН (утворюється у ПФШ) та відновленого глутатіону швидко відновлюється до АК. Окиснення АК у ДАК можуть каталізувати термінальні оксидази — цитохромоксидаза, фенолоксидаза, пероксидаза та ін. Таким чином, підвищення рівня міді, з одного боку, підсилює перетворення АК у ДАК, з іншого — цей процес може стимулюватися вище зазначеними мідь-залежними ферментами. Інгібування SH-груп та роботи ПФШ буде затримувати відновлення ДАК у АК. Усе це може пояснювати накопичення ДАК у органах мідій за дії незначних концентрацій міді і накопичення ДКГК за високих концентрацій цього токсиканту. При цьому загальна концентрація вітаміну С зменшується.

З'ясування механізмів впливу міді на обмін аскорбінової кислоти потребує окремого вивчення.

Висновки

1. Зростання концентрації сульфату міді в навколишньому середовищі (морській воді) призводило до зменшення вмісту загальної аскорбінової кислоти в органах чорноморських мідій.

2. При концентрації сульфату міді 15,6 та 156 нмоль/л спостерігається підвищення частки ДАК відносно інших метаболітів вітаміну С, що, можливо, є наслідком використання АК на процеси окиснення, які стимульовані міддю.

3. Концентрація сульфату міді у 1560 нмоль/л призводить до незворотнього перетворення ДАК у невітамінну форму — ДКТГ.

Література

1. Авцын А.П., Жаворонков А.А., Риш М.А., Строчкова Л.С. Микроэлементозы человека. — М.: Медицина, 1951. — 496 с.
2. Гланц С. Медико-биологическая статистика. Пер. с англ. — Москва, Практика, 1998. — 459 с.
3. Горомосова С.А., Шапиро А.З. Основные черты биохимии энергетического обмена мидий. — М.: Легкая и пищевая промышленность, 1984. — 120 с.
4. Смоляр В.И. Рациональное питание. — К.: Наукова думка, 1991. — 368 с.
5. Соколовский В. В., Лебедева Л.В., Лиэлун Т.В. О методе раздельного определения аскорбиновой, дегидроаскорбиновой и дикетогулоновой кислот в биологических тканях // Лабораторное дело, 1974. — №3. — С. 160–162.

**З. Е. Захариева, А. К. Будняк, А. В. Сорокин, Е. Л. Будняк,
С. А. Петров**

Одесский национальный университет имени И. И. Мечникова,
кафедра биохимии,
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65082, Украина

СОДЕРЖАНИЕ МЕТАБОЛИТОВ ВИТАМИНА С В ОРГАНАХ МИДИЙ *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS* ПОД ДЕЙСТВИЕМ СУЛЬФАТА МЕДИ

Резюме

Изучено действие ионов меди на показатели содержания метаболитов витамина С в органах черноморских мидий *Mytilus galloprovincialis*. Общее количество витамина С уменьшается обратно пропорционально концентрации токсиканта. При этом при концентрации сульфата меди 15,6 и 156 нмоль/л накапливается дегидроаскорбиновая кислота, а высокая концентрация меди (1560 нмоль/л) приводит к необратимому превращению дегидроаскорбиновой кислоты в дикетогулоновую кислоту.

Ключевые слова: аскорбиновая кислота, метаболиты, черноморские мидии.

**Z. E. Zaharieva, O. K. Budnyak, A. V. Sorokin, O. L. Budnyak,
S. A. Petrov**

Odesa National Mechnykov University, Department of Biochemistry,
Dvoryanska Str., 2, Odesa, 65082, Ukraine

VITAMIN C METABOLITES CONCENTRATIONS IN THE ORGANS OF MUSSELS *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS* UNDER COPPER SULPHATE ACTION

Summary

The effect of copper sulphate on the concentrations of vitamin C metabolites in the organs of black sea mussels of *Mytilus galloprovincialis* was studied. The common amount of vitamin C decrease inversely proportional to the concentration of copper sulphate. Thus at the concentration of copper sulphate (15,6 та 156 nmol/l) level of dehydroascorbic acid increases, and the high concentration of copper sulphate (1560 nmol/l) results in irreversible destruction of dehydroascorbic acid into diketogulonic acid.

Keywords: ascorbic acid, metabolites, black sea mussels.