

УДК 577.164.12.001.5:591

А. К. Будняк, канд. биол. наук, доц., **З. Е. Захариева**, канд. биол. наук, доц.,
Н. Л. Федорко, канд. биол. наук, ст. преп., **А. В. Запорожченко**, канд. биол.
наук, доц.

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

СОДЕРЖАНИЕ МАЛОНОВОГО ДИАЛЬДЕГИДА В ТКАНЯХ *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS* В ПРИСУТСТВИИ ИОНОВ РТУТИ И КАДМИЯ В СРЕДЕ ОБИТАНИЯ

Изучено действие солей кадмия и ртути на накопление малонового диальдегида в органах черноморских мидий (*Mytilus galloprovincialis*). Установлено, что органы мидий различаются как по содержанию МДА, так и по его распределению в различных субклеточных фракциях. Было выяснено, что присутствие солей тяжелых металлов в морской воде приводит к увеличению содержания МДА в органах мидий и не изменяет его распределение между субклеточными фракциями.

Ключевые слова: малоновый диальдегид, ртуть, кадмий, Черное море.

Двустворчатый моллюск *Mytilus galloprovincialis* Lam. является общепринятым индикатором загрязнения морской среды различными токсикантами, и его неоднократно использовали для мониторинга загрязнения тяжелыми металлами различных акваторий Черного моря [1].

Загрязнение прибрежных вод Черного моря тяжелыми металлами, среди которых не последнее место занимает ртуть и кадмий, вызывает изменения метаболизма тканей Черноморских мидий [2], однако механизмы этих изменений изучены недостаточно [3].

В связи с этим целью наших исследований явилось изучение влияния содержания солей ртути и кадмия в морской воде на содержание малонового диальдегида и его распределение в субклеточных фракциях органов мидий.

Материалы и методы

Черноморские мидии размером 5–7 см собирали в феврале–марте 2007 года в прибрежной части акватории Одесского залива. Их помещали в аквариумы из расчета 1 мидия на 1 дм³ морской воды, адаптировали при искусственной аэрации на протяжении 3 суток. Животных делили на пять групп: первая группа – контрольная, где мидии находились в морской аэрированной воде, вторая и третья группы – мидии, находящиеся в морской воде в присутствии CdCl₂, с концентрациями соответственно 0,001 мг/л и 0,015 мг/л в течение 3-х суток; четвертая и пятая группы – мидии, трое суток находящиеся в морской воде в присутствии HgCl₂ с концентрациями соли соответственно 0,0008 мг/л и 0,0016 мг/л. Учитываемая, что ПДК ртути составляет 0,0005 мг/л, а ПДК кадмия – 0,005 мг/л [4], дозы токсикантов выбирались так, чтобы одна была ниже ПДК, а другая – выше.

Через трое суток мидий вывели из эксперимента, готовили гомогенаты тканей (гепатопанкреас, мантия, жабры, нога) на дистиллированной воде в со-

отношении 1:9 (вес к объему). Для биохимических исследований брали как гомогенат, так и субклеточные фракции, полученные после центрифугирования при 600 g (3000 об/мин.) в течении 15 минут: осадок и супернатант. В гомогенатах и субклеточных фракциях их органов определяли содержание малонового диальдегида (МДА) по Стальной И. Д., Гаришвили Т. Г. [5].

Результаты обрабатывали статистически [6].

Результаты исследований

Содержание МДА указывает на активность процессов перекисного окисления, протекающего в тканях в норме, а увеличение содержания МДА – на активацию этих процессов. Различия в содержании МДА между животными контрольной группы, взятыми в опыт через сутки после вылова и содержащихся в аквариуме с морской водой в течение 3-х суток, не обнаружены, что указывает на то, что условия, в которых содержались мидии, не влияют на процессы перекисного окисления. В связи с этим в качестве контрольных значений МДА использован уровень этого соединения в тканях животных, содержащихся трое суток в аквариуме с морской водой с искусственной аэрацией и температурой 20°C.

Влияние хлорида кадмия на содержание МДА в органах мидий представлено в табл. 1.

Таблица 1
Влияние хлорида кадмия на содержание МДА (мкмоль/г ткани) в органах мидий ($M \pm m$)
n = 8

Концентрация, мг/л	Исследуемые органы			
	нога	жабры	мантия	гепатопанкреас
0 (контроль)	49,5±4,6*	65±6,5*	65±6,3*	110,9±10,2
0,001	55,4±5,6	81,3±7,6	71,5±7,6	133,8±13,2
0,015	60,9±5,6	97,5±9,0**	78,5±7,1	170,8±14,7**

* $p < 0,05$ по сравнению с гепатопанкреасом

** $p < 0,05$ по сравнению с контролем

Значения содержания МДА в органах контрольной группы животных можно расположить в следующем порядке по убыванию: гепатопанкреас > жабры = мантия > нога. Добавление кадмия в среду обитания вызывает увеличение содержания МДА во всех органах мидий. Более всего содержание МДА в органах мидий увеличивается при концентрации хлорида кадмия в морской воде, равной 0,015 мг/л, причем в большей степени в гепатопанкреасе и жабрах и в меньшей степени в мантии и ноге. Накопление МДА и его распределение по субклеточным фракциям органов мидий представлены в табл. 2.

В осадке (ядерная фракция) в основном находятся обломки клеток, ядра, а в супернатанте находятся структуры эндоплазматического ретикулума, лизосом, митохондрий. Согласно таблице 2, наблюдается неравномерное распределение малонового диальдегида в этих фракциях в зависимости от изучаемого органа. В контрольной группе животных содержание МДА во фракциях осадка и супернатанта достоверно отличается друг от друга в жабрах, мантии и гепатопанкреасе. В мантии и в ноге уровень перекисного окисления выше в ядерной фракции, тогда как в жабрах и в гепатопанкреасе он выше в супернатанте. Таким образом, полученные нами данные указывают на то, что в норме изученные органы от-

личаются как по содержанию МДА, так и по его распределению в субклеточных фракциях.

Таблица 2

Влияние ионов кадмия на распределение МДА (мкмоль/г ткани) в субклеточных фракциях органов мидий ($M \pm m$).

n=8

Концентрация, мг/л		Исследуемые органы			
		нога	жабры	мантия	гепатопанкреас
0	супернатант	21,2±1,9	40,5±3,9	25,3±2,2	63,7±5,9
	осадок	28,3±2,7	24,5±2,6*	39,7±4,1*	47,2±4,3*
0,001	супернатант	23,8±2,6	48,8±4,7	29,3±3,1	74,9±7,2
	осадок	31,6±3,0*	32,5±2,9*	42,2±4,5*	58,9±6,0*
0,015	супернатант	29,2±2,7	50,7±4,7	33,0±2,9	93,9±7,6
	осадок	31,7±2,9	46,8±4,3	45,5±4,2*	76,9±7,1*

* – $p < 0,05$ по сравнению с супернатантом

Воздействие хлорида кадмия на уровень МДА проявляет те же закономерности в распределении МДА между супернатантом и осадком во всех органах, что говорит о том, что присутствие ионов кадмия стимулирует процессы перекисного окисления липидов во всех компонентах клетки.

Влияние хлорида ртути на содержание МДА и его распределение в субклеточных фракциях органов мидий имело аналогичный характер. Полученные нами данные по изучению влияния хлорида ртути представлены в табл. 3. Показано, что с увеличением концентрации ионов ртути содержание МДА увеличивалось во всех органах. Ионы ртути сильнее воздействовали на уровень МДА в гепатопанкреасе, жабрах и мантии, и в меньшей степени – в ноге.

Таблица 3

Влияние хлорида ртути на содержание МДА (мкмоль/г ткани) в органах мидий ($M \pm m$)

n = 8

Концентрация	Исследуемые органы			
	нога	жабры	мантия	гепатопанкреас
0 мг/л (контроль)	49,5±4,9*	65±6,5*	65±6,5*	110,9±11,0
0,0008 мг/л	57,0±5,1	86,0±8,0	77,8±7,4	155,3±14,3
0,0016 мг/л	63,4±6,4	92,0±8,3**	89,5±8,0*	181,9±18,4**

* $p < 0,05$ по сравнению с гепатопанкреасом

** $p < 0,05$ по сравнению с контролем

В табл. 4 представлены данные по распределению МДА между субклеточными фракциями органов мидий при действии хлорида ртути. Можно отметить, что хлорид ртути мало влияет на перераспределение процессов перекисного окисления в мембранах субклеточных фракций, стимулируя их равномерно во всех компонентах клетки.

Таким образом, наши данные по изучению содержания малонового диальдегида в различных тканях мидий *Mytilus galloprovincialis* Lam. и его распределения в мембранах субклеточных фракций как показателя перекисного окисления липидов указывают на то, что в норме этот процесс идет с разной интенсивностью в зависимости от изучаемого органа и неравномерно распределяется в мембра-

нах субклеточных фракций. На основании полученных данных по содержанию малонового диальдегида органы мидий можно расположить в следующем порядке: гепатопанкреас>жабры=мантия>нога. По-видимому, высокое содержание МДА в гепатопанкреасе связано с его функцией как органа пищеварения, в котором наиболее интенсивно протекают процессы перекисного окисления. Низкое содержание МДА в ноге, вероятно, связано с малой подвижностью животных в условиях опыта.

Таблица 4

Влияние ионов ртути на распределение МДА (мкмоль/г ткани) в субклеточных фракциях органов мидий (M±m)

n=8

Концентрация, мг/л		Исследуемые органы			
		нога	жабры	мантия	гепатопанкреас
0	супернатант	21,2±1,9	40,5±3,9	25,3±2,2	63,7±5,9
	осадок	28,3±2,7	24,5±2,6*	39,7±4,1*	47,2±4,3*
0,0008	супернатант	22,8±2,2	42,5±4,2	33,8±3,3	85,4±8,5
	осадок	34,2±3,4	43,5±4,3	44,0±4,5	69,9±6,5
0,0016	супернатант	25,9±2,5	46,3±4,5	39,9±3,9	122,3±12,0
	осадок	40,3±4,0	45,7±4,5	49,6±5,0	73,4±6,9*

* – p<0,05 по сравнению с супернатантом

Что касается распределения МДА в мембранах субклеточных фракций, то нами установлено, что в норме изучаемые органы отличаются его распределением в этих фракциях в зависимости от изучаемого органа. В жабрах и гепатопанкреасе процессы перекисного окисления липидов наиболее интенсивно протекают во фракции супернатанта; в отличие от этого, в мантии и ноге — в ядерной фракции.

Ионы кадмия увеличивают содержание МДА во всех органах, и это увеличение пропорционально концентрации кадмия в среде. Влияние хлорида ртути на содержание МДА в органах мидий имело сходный характер. Нами замечено увеличение содержания МДА во всех органах мидий.

Высокое содержание МДА в гепатопанкреасе может объясняться как тем, что тяжелые металлы в большинстве своем накапливаются в гепатопанкреасе, так и тем, что ионы тяжелых металлов, связываясь с белком-пигментом гемоцианином, который осуществляет транспорт кислорода в моллюске к тканям и уклеислого газа – в обратном направлении [7], оказывает значительное влияние на углеводный обмен, который наиболее интенсивно проходит в гепатопанкреасе [8].

Значительное увеличение МДА в жабрах, возможно, связано с тем, что этот орган имеет непосредственный контакт с морской водой, следовательно ионы металлов накапливаются в процессе фильтрации и проявляют свое действие. Наряду с этим можно отметить, что соотношение содержания МДА между органами сохранялось при действии различных концентраций солей кадмия и ртути, что может быть обусловлено функциональными особенностями органов.

Полученные нами данные свидетельствуют о том, что ионы ртути и кадмия включаются в метаболические процессы, и это приводит к увеличению содержания МДА во всех органах. Не исключено, что изменения, вызываемые тяже-

лыми металлами, обусловлены пероксидантным действием самих металлов. На основании проведенных исследований можно заключить, что действие ртути имеет более выраженный характер, чем действие кадмия.

Относительно распределения МДА между субклеточными фракциями органов мидий при действии солей кадмия и ртути можно отметить, что оно аналогично указанному распределению в контроле. В целом, наши данные указывают на то, что ионы тяжелых металлов активируют процессы перекисного окисления липидов в тканях мидий *Mytilus Galloprovincialis* Lam.

Выводы

1. Органы *Mytilus galloprovincialis* различаются по содержанию МДА и их можно расположить по убыванию МДА в следующем порядке: гепатопанкреас>мантия=жабры>нога, при этом в ноге и мантии содержание МДА выше во фракции, содержащей ядра и неразрушенные клетки, тогда как в гепатопанкреасе и жабрах содержание МДА выше в субклеточной фракции, содержащей мембраны митохондрий, ЭПР, лизосом.

2. Присутствие в морской воде соли кадмия приводит к увеличению содержания МДА в органах мидий: в большей степени в гепатопанкреасе и жабрах и в меньшей степени в ноге и мантии. При этом степень увеличения содержания МДА коррелирует с концентрацией соли кадмия.

3. Присутствие соли ртути в морской воде увеличивает содержание МДА во всех органах мидий, причем наибольшее увеличение наблюдается в гепатопанкреасе. При этом увеличение содержания МДА в меньшей степени зависит как от концентрации тяжелого металла, так и от исследуемого органа, чем в опытах с использованием соли кадмия.

4. Присутствие солей кадмия и ртути в морской воде равномерно активирует процессы перекисного окисления в различных субклеточных фракциях, степень которого различается в зависимости от органа.

Литература

1. Ртуть в мидиях *Mytilus galloprovincialis* Lam из бухт крымского побережья Черного моря / В. И. Рябушко, В. Н. Егоров, А. Ф. Козинцев, С. К. Костова, В. К. Шинкаренко // Морской экологический журнал. - 2002. - Т. 1, № 1.
2. Оскольская О. И., Тимофеев В. А., Бондаренко Л. В. Влияние загрязнения шельфовой зоны Черного моря на морфофизиологические характеристики мидии. - Экология моря. - 1999. - Вып. 49. - С. 84-89.
3. Брагинский Л. П., Линник П. Н. К методике токсикологического эксперимента с тяжелыми металлами на гидробионтах // Гидробиол. журн. - 2003. - Т. 39, №1. - С. 92-104.
4. Орешков Т. Нормативна уредба по опазване на околната среда. - Бургас: Университет «Проф. Д-р Ас. Златаров». - 2001. - 231 с.
5. Стальная И. Д., Гаришвили Т. Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / Современные методы в биохимии // Под ред. А. Б. Ореховича. - М.: Наука, 1976. - С. 66-68.
6. Рокицкий П. Ф. // Биологическая статистика. - Минск: Вышэйшая школа, 1973. - 320 с.
7. Лисовская В. И., Иванович И. А., Холодковская Е. В. Динамика содержания гликогена и липидов у мидий Одесского залива // Эколого-функціональні та фауністичі аспекти дослідження молюсків, їх роль у біоіндикації стану навколишнього середовища. - 2004. - С. 107-109.
8. Горомосова С. А., Шапиро А. Э. Основные черты биохимии энергетического обмена мидий. - М.: Легкая и пищевая промышленность, 1984. - 120 с.

О. К. Будняк, З. Є. Захарієва, Н. Л. Федорко, О. В. Запорожченко

Одеський національний університет імені І. І. Мечникова,
кафедра біохімії,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65082, Україна

ВМІСТ МАЛОНОВОГО ДІАЛЬДЕГІДУ В ТКАНИНАХ МІДІЙ MYTILUS GALLOPROVINCIALIS В ПРИСУТНОСТІ ІОНІВ РТУТІ ТА КАДМІЮ В СЕРЕДОВИЩІ

Резюме

Вивчена дія солей кадмію та ртуті на накопичення малонового діальдегіду в органах чорноморських мідій *Mytilus galloprovincialis*. Встановлено, що органи мідій розрізняються як вмістом МДА, так і його розподілом в різних субклітинних фракціях. Виявлено, що присутність солей важких металів у морській воді призводить до підвищення вмісту МДА в органах мідій і істотно не змінює його розподіл між субклітинними фракціями.

Ключові слова: малоновий діальдегід, ртуть, кадмій, Чорне море.

O. K. Budnyak, Z. E. Zaharieva, N. L. Fedorko, O. V. Zaporozhchenko

Odessa National I. I. Mechnikov University,
Department of biochemistry
Dvoryanskaya str, 2, Odessa, 65082, Ukraine

EFFECT OF KADMIUM AND MERCURY SALTS IN ENVIRONMENT ON CONCENTRATIONS OF MALONIC DIALDEHYD IN THE TISSUES OF BLACK SEA MUSSEL MYTILUS GALLOPROVINCIALIS

Effect of salts of kadmium and mercury on accumulation of malonic dialdehyd in the organs of the black sea mussels *Mytilus galloprovincialis* was studied. It was found that the organs of mussels differ both in the MDA concentration and in it's distributing in different subcellular fractions. It was exposed that presence of heavy metals salts in salt water resulted in increasing of the MDA concentration in the organs of mussels and does not change its distributing between subcellular fractions.

Keywords: malonic dialdehyd, mercury, cadmium, the Black sea.