

УДК 577.164.12.001.5:591

А. К. Будняк, канд. биол. наук, доц., **З. Е. Захариева**, канд. биол. наук, доц., **А. В. Сорокин**, канд. биол. наук, доц., **С. А. Петров**, д-р биол. наук, проф.

Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова,
кафедра биохимии,
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65026, Украина

СОСТОЯНИЕ ОКИСЛИТЕЛЬНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ В ОРГАНАХ ЧЕРНОМОРСКИХ МИДИЙ *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS* В ПРИСУТСТВИИ СОЛЕЙ ЦИНКА И МЕДИ В СРЕДЕ ОБИТАНИЯ

Изучено действие солей цинка и меди на некоторые показатели окисления-восстановления в органах черноморских мидий *Mytilus galloprovincialis*. Установлено, что ионы цинка вызывают увеличение содержания малонового диальдегида, общей окислительной активности и уменьшают активность каталазы в органах мидий, а ионы меди влияют противоположным образом. Эффекты ионов исследованных металлов прямо зависят от способности соответствующих органов их накапливать

Ключевые слова: малоновый диальдегид, общая антиоксидантная активность, окислительная активность, каталаза.

Промышленные стоки и бытовые отходы привели к значительному загрязнению прибрежных вод Черного моря. В связи с неблагоприятной экологической ситуацией большое значение приобретает поиск и разработка новых высокочувствительных тест-объектов для биомониторинга загрязнения морских вод [1]. Моллюски довольно часто используются как виды-биоиндикаторы, что определяется их массовым распространением и резистентностью к токсическим веществам. Несмотря на то, что *Mytilus galloprovincialis* обладают высокой устойчивостью к влиянию негативных факторов, биохимические механизмы, обеспечивающие эту устойчивость, изучены недостаточно [3].

В связи с этим целью данной работы было оценить состояние некоторых показателей окислительной и антиоксидантной системы в органах мидий при действии ионов цинка и меди в концентрациях, кратных их ПДК.

Материалы и методы

Черноморские мидии размером 3–4 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 2 суток. Животных делили на три группы: первая группа — контрольная, где мидии находились в морской аэрированной воде, вторая — мидии были в морской воде, содержащей ионы меди или цинка (в виде сульфатов) в концентрации 10 ПДК, третья — в морской воде с содержанием указанных солей, равном 100 ПДК. Время выдерживания мидий в присутствии солей — двое и семь суток (после акклиматизации к лабораторным условиям). После окончания сроков инкубации мидий использовали для биохимических исследований. В гомогенатах их органов определяли содержание малонового диальдегида (МДА) [8], общую оксидантную (ООА) и антиоксидантную (ОАА) активность [4], а также активность каталазы [7].

Результаты исследований

Накопление МДА в органах мидий в норме и при действии сульфата цинка и сульфата меди представлено соответственно в табл. 1 и 2.

Таблица 1

Содержание МДА (мкмоль/г сырого веса ткани) в органах мидий при наличии в воде сульфата цинка

Условия опыта	ПДК	Органы			
		Жабры	Мантия	Гепатопанкреас	Нога
Контроль	0	108,3±10,5	106,7±10,5	75,4±7,4	39,5±3,8
Инкубация 2-е суток	10	116,6±11,6	115,1±11,5	88,3±8,5	42,3±4,2
	100	129,9±12,9	130,7±12,6	99,5±9,9	45,6±4,5
Инкубация 7 суток	10	140,6±13,9	135,6±13,5	115,5±11,5*	50,3±5,0
	100	162,8±16,2*	155,3±15,5*	127,4±12,7*	54,5±4,4*

Примечание: * — различия по сравнению с контролем достоверны, $p \leq 0,05$.

Таблица 2

Содержание МДА (мкмоль/г сырого веса ткани) в органах мидий при наличии в воде сульфата меди

Условия опыта	ПДК	Органы			
		Жабры	Мантия	Гепатопанкреас	Нога
Контроль	0	108,3±10,5	106,7±10,5	75,4±7,4	39,5±3,8
Инкубация 2-е суток	10	103,5±10,3	103,6±10,3	73,9±7,3	38,3±3,8
	100	101,1±10,1	101,3±10,1	72,5±7,2	36,6±3,2
Инкубация 7 суток	10	94,2±9,4	98,5±9,8	71,4±7,3	35,6±3,5
	100	75,3±7,5*	89,5±8,9	61,6±6,1	34,5±3,4

Примечание: * — различия по сравнению с контролем достоверны, $p \leq 0,05$.

Наибольшим содержанием МДА, а, следовательно, и высокой интенсивностью ПОЛ в норме, характеризовалась мантия мидий, далее по убыванию содержания МДА следовали жабры, гепатопан-

креас и нога. Подобное распределение содержания МДА по органам вполне закономерно и отражает интенсивность ПОЛ в органах в условиях контроля. Действие ионов исследуемых тяжелых металлов на содержание МДА в органах моллюсков было прямо противоположным. Ионы цинка фактически стимулировали накопление МДА, особенно при 100 ПДК на 7 сутки опыта в отличие от ионов меди, при действии которых в жабрах содержание МДА снижается, что возможно обусловлено слабым антиоксидантным действием меди на организм мидии, но не исключает ее токсического воздействия. По всей видимости выявленный в жабрах эффект связан с тем, что жабры интенсивно накапливают медь [6], и тем самым защищают другие органы мидий от сверхвысоких концентраций меди [2, 9].

Если величина накопления МДА характеризует интенсивность ПОЛ, то ООА и ОАА характеризуют его ресурсную мощность и степень его гашения. Данные о влиянии солей цинка и меди на общую оксидантную активность в органах мидий представлены в таблицах 3 и 4.

Таблица 3

Общая оксидантная активность (мкмоль МДА / г сырого веса ткани) в органах мидий при наличии в воде сульфата цинка

Условия опыта	ПДК	Органы			
		Жабры	Мантия	Гепатопанкреас	Нога
Контроль	0	456±45	368±36	309±29	194±18
Инкубация 2-е суток	10	495±49	392±39	386±38	203±20
	100	515±51	429±42	452±45*	227±22
Инкубация 7 суток	10	650±65*	555±55*	624±62*	255±25
	100	825±82*	650±65*	794±79*	295±29*

Примечание: * — различия по сравнению с контролем достоверны, $p \leq 0,05$.

Таблица 4

Общая оксидантная активность (мкмоль МДА / г сырого веса ткани) в органах мидий при наличии в воде сульфата меди

Условия опыта	ПДК	Органы			
		Жабры	Мантия	Гепатопанкреас	Нога
Контроль	0	456±45	368±36	309±30	194±18
Инкубация 2-е суток	10	432±42	355±35	302±29	185±18
	100	420±42	346±34	284±27	180±17
Инкубация 7 суток	10	390±39	315±32	274±27	178±17
	100	332±33*	290±29	257±25	168±16

Примечание: * — различия по сравнению с контролем достоверны, $p \leq 0,05$.

В целом полученные данные подтверждают основные закономерности, полученные для прямого МДА-теста (табл. 1, 2). Ионы цин-

ка вызывают увеличение ООА, в то время как действие меди было незначительным и имело противоположную направленность, особенно в жабрах, где нами обнаружено достоверное снижение ООА. Таким образом, можно говорить о том, что тест на ООА для оценки влияния ионов цинка и меди является несколько более показательным, чем прямой МДА — тест.

Что касается влияния изучаемых ионов металлов на общую антиоксидантную активность, то нами обнаружено ее увеличение (табл. 5 и 6), и достоверные отличия отмечены в гепатопанкреасе на 7 сутки при 100 ПДК ионов цинка.

Таблица 5

Общая антиоксидантная активность (мкмоль МДА / г сырого веса ткани) в органах мидий при наличии в воде сульфата цинка

Условия опыта	ПДК	Органы			
		Жабры	Мантия	Гепатопанкреас	Нога
Контроль	0	275,3±26,8	224,2±22,0	219,3±21,5	173,5±17,0
Инкубация 2-е суток	10	283,8±27,9	232,2±23,0	244,8±24,0	185,4±18,0
	100	296,7±28,4	245,1±23,8	270,9±26,5	193,5±19,0
Инкубация 7 суток	10	309,6±29,5	248,8±24,0	283,0±28,0	198,4±19,3
	100	322,5±31,8	253,0±25,0	302,5±30,0*	208,4±20,0

Примечание: * — различия по сравнению с контролем достоверны, $p \leq 0,05$.

Таблица 6

Общая антиоксидантная активность (мкмоль МДА / г сырого веса ткани) в органах мидий при наличии в воде сульфата меди

Условия опыта	ПДК	Органы			
		Жабры	Мантия	Гепатопанкреас	Нога
Контроль	0	275,3±26,8	224,2±22,0	219,3±21,5	173,5±17,0
Инкубация 2-е суток	10	309,6±29,5	233,3±24,0	225,8±22,1	167,7±16,5
	100	322,5±32,0	252,0±25,0	245,1±24,0	193,5±19,0
Инкубация 7 суток	10	348,5±33,7	262,3±26,0	250,3±25,0	180,6±18,0
	100	351,2±35,0	283,8±28,0	263,5±26,0	219,3±21,4

Примечание: * — различия по сравнению с контролем достоверны, $p \leq 0,05$.

Повышенная чувствительность гепатопанкреаса к цинку обусловлена тем, что цинк преимущественно накапливается в гепатопанкреасе [6].

В связи с тем, что поставщиком свободных радикалов в клетках может быть перекись водорода, мы решили проверить активность каталазы (табл. 7, 8). Нами обнаружено снижение активности фермента под действием ионов цинка, особенно на 7 сутки при 100 ПДК, в то время, как ионы меди, особенно в гепатопанкреасе, повышали ее уровень. Вероятно, продукты ПОЛ, возникающие при действии ионов цинка, оказывали ингибирующее влияние на каталазу.

Таблица 7

Активность каталазы (мкмоль H₂O₂/г сырого веса ткани) в органах мидий при наличии в воде сульфата цинка

Условия опыта	ПДК	Органы			
		Жабры	Мантия	Гепатопанкреас	Нога
Контроль	0	36,2±3,3	34,0±3,1	40,8±3,9	25,5±2,3
Инкубация 2-е суток	10	35,5±3,1	33,5±2,8	37,2±3,5	24,2±2,1
	100	34,8±2,9	32,2±2,5	36,5±3,2	23,4±1,9
Инкубация 7 суток	10	29,5±2,7	26,5±2,5	28,3±2,7*	21,2±1,9
	100	23,8±2,1*	21,6±2,0*	22,5±2,1*	18,5±1,7

Примечание: * — различия по сравнению с контролем достоверны, $p \leq 0,05$.

Таблица 8

Активность каталазы (мкмоль H₂O₂/г сырого веса ткани) в органах мидий при наличии в воде сульфата меди

Условия опыта	ПДК	Органы			
		Жабры	Мантия	Гепатопанкреас	Нога
Контроль	0	36,2±3,6	34,0±3,3	40,8±3,9	25,5±2,5
Инкубация 2-е суток	10	38,3±3,8	36,5±3,6	44,3±4,4	26,7±2,5
	100	39,6±3,9	36,3±3,6	45,5±4,5	27,3±2,7
Инкубация 7 суток	10	41,5±4,1	40,2±4,0	49,3±4,9	27,8±2,7
	100	45,6±4,5	43,5±4,3	57,5±5,7*	30,1±3,0

Примечание: * — различия по сравнению с контролем достоверны, $p \leq 0,05$.

Что касается меди, то считается, что ее накопление прямо связано с физиологической потребностью в ней в составе гемоцианина, который осуществляет транспорт кислорода к тканям и углекислого газа — в обратном направлении [5].

Выводы

1. Сульфат цинка при содержании в морской воде, равном 10 и 100 ПДК вызывал увеличение содержания малонового диальдегида, общую оксидантную активность и уменьшал активность каталазы в органах мидий.
2. Сульфат меди при содержании, равном 100 ПДК, уменьшал содержание малонового диальдегида, общую оксидантную активность в жабрах и увеличивал активность каталазы в гепатопанкреасе.
3. Состояние окислительно-восстановительной системы органов мидий в присутствии ионов цинка и меди прямо зависит от способности соответствующих органов накапливать эти ионы.

Литература

1. Александров Б. Г., Ходаков И. В. Изменения структуры и самоочистительной способности обрастания прибрежной зоны Черного моря в условиях антропогенного воздействия // Экологические проблемы Черного моря. — Одесса: ОЦНТИ, 1999. — С. 192–197.
2. Божков А. И. Три дозо-зависимые стадии действия ионов меди на функциональную активность биологических систем // Биохимия. — 1997. — Т. 62, № 2. — С. 176–186.
3. Брагинский Л. П., Линник П. Н. К методике токсикологического эксперимента с тяжелыми металлами на гидробионтах // Гидробиол. журн. — 2003. — 39, № 1. — С. 92–104.
4. Горячковський О. М. Клінічна біохімія: Довідковий посібник / Вид. 2-е, вип. I доп. — Одеса: Астропринт, 1998. — 608 с.
5. Киричук Г. Е. Накоплення іонів важких металів прісноводним молюском *Viviparus viviparus* // Еколого-функціональні та фауністичні аспекти дослідження молюсків, їх роль у біоіндикації стану навколишнього середовища, 2004. — С. 72–75.
6. Киричук Г. Е. Особенности накопления ионов тяжелых металлов в организме двустворчатых моллюсков // Гидробиол. журн., 2003. — Т. 39, № 3. — С. 45–55.
7. Руководство к лабораторным занятиям по биологической химии / Под ред. Т. Т. Березова. — М.: Медицина, 1976. — 294 с.
8. 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.
9. Столяр О. Б., Грубинко В. В., Михайлив Р. Л. Роль металлотинонеинов в детоксикации ионов меди, цинка и марганца в тканях *Anodonta Cygnea* при их действии в отдельности и в смеси // Гидробиол. журн., 2004. — Т. 40, № 3. — С. 91–102.

А. К. Будняк, З. Е. Захарієва, А. В. Сорокін, С. А. Петров

Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова, кафедра біохімії,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна

СТАН ОКИСЛЮВАЛЬНО-ВІДНОВЛЮВАЛЬНОЇ СИСТЕМИ В ОРГАНАХ ЧОРНОМОРСЬКИХ МІДІЙ *MYTILUS* *GALLOPROVINCIALIS* В ПРИСУТНОСТІ СОЛЕЙ ЦИНКА ТА МІДІ В СЕРЕДОВИЩІ ІСНУВАННЯ

Резюме

Вивчена дія солей цинка і міді на деякі показники окиснення-відновлення в органах чорноморських мідій *Mytilus galloprovincialis*. Отримано, що іони цинка викликають підвищення вмісту малонового діальдегіду, загальної окислювальної активності і зменшують активність каталази в органах мідій, іони міді впливають протилежним чином. Ефекти іонів досліджених металів прямо залежать від спроможності відповідних органів їх накопичувати.

Ключові слова: малоновий діальдегід, загальна антиокислювальна активність, окислювальна активність, каталаза.

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

Mechnikov I. I. Odessa National University, Department of Biochemistry,
Dvoryanskaya St., 2, Odessa, 65026, Ukraine

**STATE OF OXIDIZING-RESTORATION SYSTEM IN ORGANS
OF THE BLACK SEA MUSSELS *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS*
IN PRESENCE OF ZINC AND COPPER SALTS IN DWELLING
ENVIRONMENT**

Summary

The action of zinc and copper salts on some indices of oxidization-renewal in the organs of the Black Sea mussels *Mytilus galloprovincialis* is studied. It was proved, that the ions of zinc caused the increasing the MDA, GOA maintenance and diminished activity of katalaza in the organs of mussels, the ions of copper poses the opposite influence. The effects of ions of investigated metals depend straightly on the ability of proper organs to accumulate them.

Keywords: malonic dialdehyd, general antyoksydant activity, oksydant activity, katalaza.