

8. Woo N.Y.S., Tong W.C.M. Salinity adaptation in the snakehead, *Ophiocephalus maculatus* Lacepede: changes in oxygen consumption, branchial Na^+K^+ -ATPase and body composition // J. Fish Biol. 1982. V. 20. № 1. P. 11-19.

MECHANISMS OF STABILIZATION OF THE IONIC HOMEOSTASIS OF THE INTERNAL ENVIRONMENT OF AQUATIC ORGANISMS UNDER CONSTANT AND EXTREME CONDITIONS

Martemyanov V.I.

Under constant conditions in tolerant range of various factors of environment parameters of water-salt homeostasis of freshwater aquatic organisms are adjusted in narrow limits, reflecting norm of reaction. In an initial stage of stress outflow of ions from the internal environment of an organism is observed. Counteraction to this harmful process is carried out due to acceleration of functions sodium the pump and K^+ -Cl⁻-exchanger, ions strengthening an output from cells of organism.

ЗАВИСИМОСТЬ НУКЛЕИНОВОГО ГОМЕОСТАЗА КАРПА РАЗНОГО ВОЗРАСТА ОТ ХИМИЧЕСКОЙ ПРИРОДЫ ТОКСИКАНТОВ

О.Б. Мехед

*Черниговский национальный педагогический университет имени Т. Г. Шавченко
Чернигов, Украина, e-mail: mekhedolga@mail.ru*

Биохимические изменения в тканях рыб под воздействием токсикантов и их возрастные особенности имеют чрезвычайно важное значение в условиях интенсификации рыбоводства. Исследования показывают, что способность к кумуляции и особенности метаболических изменений в тканях разновозрастных рыб зависят от химического вещества которым представлен токсикант, ткани и возраста рыб (Бабушкина, 2010). Основная функция нуклеиновых кислот - сохранение и передача генетической информации - проявляется в биосинтезе белков. Неадекватно длительная или сильная функциональная нагрузка на клетку приводит к снижению содержания РНК (Магулка, 2010). Уменьшение площади ядер и концентрации в них РНК свидетельствует об усилении ее транспортировки из ядра в цитоплазму, а также о преобладании процессов распада над синтезом. Подобные нарушения могут спровоцировать изменения энергетического обмена. В результате дезорганизации клеточных и митохондриальных мембран, нарушения упорядоченности ферментных систем активируется свободнорадикальный путь перекисного окисления. Нарушение нуклеинового гомеостаза может вызвать развитие трофических изменений со стороны различных органов, в то же время вопросы механизмов поддержания нуклеинового гомеостаза при токсикозе и его значение остаются открытыми. Медь является одновременно необходимым для жизнедеятельности микроэлементом и токсичным тяжелым металлом для многих живых клеток. Медь участвует в течении многих важных метаболических процессов и проявляет значительную бактериостатическое и бактерицидное действие благодаря повреждению плазматических мембран (Borkow, 2005). Механизм антибактериального действия меди основан преимущественно на нарушении структуры ДНК. Медь селективно связывается с гуанозиновыми остатками в молекуле ДНК (Sagripanti, 1996), в результате чего происходит разрыв одного или обеих цепей, а также модификация основ. Кроме того, существуют опасения о возможной связи между использованием пестицидов и развитием онкологических заболеваний как следствия изменений в структуре ДНК (Пидлиснюк, 2004).

Цель исследования - дать оценку динамики количественного спектра нуклеиновых кислот различных органов рыб при воздействии токсических условий содержания.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования были сеголетки и двухлетки карпа чешуйчатого (*Cyprinus carpio* L.) весом 100-150 и 350-400 г соответственно. Опыты проводились в модельных условиях в аквариумах объемом 200 дм³, в которых рыбу помещали из расчета 1 экземпляр на 40 дм³ воды. Период акклиматизации составлял трое суток. Рыбы содержались в условиях опыта в течение 14 суток, что является достаточным для формирования возможного адекватного ответа

организма (Хлебович, 1981). Температура воды поддерживалась в пределах +15 - +16 ° С, содержание растворенного кислорода - в пределах физиологической нормы. Воду в аквариумах меняли каждые 3 суток.

В эксперименте рыбы находились в четырех вариантах: контроль, действие бутилового эфира 2,4-Д (2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота), зенкора и Cu^{2+} . Содержание в воде соответственно на 200 дм^3 : Cu^{2+} - 200 мг, зенкор - 57,2 мг, 2,4-Д бутиловый эфир 16 мг, что соответствует 2 ПДК (предельно допустимые концентрации). Для анализа использовали образцы печени, белых мышц и мозга.

Для исследования нуклеиновых кислот использовали методы количественного определения их содержания в исследуемом объекте и выделение их в чистом виде (Цанев, 1961). Содержание общего белка рассчитывали по методу Лоури (Lowry, 1951).

Статистическая обработка результатов проводилась общепринятыми методами с использованием стандартных компьютерных программ, а достоверность различий между средними арифметическими величинами определяли с помощью t-критерия Стьюдента (Лакин, 1990). Различия между сравниваемыми группами считали достоверными при * - $P < 0,05$

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Рассмотрим результаты исследования количественного содержания нуклеиновых кислот, а также активность нуклеаз в тканях сеголетки карпа. Под воздействием 2,4-Д содержание ДНК в белых мышцах рыб уменьшается на 4%, одновременно количественные показатели РНК выросли на 53% ($P \leq 0,001$). В белых мышцах при действии зенкора содержание ДНК практически не изменяется, в то же время количество РНК уменьшилось в 2 раза ($P \leq 0,001$). В отличие от гербицидов, влияние ионов меди на карпа проявилось в существенном (28%, $P \leq 0,05$) увеличении количественного содержания ДНК и в незначительном повышении количества РНК, которое составляет 11% по сравнению с контролем.

Независимо от природы токсиканта, после четырнадцатисуточного пребывания в условиях токсикоза активность ДНКазы увеличивается, однако в разной степени: в 1,5 раза по сравнению с контролем под воздействием 2,4-Д ($P \leq 0,02$), на 1% и на 14% при действии зенкора и ионов меди соответственно. РНКазы под влиянием 2,4-Д также проявляет более высокую активность, чем соответствующий показатель у рыб контрольной группы (отличие составляет 19%). Влияние зенкора на данный показатель, проявляется в активации фермента на 18 % по сравнению с контролем. В то же время ионы меди почти не вызывают изменения активности РНКазы: $12,41 \pm 1,12$ и $12,22 \pm 4,02$ ИО / мг белка в контроле и при действии ионов меди соответственно.

При изучении содержания нуклеиновых кислот в печени под воздействием токсикантов отмечены значительные отклонения от нормы при токсическом действии зенкора - значительно уменьшается количество РНК (составляет лишь 37% от показателя рыб контрольной группы ($P \leq 0,001$)). При интоксикации 2,4-Д и Cu^{2+} содержание РНК и ДНК практически не изменялось и составляло 99% и 89% от количества ДНК рыб, которые находились в физиологических условиях. В то же время изменения количества РНК неоднозначны, и, хотя различия сравниваемых показателей недостоверны, можно проследить определенные тенденции: под воздействием 2,4-Д содержание РНК увеличилось на 11%, а под влиянием Cu^{2+} уменьшилось на 6% по сравнению с содержанием кислоты в ткани печени рыб контрольной группы.

Активность нуклеаз наименее выражена при действии меди (РНКазы 80%) также 2,4 - Д (РНКазы 98%). Активность ДНКазы приближается к контрольным значениям.

При сравнении контрольной группы с исследуемой наблюдали значительные отклонения от нормы при токсическом действии 2,4-Д - в тканях мозга содержание ДНК уменьшается на 37% ($P < 0,01$). При интоксикации Cu^{2+} содержание нуклеиновых кислот практически не изменялось, соответственно для ДНК составило 102%, а для РНК - 96%. Содержание РНК увеличивалось практически в 1,5 раза по сравнению с контролем при действии 2,4 - Д ($P < 0,05$), в то же время токсическое влияние зенкора проявлялось противоположно: содержание РНК существенно уменьшилось и составляло 55% от исходного показателя.

Активность нуклеаз наименее выражена при действии ионов меди (ДНКазы 102%, РНКазы 105%). Зенкор вызывал увеличение активности РНКазы на 43% относительно показателей контрольной группы рыб, и, хотя различия сравниваемых показателей недостоверны,

наблюдали рост активности ДНКазы и РНКазы на 31% и 17% под воздействием другого гербицида – 2,4-Д.

Таким образом, в результате анализа токсического воздействия гербицидов и ионов меди в тканях сеголетки карпа сделать вывод о значительных изменениях концентрации исследуемых количественных показателей нуклеиновых кислот. В то же время наблюдалось повышение активности рибонуклеаз, что является проявлением компенсационной реакции на действие токсикантов различной химической природы.

Исследовав содержание ДНК и РНК различных тканей двухлетки карпа при токсическом действии гербицидов и ионов меди можно отметить отсутствие существенных различий биохимического ответа организма рыб различного возраста на токсическое влияние 2,4-Д.

После 14 суток воздействия 2,4-Д содержание ДНК в белых мышцах двухлетки уменьшается на 16%, одновременно наблюдали незначительное увеличение РНК всего на 11% относительно контрольной группы. По токсическому действию зенкор отличается от предыдущего токсиканта - содержание РНК в этой ткани уменьшается в 2 раза ($P < 0,001$). Влияние ионов меди на двухлетку карпа по сравнению с показателями сеголетки проявляется в значительном повышении количественного показателя РНК в 2,5 раза ($P < 0,001$) относительно контроля, тогда как содержание ДНК увеличился на 16%.

Независимо от природы токсиканта активность ДНКазы в мышечной ткани наименее выражена под действием ионов меди (95% от показателей контроля). Активность РНКазы также приближается к контрольным значениям.

Сравнив полученные данные содержания ДНК и РНК и активности нуклеаз в тканях печени карпа разного возраста можно сделать вывод, что значительное уменьшение содержания РНК наблюдались при действии зенкора как у сеголетки (РНК - на 63%), так и у двухлетки (РНК - на 36%) ($P \leq 0,02$). При воздействии 2,4 - Д и ионов Cu^{2+} содержание РНК существенно увеличилось, соответственно на 74% ($P \leq 0,001$) и на 69% ($P \leq 0,01$) по сравнению с показателями контрольной группы. Показатели количественного содержания ДНК под действием токсикантов различной природы в тканях печени карпа двухлетки приближаются к показателям рыб, которые находились в физиологических условиях.

ДНКазы под влиянием зенкора и ионов меди проявляет меньшую активность: 79% и 73% соответственно. Активность РНКазы приближается к показателям активности фермента у рыб контрольной группы.

Уровень ДНК в тканях (мозг, печень, белые мышцы) карпа разного возраста практически не изменяется и дает представление о количестве клеток в исследуемой ткани. Уровень ДНК зависит от количества разрушенных клеток, поскольку отражает степень деструкции. Уровень РНК изменчив. Он изменяется в зависимости от интенсивности функциональной активности клеток и характеризует ее способность к синтезу белка.

Анализируя содержание нуклеиновых кислот в тканях мозга при действии токсикантов отмечено значительные отклонения от нормы, при токсическом действии 2,4 - Д количество ДНК уменьшается на 24% относительно контроля ($P < 0,001$), тогда как содержание РНК увеличивается на 60%. При интоксикации ионами Cu^{2+} содержание нуклеиновых кислот возрастает, соответственно ДНК составляет 124%, РНК - 116% от контроля. Содержание РНК уменьшается по сравнению с контролем на 10% под влиянием зенкора.

Активность нуклеаз наименее выражена при действии меди (изменения составляют для ДНКазы 9%, РНКазы - 14% относительно показателя рыб контрольной группы). В то же время при действии зенкора активность РНКазы увеличивается на 31% относительно показателей контрольной группы.

ВЫВОДЫ

Как показывают исследования количественного спектра нуклеиновых кислот и нуклеазной активности в различных тканях *Cyprinus carpio L.* под воздействием токсических условий, выраженность изменений количества нуклеиновых кислот и активности нуклеаз характеризуется значительным изменением в зависимости от природы токсикантов, ткани и возраста исследуемых рыб. Обнаружена прямая зависимость между нарушениями нуклеинового гомеостаза и природой токсиканта.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бабушкина И. В. Изучение антибактериального действия наночастиц меди и железа на клинические штаммы *Staphylococcus aureus* / И. В. Бабушкина, В. Б. Бородулин, Г. В. Коршунов и соавт. // Саратов. науч.-мед. журн. 2010. Т. 6, № 1. С. 11 – 14.
2. Лакин Г. Ф. Биометрия / Г. Ф. Лакин. М. : Высшая школа. 1990. 352 с.
3. Магулка І. В. Характеристика нуклеїнового гомеостазу в пацієнтів в різні періоди геморагічного інсульту / І. В. Магулка, Л. В. Андріюк // Експериментальна та клінічна фізіологія та біохімія, 2010. № 3, С. 74 – 80.
4. Підліснюк В. В. Заборонені та непридатні до використання пестициди: стан та перспективи / В. В. Підліснюк, Т. В. Стирановська // Безпека життєдіяльності. 2004. № 6. С.23 - 28.
5. Хлебович В. В. Акклимация водных животных / В. В. Хлебович. Л. : Наука, 1981. 135 с.
6. Цанев Р. Г. К вопросу о количественном спектрометрическом определении нуклеиновой кислоты / Р.Г.Цанев, Г.Г. Марков // Биохимия. 1960. Т. 25, № 1. С. 151–159.
7. Borkow G. Copper as a biocidal tool / G. Borkow, J. Gabbay // Curr. Med.Chem. 2005. Vol. 12, No. 18. P. 2163 – 2175.
8. Lowry O.H. Determination of enzymes in the liver of the fish / O.H. Lowry, N.I. Rosebrough, A.I. Farr, R.I. Rendall // J. Biol. Chem., 1951. 193, № 1. P. 265– 275.
9. Sagripanti J.L. Cupric and ferric ions inactivate HIV / J.L. Sagripanti, M.M. Lightfoote // AIDS Res. Hum. Retroviruses. 1996. Vol. 12, No. 4. P. 333 – 337.

DEPENDENCE OF NUCLEIC HOMEOSTASIS CARP DIFFERENT AGE ON THE CHEMICAL NATURE TOXICANTS

O.B. Mekhed

Studied the quantitative range of nucleic acids and nuclease activity in various tissues *Cyprinus carpio* L. under the influence of toxic riverbed. Fish of various ages were under the influence of herbicides (2,4-D, metribuzin) and copper ions. The magnitude of changes in the number of nucleic acids and nuclease activity is characterized by a significant change, depending on the nature of the toxicant, fabrics and age of the studied fish. A direct relationship between impaired nucleic acid homeostasis and the nature of the toxicant.

АДАПТИВНОЕ ИЗМЕНЕНИЕ УРОВНЯ СЕРОТОНИН-МОДУЛИРУЕМОГО АНТИКОНСОЛИДАЦИОННОГО БЕЛКА В ТКАНЯХ РЫБ ПОД ВЛИЯНИЕМ ФАКТОРОВ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

*А.А.Мехтиев, **Н.Дж.Мустафаев, *Г.М.Палатников.

*Институт физиологии им. А.И.Караева НАН Азербайджана, arifmekht@yahoo.com;

**Институт зоологии НАН Азербайджана, Баку.

Неблагоприятные факторы окружающей среды различной природы вызывают значительное изменение активности серотонинергической системы в тканях животных. Хроническая экспозиция рыб в воде, содержащей примеси меди (Handy, 2003) и ртути (Tsai et al., 1995), приводит к значительному снижению уровня серотонина в тканях животных. В исследованиях, проведенных на ракообразных, было показано, что длительная экспозиция животных в воде, содержащей примеси тяжёлых металлов и органических соединений, оказывает негативное воздействие на обмен серотонина, приводя к снижению его уровня (Fingerman et al., 1998). Вместе с тем, в ряде случаев факторы окружающей среды вызывают повышение активности серотонинергической системы. В этой связи представляло интерес выяснение направленности изменений уровня серотонинергической системы в тканях животных в зависимости от характера (позитивного или негативного) воздействия конкретного фактора на организм животных.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа выполнена на бычках (*Neogobius fluviatilis*), обитающих в прибрежной зоне Каспийского моря и ведущих осёдлый образ жизни. Бычки (по 7 особей) были выловлены в двух зонах – в относительно чистой и в зоне, характеризующейся высоким уровнем