

УДК:577.1: 597

ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ИОНОВ СВИНЦА И КАДМИЯ НА СОДЕРЖАНИЕ ОБЩЕГО БЕЛКА И ЕГО ФРАКЦИЙ В ТКАНЯХ СЕГОЛЕТОК КАРПА (*CYPRINUS CARPIO L.*)

© 2009 М.М. Габиров, А.И. Рабаданова, И.К. Курбанова, Н.М. Абдуллаева,
У.З. Сулейманова, Г.С. Алиева
Дагестанский государственный университет
Статья получена 08.10.2009 г.

Хроническое действие ионов свинца и кадмия вызывает разнонаправленные изменения в количественном содержании общего белка и белковых фракций в сыворотки крови, печени, почках, белых и красных мышцах сеголеток карпа.

Ключевые слова: белки, сеголетки карпа, альбумины, глобулины, свинец, кадмий

За последние годы вследствие антропогенной нагрузки уровень концентрации токсических веществ в природе постоянно повышается. Из широкого спектра загрязнителей особую опасность для гидробионтов представляют тяжелые металлы [1-5]. Тяжелые металлы, поступающие в кровь, быстро поглощаются тканями и, в первую очередь, эритроцитами, тканями почек, костей и печени. Pb и Cd относятся к 1-му классу токсичности. Из всех водных обитателей наибольшее токсическое действие Pb и Cd оказывают на рыб [1, 9]. К эффектам их воздействия относятся образование комплекса «белок-металл» с накоплением металлотиионеинов, нарушения процессов образования и транспорта белков и другие реакции, показателями которых могут являться изменения в содержании различных белков в организме, играющих важную роль в метаболизме, росте и развитии, а также адаптации гидробионтов к различным видам токсикологической нагрузки [2, 9].

Целью данной работы явилось изучение влияния хронического загрязнения водной среды ацетатом свинца и хлоридом кадмия на динамику общего белка и белковых фракций в различных тканях и органах (кровь, печень, почки, скелетные мышцы) сеголеток карпа (*Cyprinus carpio L.*).

Материалы и методы. Работа выполнена на базе лаборатории физиологии и ихтиологии Дагестанского государственного университета. В

Габиров Магомед Магомедович, доктор биологических наук, профессор, кафедры анатомии, физиологии, гистологии. E-mail: magomedov1@mail.ru

Рабаданова Амина Ибрагимовна, кандидат биологических наук, старший лаборант кафедры анатомии, физиологии, гистологии. E-mail: ashty06@mail.ru

Курбанова Изабела Курбанмагомедовна, кандидат биологических наук, доцент кафедры анатомии, физиологии, гистологии

Абдуллаева Нанда Муртазалеевна, кандидат биологических наук, старший преподаватель кафедры анатомии, физиологии, гистологии. E-mail: rhiziolog1@mail.ru

Сулейманова Ума З., аспирантка

Адиева Гульмира С., аспирантка

модельном эксперименте использованы сеголетки карпа массой 100-150 г., выращенные в прудах Широкольского рыбноводного комбината Республики Дагестан. Рыбы отлавливались перед их переброской в пруды для зимовки и переносились в аквариумы объемом 300 л с содержанием ацетата свинца 0,5 мг/л (ПДК – 0,1 мг/дм³) и хлорида кадмия 0,1 мг/дм³ (ПДК 0,005 мг/дм³). Контролем служили рыбы, содержащиеся в чистой воде. Изучали динамику содержания общего белка [11] и белковых фракций [8] в сыворотке крови и 1%-ых гомогенатах печени, почек, скелетных мышц сеголеток карпа в разные сроки экспозиции рыб в водной среде с ионами Pb и Cd (5, 15 и 30 дни эксперимента). Полученные результаты подвержены вариационно-статистической обработке методом малой выборки [5].

Результаты. Результаты наших исследований по динамике содержания общего белка в крови, печени, почках и скелетных мышцах сеголеток карпа при их интоксикации тяжелыми металлами представлены на рис. 1-5. Изначально содержание общего белка выше в печени (254,0±4,6 мг/г влажной ткани), меньше его количество в красных мышцах (236,0±5,8 мг/г влажной ткани) и почках (234,0±3,7 мг/г влажной ткани), белые мышцы занимают промежуточное положение по содержанию общего протеина (242,0±15,4 мг/г влажной ткани). На 5-й день пребывания рыб в среде с ацетатом свинца в белых и красных мышцах количество общего белка незначительно снижается (на 9,1 и 6,8% соответственно). Содержание альбуминов снижается в почках на 35,3%, в белых и красных мышцах соответственно на 31,6% и в 1,4 раза. В печени на этом этапе интоксикации ацетатом свинца наблюдается повышение содержания общего белка на 18,1% и альбуминов – на 45,2%. На 30-е сутки отмечается дальнейшее снижение содержания общего протеина в белых мышцах, тогда как в почках и красных мышцах происходит незначительное его повышение относительно контроля. В печени на 15-й день количество общего белка выше на 14,2% и соответствует уровню контроля на 30-й день. Отмеченные изменения в содержании общего белка коррелируют с процентным содержанием альбуминов в белковых фракциях.

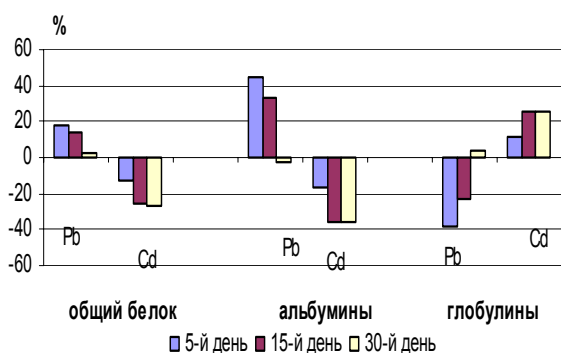


Рис. 1. Динамика содержания общего белка и его фракций в печени сеголеток карпа

Разнонаправленные изменения в исследованных органах были отмечены и в содержании глобулиновой фракции. На начальных этапах интоксикации ацетатом свинца (5-й день) было отмечено понижение содержания глобулинов в печени на 37,9% и повышение в почках, белых и красных мышцах на 18,2; 17,5 и 37,7% соответственно. На 15-й день опыта уровень глобулинов остается сниженным (на 23,6%) в печени, продолжает повышаться (на 36,4%) в почках и практически не отличается от контроля в обоих типах мышц. К концу эксперимента (30-й день) содержание глобулинов во всех тканях, кроме почек, возвращается к уровню контроля. В почках их уровень остается повышенным на 37,9%. Содержание белков в сыворотке крови контрольных рыб составляет $24,0 \pm 1,2$ г/л. На 5-й день экспозиции сеголеток карпа в среде с ацетатом свинца отмечается повышение содержания общего белка в сыворотке крови на 30,4% с последующим понижением на 15-е и 30-е сутки на 12,5% по сравнению с контролем. Определение соотношения белковых фракций показало резкий сдвиг в сторону повышения содержания глобулинов на 15-й и 30-й дни эксперимента (на 26,7 и 30,0% соответственно). Изменения в белковых фракциях сеголеток карпа отразились на величине альбуминно-глобулинового индекса (A/G).

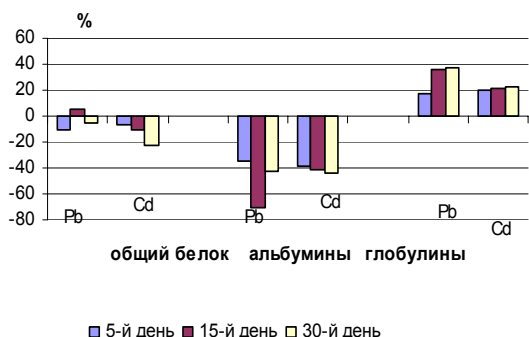


Рис. 2. Динамика содержания общего белка и его фракций в почках сеголеток карпа

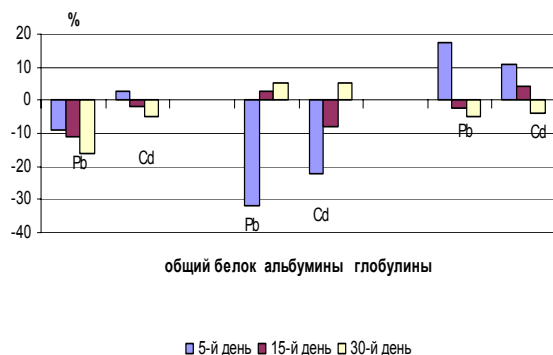


Рис. 3. Динамика содержания общего белка и его фракций в белой мышечной ткани сеголеток карпа

На 5-й день интоксикации рыб хлоридом кадмия в печени, почках и красных мышцах отмечается незначительное понижение общего количества белка. В белых мышцах содержание общего протеина практически не отличается от контроля. На 15-й день опыта содержание общего белка снижается во всех тканях, особенно в печени (на 25,2%). Подобная тенденция отмечена и на 30-й день опыта. Так, в печени отмечено понижение содержания протеина на 26,4%, в почках – на 21,8%, в белой мышечной ткани – на 4,9%, в красных мышцах – на 9,3%. Содержание общего белка сыворотки крови при интоксикации хлоридом кадмия значительно повышается на протяжении всего периода эксперимента.

Содержание альбуминов во многих тканях коррелирует со снижением общего количества белка. Так, в печени и почках этот показатель прогрессивно снижается на протяжении всего опыта, причем наиболее выражена эта тенденция на 30-й день опыта в почках (содержание альбуминов снижено на 44,1%). В красных мышцах уровень альбуминов, напротив, увеличивается на протяжении всего периода воздействия хлорида кадмия и на 30-й день это повышение составляет 36,6%, а в белых мышцах - всего 6,7% по сравнению с контролем. При воздействии хлорида кадмия в течение 5, 15 и 30 суток уровень глобулинов возрастает относительно контроля в печени на 12,1; 25,9 и 25,7%; в почках - на 19,7; 21,2 и 22,7% соответственно. В белых мышцах на начальных этапах интоксикации также отмечено повышение содержания глобулинов с последующим понижением к концу опыта, тогда как в красной мышечной ткани их количество снижено на протяжении всего эксперимента.

Изменения в соотношении альбуминов и глобулинов приводят к снижению A/G индекса во всех тканях, за исключением красной мышечной ткани. Разнонаправленная динамика A/G индекса в течение опыта отмечена в печени и белых мышцах, тогда как в почках и красных мышцах соотношение альбуминов к глобулинам остается неизменным на протяжении всего периода воздействия хлорида кадмия. На 5-й и 15-й дни интоксикации хлоридом кадмия отмечены

незначительные колебания содержания альбуминов и глобулинов в сыворотке крови, не приведшие к изменению A/G индекса. В то же на 30-й день экспозиции рыб в среде с хлоридом кадмия отмечается снижение индекса в 2,1 раза за счет значительного уменьшения (на 40,0%) содержания альбуминов и повышения (на 26,7%) уровня глобулинов.

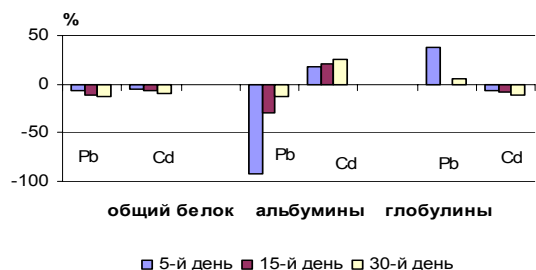


Рис. 4. Динамика содержания общего белка и его фракций в красной мышечной ткани сеголеток карпа

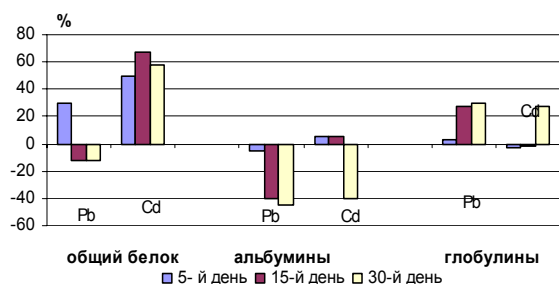


Рис. 5. Динамика содержания общего белка и его фракций в крови сеголеток карпа

Обсуждение результатов. Результаты наших исследований по изучению содержания общего белка и его фракций в различных тканях сеголеток карпа при их интоксикации ацетатом свинца и хлоридом кадмия показали, что степень изменения данных показателей зависит от длительности интоксикации, типа ткани, а также вида токсиканта. Известно, что рассматриваемые органы играют определенную роль в белковом обмене. Так, участие печени в белковом обмене включает в себя ряд функций: синтез и распад белка, трансминирование и дезаминирование аминокислот, специфический обмен некоторых аминокислот [2]. Печень рыб быстрее других реагирует на изменение внешней среды [7]. Деятельность же почек направлена, главным образом, на поддержание гомеостаза организма. При воздействии на организм химических веществ почки участвуют в выведении продуктов белкового обмена, токсических веществ и продуктов их биотрансформации из организма.

Основную массу белков мышц рыб составляют альбумины и глобулины (85%), всего же у разных рыб выделяют 4-7 фракций белков. Известна депонирующая роль красных мышц, не принимающих активного участия в мышечной работе, а снабжающих энергией белые мышцы [2, 3]. Показана роль белков сыворотки крови в процессе адаптации к действию повышенных

концентраций ионов тяжелых металлов [2, 7, 10]. Известно, что Pb активно влияет на синтез белка, энергетический баланс клетки и ее генетический аппарат. Многие факты говорят в пользу денатурационного механизма действия Pb, нарушая синтез порфиринов и гема, угнетая ряд ферментов, участвующих в обмене порфиринов. Влияние Cd проявляется в том, что он блокирует работу ряда важных для жизнедеятельности организма ферментов. Кроме того, он поражает печень, почки.

Наиболее значительные колебания содержания общего белка при действии обоих токсикантов отмечены в печени, почках и в крови сеголеток карпа. Причем действие Cd более выражено в печени и в крови, тогда как Pb – в почках. В печени действие ионов Pb и Cd носит прямо противоположный характер: ионы Pb вызывают повышение содержания общего белка и альбуминов, а ионы Cd – понижение. В остальных тканях оба токсиканта, в основном, оказывают сходное действие.

Увеличение содержания водорастворимых белков в печени сеголеток карпа, подвергшихся воздействию ацетата свинца, вероятнее всего, связано с тем, что при попадании металлов в клетку индуцируется синтез металлотионеинов – белков, связывающих ионы свинца, тем самым уменьшая его токсичность [9]. Кроме того, в качестве одной из причин подобных изменений в тканях сеголеток карпа при действии ацетата свинца можно рассматривать стресс, при котором реализуется эффект высоких концентраций катехоламинов и глюкокортикоидов [10]. Полученные данные о снижении альбуминовой фракции в крови сеголеток карпа при интоксикации ацетатом свинца являются показателем функционального состояния печени, где осуществляется синтез альбуминов. Однако, учитывая, что в печени уровень альбуминов повышается, следовало бы ожидать их увеличения и в крови. Очевидно, уровень альбумина может снижаться по причине уменьшения использования белка для пластических процессов [2]. Кроме того, снижение содержания альбуминов в крови на фоне возрастания их синтеза в печени можно объяснить связыванием ими ионов Pb, поскольку известно, что Pb циркулирует в крови в виде коллоидов альбумината. Повышение концентрации глобулинов в крови может быть следствием понижения скорости их распада.

По нашим данным, в большинстве тканей Cd вызывает снижение общего количества протеинов, тогда как, на белковый состав крови Cd оказывает противоположный эффект. Однако, учитывая то, что Cd способен преимущественно накапливаться в печени и почках гидробионтов [1] и индуцировать синтез металлотионеинов, следовало бы ожидать повышения содержания общего белка. Очевидно, в ответ на воздействие Cd в тканях рыб не вырабатываются связывающие их компоненты белковой природы, что указывает на снижение адаптивных возможностей рыб в условиях интоксикации ионами Cd. Cd, видимо, соединяясь с металлотионеином (являющимся, таким образом, естественной защитой организма),

способствует снижению общего количества белка в тканях [2, 5]. Снижение содержания альбуминов в крови сеголеток карпа на 30-й день содержания их в среде с хлоридом кадмия происходит на фоне уменьшения их синтеза в печени на протяжении всего периода эксперимента и, следовательно, может служить показателем функционального состояния печени в условиях интоксикации ионами кадмия. Повышение содержания глобулинов можно рассматривать как защитную реакцию организма при воздействии ионов Cd, поскольку известно, что глобулины являются белками, участвующими в иммунных реакциях организма. Кроме того, альфа₂-глобулины связывают ионы Cd, в таком виде они менее токсичны, хотя далеко не безвредны [4]. Очевидно, при воздействии хлорида кадмия повышение содержания глобулинов происходит за счет активации синтеза альфа₂-глобулинов.

Указанные различия в содержании белков в печеночной, почечной, мышечной тканях и в крови в зависимости от длительности интоксикации ацетатом свинца и хлоридом кадмия, вероятно, связаны с функциональными особенностями этих органов, неодинаковой интенсивностью биохимических процессов в них и с активностью различных структур, необходимых для реализации защитных свойств организма к действию токсикантов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Амосова, А.А. Оценка токсического воздействия соединений кадмия на водные организмы // IX Съезд Гидробиологического общества РАН. Т.1, Тольятти, 18-22 сентября, 2006. – С. 16.
2. Ерохина, И.А. К вопросу об изменчивости белкового состава плазмы крови морских млекопитающих // Мат-лы II Междунар. научн. конф. «Актуальные проблемы экологической физиологии, биохимии и генетики». Саранск: Типография ООО «Мордовия-ЭКСПО», 2009. – С. 46-49.
3. Иванов, А.А. Физиология рыб. – М.: Мир, 2003. – 284 с.
4. Иванова, В.П. К вопросу о механизме токсического действия кадмия на живые организмы // Материалы II Междунар. науч. конф. «Актуальные проблемы экологической физиологии, биохимии и генетики животных». Саранск, 2009. – С. 58-60.
5. Лакин, Г.Ф. Биометрия. – М.: Высшая школа, 1990. – 352 с.
6. Матисов, А.Д. Накопление кадмия в органах и тканях // Сб. научн. трудов «Актуальные проблемы биологии, медицины и экологии», 2004. Вып. 1.
7. Моисеев, Т.И. Морфофизиологические перестройки организма под влиянием загрязнения (в свете теории С. С. Шварца) // Экология. – 2000. - № 6. – С. 463-472.
8. Пушкина, В.С. Биохимические методы исследования. – М.: Наука, 1963. – 250 с.
9. Роева, Н.Н. Металлотионеины – белки, связывающие тяжелые металлы у рыб / Н.Н. Роева, А.В. Сидоров, Ю.Г. Юровицкий // Известия АН. Серия биологическая. – 1999. - №6. – С. 748-755.
10. Синюк, Ю.В. Обмен аминокислот и фракционный состав белков в организме карпа под действием ионов марганца, цинка, меди и свинца // Автореф. Дисс...канд. биол. наук. Л., 2003. – 16 с.
11. Lowry, O.R. Protein measurement with folin phenol reagent / O.R. Lowry, N.P. Rosebrough, A.N. Farr, R.K. Randall // J. Biol. Chem. – 1951. – V. 193, №1. – P. 265-275.

INFLUENCE OF CHRONIC INTOXICATION BY LEAD AND CADMIUM IONS ON CONTENTS OF TOTAL PROTEIN AND ITS FRACTIONS IN TISSUES OF THIS YEAR BROAD CARPS (CYPRINUS CARPIO L.)

© 2009 M.M. Gabibov, A.I. Rabadanova, I.K. Kurbanov, N.M. Abdullaeva, U.Z. Suleymanova, G.S. Alieva
Dagestan State University
Article is received 2009/10/08

Chronic action of lead and cadmium ions causes discordant changes in the quantitative maintenance of total protein and albuminous fractions in blood serum, liver, kidneys, white and red muscles in this year broad carps

Key words: *proteins, this year broad carps, albumines, globulines, lead, cadmium*

Magomed Gabibov, Doctor of Biology, Professor at the Anatomy, Physiology, Histology Department. E-mail: magomedovol@mail.ru

Amina Rabadanova, Candidate of Biology, Senior Laboratorian at the Anatomy, Physiology, Histology Department. E-mail: ashty06@mail.ru

Izabela Kurbanova, Candidate of Biology, Associate Professor at the Anatomy, Physiology, Histology Department.

Naida Abdullaeva, Candidate of Biology, Senior Lecturer at the Anatomy, Physiology, Histology Department. E-mail: phiziolog1@mail.ru

Uma Suleymanova, Graduate Student
Gulmira Adieva, Graduate Student