

ВЛИЯНИЕ НЕФТИ, БУРОВОГО РАСТВОРА И ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА КИСЛУЮ ПЕПТИД-ГИДРОЛАЗНУЮ АКТИВНОСТЬ СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦ РЫБ

© 2009 С.И. Исмаилова, И.К. Курбанова, А.Р. Исуев, Д.Н. Магомедгаджиева
Дагестанский государственный университет

Исследовали влияние загрязнения водной среды сырой нефтью, буровым раствором, тяжелыми металлами на кислую пептид-гидролазную активность скелетных мышц молоди кутума и бычка-кругляка, сеголеток карпа и двухлеток воблы в модельном эксперименте. Параметры белкового обмена являются достаточно информативными показателями изменений функционального состояния организма при антропогенном воздействии. Показаны изменения в протеолитической активности скелетных мышц рыб. Отмечено повышение активности кислой пептид-гидролазы в гомогенатах скелетных мышц при хроническом воздействии поллютантов. Мы рассматриваем эти изменения как адаптивные реакции организма рыб на присутствие токсикантов в водной среде.

Ключевые слова: тяжелые металлы, скелетные мышцы рыб, эколого-биологический мониторинг

Нефть, нефтепродукты и тяжелые металлы на современном этапе являются одними из основных загрязнителей природных водоемов. Для анализа состояния водных экосистем при возрастающем антропогенном прессе приоритетом считается осуществление эколого-биохимического мониторинга. Протеиназы участвуют на первом, ключевом этапе мобилизации белковых резервов клетки, в биогенезе многих ферментов, ограниченном протеолизе, синтезе гормонов и других пептидов, во внекросомальных реакциях детоксикации поллютантов, фагоцитозе, апоптозе [4, 6]. Контролируя концентрацию основных биорегуляторов, они по существу определяют весь характер метаболизма.

Целью настоящей работы явилось изучение влияния загрязнения водной среды нефтью, буровым раствором и тяжелыми металлами на активность кислой пептид-гидролазы скелетных мышц рыб.

Материал и методика. Объектами хронических модельных опытов служили

молодь кутума (*Rutilus frisii kutum*) и каспийского бычка-кругляка (*Neogobius melanostomus affinis*), сеголетки карпа (*Cyprinus carpio*) и двухлетки воблы (*Rutilus rutilus caspicus*). Рыб содержали в аквариальных условиях, кормили живым трубочником *Tubirex tubirex*. В качестве токсикантов использовали сырую нефть (0,5 и 1,0 мг/л), буровой раствор (0,5 г/л), хлорид кадмия (0,25 мг/л) и ацетат свинца (0,5 мг/л). Растворы в аквариумах обновлялись через каждые трое – пять суток для поддержания необходимой концентрации. Контрольные рыбы содержались в чистой воде. Кислую пептид-гидролазную активность определяли в 1% водных гомогенатах белой мышечной ткани модифицированным методом Ансона по гидролизу 2% р-ра гемоглобина в 0,2 М буфере по Лурье (рН 3,8) и выражали в мкг тирозина на 1 мг белка ферментного препарата за 60 мин инкубации [1]. Пробы инкубировали при температуре тела рыб 20-23⁰С. Общий белок определяли фотоколориметрически по Лоури [7]. Данные статистически обработаны методом малой выборки [2].

Результаты и обсуждение. Показано увеличение кислой пептид-гидролазной активности скелетных мышц рыб при продолжительном воздействии испытанных токсикантов и межвидовые различия в реагировании системы внутриклеточного протеолиза рыб. Динамика кислой пептид-гидролазной активности мышечной ткани кутума при воздействии нефти носит фазовый характер, с тенденцией к повышению активности на

*Исмаилова Сабият Исмаиловна, аспирантка
Курбанова Изабела Курбанмагомедовна, кандидат биологических наук, доцент кафедры анатомии, физиологии и гистологии. E-mail: gulka-2005@yandex.ru*

Исуев Али Раджабович, доктор биологических наук, профессор кафедры ихтиологии. E-mail: ihtilog@mail.dgu.ru

Магомедгаджиева Джамилат Набижулаевна, кандидат биологических наук, доцент кафедры анатомии, физиологии и гистологии

10-е сутки опыта (на 38,7 и 46,5% при концентрациях нефти 0,5 и 1,0 мг/л соответственно), с затухающей амплитудой на 20-е сутки. При пролонгированной интоксикации активность фермента увеличивается и к 70-м суткам превышает контрольные значения на 12,8 и 31,6% при концентрациях нефти в среде 0,5 и 1,0 мг/л. При влиянии бурового

раствора (0,5 г/л) на бычка кругляка наблюдается повышение активности кислой пептид-гидролазы в гомогенатах белой мышечной ткани на 40,1; 38,5; 67,8% по сравнению с контролем, соответственно на 10, 20 и 30-е сутки пребывания рыб в среде с загрязнителем (рис. 1).

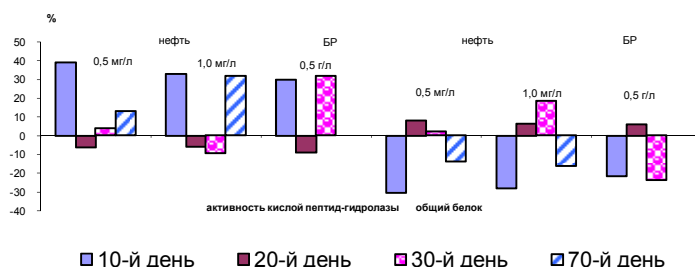


Рис.1. Динамика кислой пептид-гидролазной активности и общего белка (в % по отношению к контролю) в мышечной ткани рыб при воздействии нефти (кутум) и бурового раствора (бычок-кругляк)

При хроническом воздействии тяжелых металлов для карпа и воблы характерна достоверная активация кислой протеиназы в течение всего опыта, что более выражено в условиях кадмиевой интоксикации, чем свинцовой. На начальных этапах (5, 15-е сутки) у рыб из аквариумов с ионами Cd^{2+} наблюдается увеличение кислой пептид-

гидролазной активности в 2-3 раза по сравнению с контролем (на 169,2; 143,0% - у карпа и 216,7; 100,3% - у воблы). Под влиянием ионов Pb^{2+} активность кислой протеиназы у рыб превышает таковую в контроле на 39,0; 92,3% - у сеголеток карпа и на 159,7; 172,2% - у двухлеток воблы, соответственно к 5, 15-м суткам экспозиции (рис. 2).

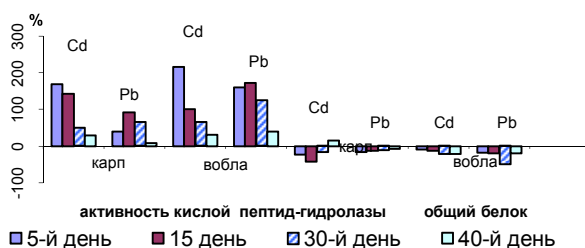


Рис. 2. Динамика кислой пептид-гидролазной активности и общего белка (в % по отношению к контролю) в мышечной ткани карпа и воблы при воздействии ионов кадмия и свинца

К 30, 40-м суткам под влиянием ионами Cd^{2+} и Pb^{2+} активность фермента снижаться почти в 2 раза, по сравнению с началом эксперимента, хотя ее значения остаются выше контрольных. Это может быть связано с ингибирующим действием тяжелых металлов (например, путем блокирования

активных ферментных группировок (SH- и NH₂-)) и снижением адаптивных возможностей организма рыб [9]. Загрязнение водной среды ионами Cd^{2+} , Pb^{2+} и буровым раствором приводит к снижению содержания общего белка в скелетных мышцах рыб (не более чем на 23%), только на 20-е сутки под

влиянием бурового раствора отмечено незначительное увеличение общего белка (на 6%). При хроническом воздействии нефти у кутума выявлены фазовые изменения общего белка: его снижение на 10-е сутки опыта (до 30%) сменяется увеличением на 20-е сутки (в среднем на 7%) относительно контроля и вновь уменьшением на 70-е сутки (на 14,0 и 16,3% при концентрациях 0,5 и 1,0 мг/л) (рис. 1, 2). Повышение белка может быть вызвано усилением синтеза стрессовых белков, накоплением стабильных метаболитов окислительной модификации аминокислот, индукцией высокомолекулярных белков [5, 8].

Выводы: обнаруженные нами изменения кислой пептид-гидролазной активности, возникшие по причине окислительного стресса, отражают взаимодействие двух процессов – поражения и компенсаторно-адаптивного ответа биологической системы. Наблюдаемые адаптивные перестройки белкового обмена в условиях загрязнения водной среды свидетельствуют о высокой лабильности тканевых белков, что согласуется с литературой [3, 4, 9]. Считаем возможным использование данного биохимического теста в комплексном биомониторинге водоемов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. *Алексеевко, Л.П.* Определение активности протеиназ по расщеплению белковых субстратов // В кн.: Современные методы в биохимии. Т.2. – М.: Медицина, 1968. – С. 112-137.
2. *Лакин, Г.Ф.* Биометрия. – М.: Высшая школа, 1990. – 352 с.
3. *Немова, Н.Н.* Внутриклеточные протеолитические ферменты у рыб // Петрозаводск: КНЦ, 1996. – 103 с.
4. *Немова, Н.Н.* Биохимическая индикация токсических воздействий на рыб / Н.Н. Немова, Р.У. Высоцкая, В.С. Сидоров // Актуальные проблемы водной токсикологии. – Борок, 2004. – С. 81-97.
5. *Роева, Н.Н.* Металлотионеины – белки, связывающие тяжелые металлы у рыб / Н.Н. Роева, А.В. Сидоров, Ю.Г. Юровицкий // Известия РАН, сер. биол. – 1999. - №6. – С. 748-755.
6. *Bohley, P.* Intracellular proteolysis // Hydrolytic enzymes. Biomedical division. – 1987. – P. 307-332.
7. *Lowry, D.H.* Protein measurement with the Folin-phenol reagent / D.H. Lowry, H.J. Rosebrough, A.L. Farr, R.J. Randall // J. Biol. Chem. – 1951. – V. 193. – P. 265-275.
8. *Porte, C.* The integrated use of chemical analysis, cytochrome P450 and stress proteins in mussels to assess pollution along the Galician coast (NW Spain) / C. Porte, X. Biosca, M. Sole, J. Albaiges // Environ. Pollut. – 2001. – Vol. 112. – P. 261- 268.
9. *Yamashita, M.* A novel cysteine protease inhibitor of the egg of chum salmon, containing a cysteine-rich thyroglobulin-like motif / M. Yamashita, S. Konagaya // J. Biol. Chem. – 1996. – V. 271, №3. – P. 1282-1284.

INFLUENCE OF OIL, DRILL FLUID AND HEAVY METALS ON ACID PEPTID-HYDROLASE ACTIVITY OF FISH SKELETAL MUSCLES

© 2009 S.I. Ismailova, I.K. Kurbanova, A.R. Isuev, D.N. Magomedgadzhieva
Dagestan State University

Researched pollution effect of an aquatic environment by crude oil, a drill fluid, heavy metals on acid peptid-hydrolase activity of skeletal muscles in yearling *Rutilus frisii kutum*, *Neogobius melanostomus affinus*, *Cyprinus carpio* and *Rutilus rutilus caspicus* in modelling experiment. Parameters of protein metabolism are informative enough parameters of changes in functional condition of an organism at anthropogenic impact. Changes in proteolytic activity of skeletal muscles of fishes are shown. Increase of acid peptid-hydrolase activity in skeletal muscles homogenates is noted at chronic pollutant influence. We consider these changes as adaptive organism responses of fishes to toxicants presence in an aquatic environment.

Key words: heavy metals, skeletal muscles of fishes, ecologic-biological monitoring

Sabiyat Ismailova, Graduate Student
Izabela Kurbanova, Candidate of Biology, Associate Professor, Anatomy, Physiology and Hystology Department. E-mail: gulka-2005@yandex.ru
Ali Isuev, Doctor of Biology, Professor, Ichthyology Department. E-mail: ihtilog@mail.dgu.ru
Djamilat Magomedgadzhieva, Candidate of Biology, Associate Professor, Anatomy, Physiology and Hystology Department