УДК:577.1:597

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ХРОНИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ИОНОВ КАДМИЯ И СВИНЦА НА ДИНИМИКУ АКТИВНОСТИ СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗЫ В ТКАНЯХ СЕГОЛЕТОК КАРПА

© 2015 Г.Р. Мурадова, В.Р. Абдуллаев, С.А. Чалаева, С.И. Курбанова

Дагестанский государственный университет, г. Махачкала

Поступила в редакцию 21.05.2015

Статья посвящена исследованию влияния хлорида кадмия (1,0 мг/л) и ацетата свинца (0,5 мг мг/л) на активность супероксиддисмутазы во внутренних органах сеголеток карпа. Результаты исследований свидетельствуют о наличии тканеспецифичности в изменении супероксиддисмутазной активности в результате развития стрессовой реакции у рыб под влияние ионов кадмия и свинца. Изученный нами показатель может использоваться в качестве биохимического маркера для быстрой оценки действия ионов тяжелых металлов на состояние гидробионтов и среду их обитания.

Ключевые слова: супероксиддисмутаза, карп, кадмий, свинец

Антропогенная химическая трансформация биосферы, выражающаяся в преобразовании вещества поверхностных оболочек планеты в результате производственной деятельности человека, приобретает глобальный характер [6, 10]. В последние годы тяжелые металлы (ТМ) занимают ведущее место среди веществ, загрязняющих гидросферу. ТМ в водных экосистемах не подвержены радиоактивному распаду как радионуклиды, не разлагаются и не разрушаются как токсические органические вещества. Они не исчезают из водных экосистем, а постоянно перераспределяются по отдельным компонентам, накапливаются в гидробионтах [11]. Загрязнение водоемов ТМ, нефтью и нефтепродуктами, пестицидами, бытовыми отходами - один из самых распространенных видов техногенного прессинга [10]. В результате этого массы промышленных вод, содержащих различные токсиканты, не проходя должной очистки или в результате аварий, попадают в естественные водоемы и распространяются на большие расстояния [8].

Степень токсичности ТМ для человека, животных и растений неодинакова и колеблется в широких пределах. Рыбы являются основными обитателями водоема и конечным звеном в трофических связях водных экосистем. Они способны концентрировать многие токсические вещества, представляя серьезную угрозу здоровью

Мурадова Гульзия Руслановна, кандидат биологических наук, доцент кафедры анатомии, физиологии, гистологии. E-mail: gulka-2005@yandex.ru

Абдуллаев Вагаб Рафикович, кандидат биологических наук, доцент кафедры анатомии, физиологии, гистологии. E-mail: vagab@mail.ru

Чалаева Салимат Алиловна, кандидат биологических наук, доцент кафедры ихтиологии. E-mail: tchalaeva@mail.ru

Курбанова Сабият Исмаиловна, кандидат биологических наук, старший преподаватель кафедры ихтиологии. E-mail: sabyat2011@yandex.ru

человека, т.к. является основным морепродуктом. Рыба подвергается воздействию поллютантов через пищеварительную и дыхательную системы, а также через кожные покровы. Интегральная оценка здоровья рыб может служить обобщенным показателем состояния всей водной экосистемы [6].

Результаты химического анализа состояния загрязненности водоема не дают полного представления о ее качестве для гидробионтов, поскольку воздействие загрязняющих веществ на организмы зависит от многих других условий, а сами вещества в природной среде представлены в широком спектре, охватить который аналитическими методами практически невозможно [9]. Поэтому для оценки загрязненности и качества вод в последние годы, наряду с химико-аналитическими методами, широко применяются токсикологические, в том числе биотестирование. Необходимо проводить исследования на различных уровнях организации живых систем. Нарушения, обнаруживаемые на молекулярном, клеточном и тканевом уровнях, могут служить ярким показателем глубоких последствий для данного вида организмов задолго до того, как наступают необратимые изменения в численности, продуктивности и ареале вида.

Известно, что в реакции живого организма на токсическое воздействие ТМ важное место занимает усиление процессов свободнорадикального окисления липидов и нарушение функций антиокислительных систем (АОС) [3, 14]. Параметры антиоксидантной системы могут служить удобными биомаркерами для оценки антропогенного воздействия на организм рыб и среду их обитания, а также для проведения эффективных природоохранных мероприятий в рыбохозяйственных водоемах.

Цель работы: изучение динамики супероксиддисмутазной (СОД) активности в тканях сеголеток карпа в условиях хронической интоксикации, вызванного ионами кадмия и свинца.

Материалы и методы исследования. Работа выполнена на базе лаборатории анатомии, физиологии, гистологии Дагестанского государственного университета. Материалом исследования послужили сеголетки карпа (Cyprinus carpio L.), выращенные в прудах Широкольского рыбокомбината Тарумовского района Республики Дагестан, которые содержались по 20-30 штук в аквариумах объемом 250-300 литров с содержанием хлорида кадмия (1,0 мг/л; ПДК – 0,005 мг/л) и ацетата свинца (0,5 мг/л; ПДК - 0,1 мг/л) [2]. Биохимические анализы по определению СОД активности [4] в тканях сеголеток карпа проводились на 5, 15, 30 и 40 сутки эксперимента. Контролем во всех опытах служили рыбы, выдерживаемые в чистой воде. В аквариумах создавались условия постоянного газового и температурного (19-23°C) режима. Полученные результаты подвержены вариационностатисти-ческой обработке [5].

Результаты исследований и их обсуждение. Результаты проведенных исследований показали, что на начальном этапе (5 сутки) экспозиции рыб в водной среде с ионами кадмия происходит повышение СОД активности во всех органах, причем наибольший рост ее активности отмечается в печени (на ~ 98%) и головном мозге (в 2,2 раза), за исключением белой и красной мускулатуры, в которых ее активность снижается в 2,7 и 5,5 раза, соответственно, по сравнению с контролем (табл. 1, рис. 1). Сходная динамика в активности СОД выявлена у рыб на начальном этапе интоксикации в водной среде с ионами свинца: активность фермента растет в печени и головном мозге (в 4,2

и 4,9 раза), тогда как в белых и красных мышцах, наоборот, падает (в 3,0 и 3,2 раза соответственно) по отношению к контролю. На данном этапе активность СОД в почках рыб под воздействием ионов кадмия и свинца повышается на 18,8% и 17,5% соответственно по сравнению с контролем (табл. 2, рис. 2).

Изучение молекулярных механизмов активности СОД показывает, что фермент в присутствии избыточных количеств перекиси водорода может образовать гидроксил-радикалы, которые ингибируют белковую молекулу фермента путем фрагментации и потери ее активности [1]. Для поддержания достаточно высокого уровня активности СОД необходимо наличие низкомолекулярных антиоксидантов, способных гасить гидроксилрадикалы. Повышение СОД активности печени, почек и головного мозга, вероятно, является результатом оксидативного стресса, вызванного ионами TM на начальных этапах интоксикации. A.A. Болдырев (2003) считает, что СОД находится у начальных звеньев инициации перекисных процессов, образования активных форм кислорода и является наиболее важным уровнем клеточной зашиты.

Вышеизложенное позволяет заключить, что в ответ на оксидативный стресс, вызванный ионами Cd^{2+} и Pb^{2+} , нервные и гуморальные механизмы регуляции мобилизуют ферментные и неферментные процессы защиты клеток и тканей печени, почек и головного мозга от разрушительных процессов на уровне биологических мембран.

Таблица 1. Динамика СОД активности во внутренних органах сеголеток карпа
под воздействием хлорида кадмия

Пока-	Ткань	Контроль	Дни экспозиции					
зате-			5	15	30	40		
ЛИ								
СОД,	печень	13,83±0,9	27,46±1,4	4,80±0,4	2,27±0,3	8,06±0,9		
усл.			P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,01		
ед/мг	почки	8,79±0,5	10,44±0,9	1,45±0,01	0,39±0,2	2,69±0,8		
белка			P<0,1	P<0,01	P<0,01	P<0,01		
	головной	20,46±1,2	45,42±1,5	86,43 ±0,8	105,46±1,4	152,59±4,9		
	мозг		P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001		
	белая	31,88±1,3	12,01±0,1	26,89±0,5	78,67±7,01	115,92±4,5		
	мышца		P<0,001	P<0,1	P<0,01	P<0,01		
	красная	60,82±3,9	11,03±0,04	42,29±6,3	87,87±6,8	213,96±2,8		
	мышца		P<0,001	P<0,02	P<0,01	P<0,01		

Примечание: Р – степень достоверности результата по отношению к контролю

Продление пребывания карповых рыб в водной среде с ионами кадмия до 15 дней приводит к понижению активности СОД в печени, почках, белой и красной мускулатуре на 65,3; 83,5; 15,9 и 30,5% соответственно, тогда как активность фермента в головном мозге повышается в 4,2 раза по сравнению с контролем (табл. 1; рис. 1). При экспозиции рыб в водной среде с ионами свинца

наблюдается резкое возрастание СОМ активности в головном мозге в 6,5 раза, в печени на 25,7% при понижении активности данного фермента в почках в 2,5 раза и в красных мышцах на 16,6% по сравнению с контролем (табл. 2, рис.2). Можно предположить, что обнаруженные нами изменения активности СОД в печени, почках и обоих типах мышц сеголеток карпа на 15 сутки экспозиции

в водной среде с ионами тяжелых металлов могут быть связаны с развитием оксидативного стресса и накоплением в тканях различных активных форм кислорода, развитием процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и истощением антиокислительной системы [12, 13].

Таблица 2. Динамика СОД активности во внутренних органах сеголеток карпа под воздействием ацетатом свинца

Показа-	Ткань	Контроль	Дни экспозиции				
тели			5	15	30	40	
СОД,	печень	13,83±0,9	58,69±4,7	17,34±0,9	8,33±0,3	6,31±0,7	
усл.			P<0,001	P<0,01	P<0,02	P<0,001	
ед/мг	почки	8,79±0,5	10,33±0,9	3,45±0,01	1,49±0,2	0,31±0,02	
белка			P>0,2	P<0,01	P<0,01	P<0,01	
	головной	20,46±1,2	101,99±0,5	133,44 ±1,2	50,54±8,8	57,01±3,8	
	мозг		P<0,01	P<0,01	P<0,001	P<0,01	
	белая	31,88±1,3	10,90±0,1	33,62±6,6	17,73±0,8	38,90±4,9	
	мышца		P<0,001	P>0,05	P<0,001	P<0,02	
	красная	60,82±3,9	18,79±0,1	50,71±3,1	66,16±0,8	50,52±2,9	
	мышца		P<0,001	P<0,05	P>0,05	P<0,05	

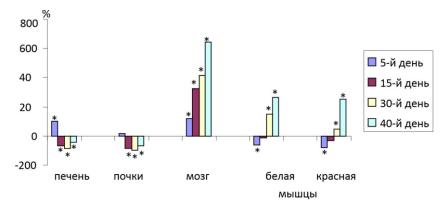


Рис. 1. Динамика изменения активности СОДы (в % по отношению к контролю) в тканях сеголеток карпа при хроническом воздействии хлоридом кадмия

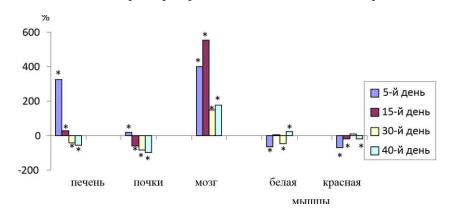


Рис.2. Динамика изменения активности СОД (в % по отношению к контролю) в тканях сеголеток карпа при хроническом воздействии ацетата свинца

На 30 сутки пребывания сеголеток карпа в водной среде с ионами кадмия происходит понижение активности СОД в печени и почках до самых низких величин (на 83,6% и 95,6%) на фоне роста активности фермента в головном мозге (в 5,2 раза), в белых мышцах (в 2,5 раза) и красных – на 44,5 % по сравнению с контролем (табл. 1, рис. 1). При экспозиции рыб в водной среде с ацетатом свинца активность СОД ингибируется во всех изученных нами тканях за исключением головного

мозга, в котором ее активность возрастает в 2,4 раза по сравнению с контролем (табл. 2, рис. 2).

Результаты исследований показали, что при длительной интоксикации сеголеток карпа в водной среде с ионами кадмия в течение 30 дней происходит нарушение равновесия между образованием перекисных радикалов в биологической мембране и их утилизацией, свойственной нормальным метаболизирующим клеткам. При этом рост перекисных процессов не компенсирован

активацией антиокислительной системы. Можно предположить, что обнаруженные нами различия в динамике СОД активности в белых и красных мышцах рыб в условиях хронической интоксикации ионами кадмия связаны с разной интенсивностью процессов пероксидации липидов, с одной стороны, и с их неодинаковой метаболической активностью, с другой. В связи с этим фазные изменения активности СОД в скелетной мускулатуре рыб как металлофермента могут иметь разные причины и, в первую очередь, связаны, вероятно, с оксидативным стрессом, вызванным ионами ТМ и интенсификацией процессов ПОЛ. Снижение активности СОД в печени и почках сеголеток карпа может частично компенсироваться возрастанием общей антиоксидантной активности тканей.

Известно, что головной мозг отличается самым высоким потреблением кислорода на единицу веса из всех органов и нарушение кислородного режима в метаболизме мозга может привести к ацидозу ткани, что в свою очередь инициирует более выраженное повреждающее действие малонового диальдегида и других оксидантов. В головном мозге рыб содержится небольшое количество каталазы и сравнительно мало глутатионзависимых ферментов, а содержание таких низкомолекулярных антиоксидантов, как витамин Е - ниже, чем в печени и мышцах. Важную роль в антиоксидантной защите головного мозга рыб принадлежит СОД, что, вероятно, и объясняет резкое повышение ее активности в головном мозге на всех сроках интоксикации рыб в водной среде с ионами ТМ (табл. 2, рис. 2).

В течение хронического эксперимента отмечалось падение веса, общей двигательной активности рыб, а при вскрытии визуально обнаружены различные морфологические нарушения во внутренних органах, в частности, печень сократилась в размерах и была покрыта некротическими пятнами. Особенно сильно патология интоксикацией ионами кадмия и свинца отражалась на почках рыб (уменьшение размеров, некроз), основная функция которых заключается в выделении продуктов жизнедеятельности рыб и ксенобиотиков в том числе. При отравлении в почках рыб происходят значимые изменения на биохимическом уровне [7], которые, очевидно, свидетельствуют об исчерпании адаптационных возможностей и развитии патологических изменений в организме рыб при хроническом воздействии солями ТМ. Пролонгирование воздействия сеголеток карпа ионами кадмия до 40 дней приводит к понижению активности СОД в печени и почек на 41,7 и 69,4% соответственно и повышению активности данного фермента в головном мозге и обоих типах мышц по сравнению с контролем (табл. 1, рис. 1).

При экспозиции карпа в водной среде с ионами свинца активность СОД понижается в печени, почках и красной мускулатуре на 54,4%; 96,5% и 16,9% соответственно, тогда как в головном мозге, наоборот, повышается в 2,8 раза и белых мышцах – на 21,9% по сравнению с контролем (табл. 2,

рис. 2).

Под влиянием ионов кадмия в скелетной мускулатуре рыб наблюдаются фазные измене-ния активности СОД: понижение активности на 5 и 15 сутки и повышение на 30 и 40 сутки, что может свидетельствовать о мобилизации низкомолекулярных антиоксидантов, понижающих количество перекисных радикалов, которые способны атаковать белковую молекулу фермента и ингибировать его активность. Можно предположить также, что наблюдаемые нами изменения активности фермента на начальных этапах интоксикации могут иметь адаптивное значение, однако, дальнейшее пролонгирование интоксикации рыб ионами кадмия сопровождается нарушением баланса между продукцией перекисных радикалов и их нейтрализацией. Таким образом, именно свинец и кадмий стимулируют процессы генерации свободных радикалов и одновременно снижают возможность их нейтрализации антиоксидантной системой. Таким образом, эти изменения в системе антиоксидантной защиты тканей на начальных этапах имеют адаптивный характер, но при продлении интоксикации рыб более 15 и 30 дней наблюдается дискоординация процессов окисления и антиоксидантной защиты, происходит накопление в клетках активных форм кислорода, которые запускают патологические процессы в организме рыб, приводящие к деструкции мембран, некрозу ткани и их гибели.

Можно заключить, что для поддержания достаточно высокого уровня активности СОД необходимо наличие низкомолекулярных антиоксидантов, способных гасить радикал ОН*. Видимо, в созданных нами экспериментальных условиях жизни сеголеток карпа возникает дефицит низкомолекулярных антиоксидантов, что вызывает понижение активности СОД в печени, почках и скелетной мускулатуре при кадмиевом и свинцовом отравлении. Полученные данные могут быть использованы для мониторинга рыбохозяйственных водоемов и оценке состояния здоровья гидробионтов, так как именно рыбы отличаются наибольшим накоплением ионов ТМ в своем организме и в качестве продуктов питания представляют потенциальную угрозу здоровью человека как заключительного звена трофических цепей.

Выводы:

- 1. На начальном этапе интоксикации в водной среде с ионами кадмия и свинца происходи повышение активности СОД в печени и почках сеголеток карпа, тогда как на 30 и 40 сутки ее активность, наоборот, понижается по сравнению с контролем.
- 2. В головном мозге карпа активность СОД на всех сроках экспозиции в водной среде с ионами кадмия и свинца сохраняет тенденцию к повышению по сравнению с контрольными величинами.
- 3. При действии ионов свинца выявлены разнонаправленные сдвиги активности СОД в скелетных мышцах, тогда как под влиянием ионов кадмия выявлены фазные сдвиги: снижение активности фермента (на 5 и 15 сутки) и возрастание при более

длительной интоксикации (30 и 40 дней) по сравнению с контролем.

Статья подготовлена при поддержке Министерства образования и науки $P\Phi$, соглашение N° 14.В37.21.0192.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

- 1. *Болдырев, А.А.* Роль активных форм кислорода в жизнедеятельности нейрона // Успехи физиологических наук. 2003. Т. 34, № 33. С. 21-34.
- 2. *Волошина, Г.В.* Экологическая оценка состояния поверхностных вод реки Понура // Экологический вестник Северного Кавказа. 2006. Т.2, № 1. С. 118-129
- Грубинко, В.В. Перекисное окисление липидов и антиоксидантная защита у рыб / В.В. Грубинко, Ю.В. Леус // Гидробиология. 2001. Т. 37, № 1. С. 64-78.
- 4. Дубинина, Е.Е. Активность и свойства СОД эритроцитов и плазмы крови человека в онтогенезе // Украинский биохимический журнал. 1988. Т. 66. С. 20-24.
- 5. *Лакин, В.* Биометрия. М.: Высшая школа, 1990. 300 с.
- Леонова, Г.А. Биогеохимическая индикация загрязнения водных экосистем тяжелыми металлами // Водные ресурсы (качество и охрана вод, экологические аспекты).2004.Т. 31, №2. С. 215-222.
- 7. *Моисеенко, Т.И.* Морфофизиологические перестройки организма под влиянием загрязнения (в

- свете теории Шварца С.С.) // Экология. 2000, №6. С. 463-472.
- 8. Неваленный, А.Н. Влияние ионов кадмия в среде на уровень активности ферментов, обеспечивающих процессы мембранного пищеварения у карпа / А.Н. Неваленный, Д.А. Бедняков // Экология. 2004. № 2.С. 152-155.
- 9. *Никаноров, А.М.* Мониторинг качества вод: оценка токсичности. СПб.: Гидрометеоиздат, 2000. 159 с.
- Орлов, Д.С. Экология и охрана биосферы при химическом загрязнении / Д.С. Орлов, Л.К. Садовникова, И.Н. Лозановская. М: Высшая школа, 2002. 334 с.
- Папина, Т.С. Транспорт и особенности распределения тяжелых металлов в речных экосистемах. – Новосибирск: Наука, 2001. Серия «Экология». Вып. 62. 58 с.
- Руднева, И.И. Действие полихлорированных бифенилов на антиоксидантную систему и перекисное окисление липидов в гонадах черноморской султанки Mullus barbatus ponticus / И.И. Руднева, Н.В. Жерко // Биология моря. 1999. Т. 25, № 3. С. 239-242.
- Руднева, И.И. Оценка последствий хронического антропогенного загрязнения Черного моря с помощью биомаркеров рыб // Тез. докл. IX съезда гидробиол. общ-ва РАН. Т.2. – Тольятти, 18-22 сент. 2006. С. 124.
- 14. *Шахматова, О.А.* Активность каталазы личинок рыб как показатель качества морской среды // Экология моря. 2001. Вып.51. С. 52-54.

COMPARATIVE STUDYING THE OF CHRONIC INFLUENCE OF CADMIUM AND LEAD IONS ON SUPEROXIDE DISMUTASE DYNAMICS ACTIVITY IN TISSUES OF CARP FINGERLINGS

© 2015 G.R. Muradova, V.R. Abdullayev, S.A. Chalaeva, S.I. Kurbanova

Dagestan State University, Makhachkala

The article investigates the effect of cadmium chloride $(1,0\ mg\ /\ l)$ and lead acetate $(0,5\ mg\ /\ l)$ on the activity of superoxide dismutase in the internal organs of carp fingerlings. The research results indicate the presens of tissue-specific in change superoxide dismutase activity as a result of development of stressful reaction at the fishes influence of ions of cadmium and lead. We studied indicators can be used as a biochemical marker for quick valuation of the effects of heavy metals on a condition of gidrobionts and their habitat.

Key words: superoxide dismutase, carp, cadmium, lead

Gulziya Muradova, Candidate of Biology, Associate Professor at the Department of Anatomy, Physiology, Histology. E-mail: gulka-2005@yandex.ru;

Vagab Abdullaev, Candidate of Biology, Associate Professor at the Department of Anatomy, Physiology, Histology. E-mail: vagab@mail.ru;

Salimat Chalaeva, Candidate of Biology, Associate Professor at the Ichthyology Department. E-mail: tchalaeva@mail.ru; Sabiyat Kurbanova, Candidate of Biology, Senior Lecturer at the Ichthyology Department. E-mail: sabyat2011@yandex.ru