

УДК: 574.522

ВОЗРАСТНАЯ И ТКАНЕВАЯ СПЕЦИФИКА ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ПРО- И АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМ КАРПОВЫХ РЫБ К ДЕЙСТВИЮ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ

© 2017 А.И. Рабаданова, М.М. Габибов, С.А. Чалаева, Г.Р. Амирова, А.Ю. Аюбова

Дагестанский государственный университет, Махачкала

Статья поступила в редакцию 28.05.2017

Исследованы возрастные и тканевые особенности состояния окислительно-антиоксидантной системы тканей карповых рыб при действии смеси тяжелых металлов (Cd^{2+} , Pb^{2+} , Mn^{2+}). Активность компонентов антиоксидантной защиты тканей обнаруживает возрастную зависимость. Наиболее интенсивный рост уровня МДА во всех тканях отмечен в возрасте одного года. Общая антиоксидантная активность печени и почек максимальна у трехлеток карпа, тогда как в остальных органах ее активность преобладает у годовиков. Активность каталазы у сеголеток наиболее выражена в головном мозге и печени, у годовиков – в почках, у трехлеток – в скелетных мышцах. В условиях действия смеси тяжелых металлов у сеголеток отмечена относительная сбалансированность процессов ПОЛ-АОЗ, тогда как у годовиков во всех органах по сравнению с сеголетками, накопление МДА не достаточно компенсировано механизмами антиоксидантной защиты. У трехлеток карпа отмечена большая устойчивость к токсическому стрессу скелетных мышц на фоне ухудшения состояния других органов.

Ключевые слова: *карп, тяжелые металлы, антиоксидантная система, возраст, каталаза*

Для нормального роста и развития организма необходим высокий уровень резистентности к неблагоприятным условиям среды. В этой связи необходимо отметить, что устойчивость животных к действию многих биологических, химических и физических факторов обусловлена возрастными и тканевыми особенностями организма. На протяжении своего развития рыбы испытывают влияние многокомпонентной изменяющейся внешней среды и на каждой стадии онтогенеза могут подвергаться экстремальным воздействиям, как естественным, так и искусственным [2, 5, 9]. Реакция на загрязнение токсичными для рыб веществами зависит от специфики, длительности действия токсиканта, а также возрастных особенностей вида и проявляется в последовательном вовлечении в адаптационный процесс необходимых для этого функциональных систем [4, 12, 16]. Важную роль в этом процессе играет состояние органов и тканей рыб. В условиях естественной среды развитие токсического процесса протекает одновременно с мобилизацией адаптивных реакций к действующему фактору, которые обладают более выраженным эффектом [6]. В основе функциональных изменений, происходящих в организме рыб под действием загрязнителей и реализации детоксикационной функции, лежат два базовых

процесса – баланс прооксидантов и антиоксидантов [3, 14, 18-20].

Цель работы: исследовать комплексное влияние тяжелых металлов на состояние про- и антиокислительных процессов в организме сеголеток, годовиков и трехлеток карпа.

Материалы и методы исследования. Объектом исследования нами выбран наиболее массовый и широко распространенный в Широкольском рыбноводном комбинате Республики Дагестан (Тарумовский район республики Дагестан) вид промысловой рыбы – карп (*Cyprinus carpio Linne*). Рыбы разного возраста (сеголетки в возрасте 6 месяцев, годовики и трехлетки) отлавливались перед их перемещения в зимовальные пруды и перевозились в специальных мешках с кислородом. Рыбы помещались в аквариумы объемом 250 л, в которых создавались условия постоянного температурного и газового режима. В течение одного месяца рыбы проходили адаптацию в условиях аквариума. В эксперименте использовались выжившие рыбы.

В качестве токсикантов была использована смесь солей тяжелых металлов (ТМ): ацетата свинца ($0,5 \text{ мг/дм}^3$; ПДК - $0,1 \text{ мг/дм}^3$); хлорида кадмия ($0,025 \text{ мг/дм}^3$; ПДК - $0,005 \text{ мг/дм}^3$) и сульфата марганца ($0,05 \text{ мг/дм}^3$; ПДК - $0,01 \text{ мг/дм}^3$). Контролем служили рыбы, содержащиеся в среде без добавления токсикантов. В гомогенатах тканей (головной мозг, печень, почки, белые и красные мышцы) и в крови рыб определяли содержание малонового диальдегида (МДА) [1], общую антиоксидантную активность (ОАА) [9] и каталазную активность (КА) [14]. На 5-е и 15-е сутки экспозиции рыб в водной среде с токсикантами в тканях карпа определяли содержание МДА, КА и ОАА, а также устойчивость эритроцитов к кислотному гемолизу. Полученные данные подвергали вариационно-статистической обработке методом малой выборки [12]. Корреляционный анализ проводили с помощью компьютерной про-

Рабаданова Амина Ибрагимовна, кандидат биологических наук, доцент кафедры зоологии и физиологии. E-mail: ashty06@mail.ru

Габибов Магомед Магомедович, доктор биологических наук, профессор кафедры зоологии и физиологии. E-mail: fiziolog1@yandex.ru

Чалаева Салимат Алиловна, кандидат биологических наук, доцент кафедры ихтиологии. E-mail: boodur09@mail.ru

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

Аюбова Аида Биргимовна, аспирантка

граммы «Statistica 5.0». Построение диаграмм осуществлено при помощи пакета Excel 7.0.

Результаты и их обсуждение. Исходя из полученных нами данных, на 5-е сутки интоксикации смесью ТМ можно выделить специфичность их действия на ткани в различные периоды онтогенеза. Во все возрастные периоды и во всех исследованных тканях отмечено повышение интенсивности ПОЛ, которая имеет, однако, различную степень выраженности. Причем у сеголеток отмечается относительная сбалансированность процессов ПОЛ-АОЗ, тогда как у годовиков, несмотря на снижение интенсивности ПОЛ во все органы по сравнению с сеголетками, нарушается баланс прооксидантов-антиоксидантов в пользу первых. У трехлеток карпа отмечена большая устойчивость к оксидативному стрессу скелетных мышц на фоне ухудшения состояния других органов.

Очевидно, у сеголеток карпа при небольшой длительности действия токсикантов антиоксидантная система гасит активность свободных радикалов, появляющихся при действии ксенобиотиков, а уро-

вень отклика соответствует повышенной активации защитных механизмов. В этих условиях роль печени в обеспечении организма энергией снижается, но возрастает роль скелетных мышц. При этом проявляются возрастные особенности, связанные с различной реактивностью тканей рыб. При более длительном действии токсикантов реакция рыб проявляется как стресс-реакция со всеми свойственными ей фазами.

На 15-е сутки действия солей ТМ нами отмечено понижение уровня МДА во всех органах сеголеток карпа (кроме печени) по сравнению с 5-ми сутками. Очевидно, снижение интенсивности ПОЛ в крови происходит за счет повышения каталазной активности, тогда как в других органах за счет включения других антиоксидантных ферментов. В пользу этого свидетельствует значительное повышение ОАА (особенно в почках, красных мышцах и головном мозге) на фоне менее значительного роста КА в этих органах. У годовиков карпа содержание МДА остается на высоком уровне в крови, головном мозге и белых мышцах.

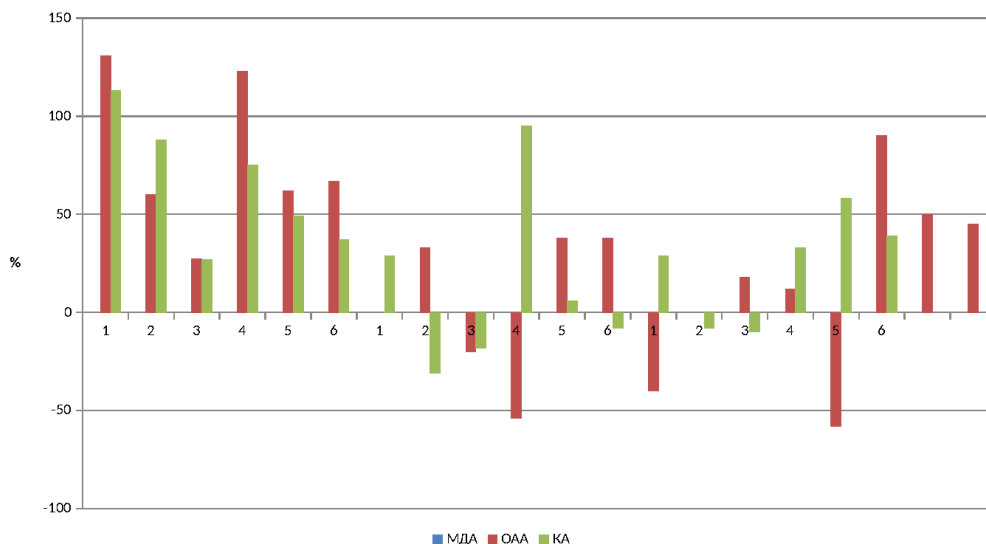


Рис. 1. Возрастная динамика показателей окислительно-антиоксидантной системы тканей карпа на 5-е сутки интоксикации смесью ТМ (1-кровь, 2 – головной мозг, 3- печень, 4 – почки, 5 – белые мышцы, 6 – красные мышцы)

Обращает на себя внимание значительное повышение ОАА в почках (на 106.5 %), тогда как активность каталазы в этих органах снижена. Истощение ОАА и нарушение баланса прооксиданты-антиоксиданты в пользу первых отмечено нами в крови всех возрастных групп карпа, а также в печени годовиков и трехлеток. Относительная сбалансированность процессов ПОЛ-АОЗ обнаружена в головном мозге вне зависимости от возраста, а также в печени и почках сеголеток.

Адаптивная реакция, направленная на снижение образования свободных радикалов и подавление их активности, наиболее выражена в скелетных мышцах всех возрастных групп карповых рыб, особенно на 15-е сутки интоксикации. В меньшей степени с этой ролью справляется печень карповых, в которой, как известно, накапливаются и метабо-

лизуются токсиканты [4, 6]. В целом изменения, выявленные в организме карповых рыб при загрязнении среды ТМ, соответствуют признакам гепатотоксической гипоксии [6]. Смесью ТМ в ходе онтогенеза не оказывает существенного влияния на интенсивность свободнорадикальных процессов в головном мозге карповых рыб. Наши данные, наряду с литературными, подтверждают, что наиболее уязвимыми по сравнению с липидами других тканей в процессе адаптации остаются липиды крови в связи с быстрым истощением пула альфа-токоферола плазмы [7, 8].

Отличия в реакциях ПОЛ отдельных органов могут быть обусловлены различными механизмами адаптации. Известно, что при действии стрессовых факторов в метаболически активных тканях усиливается образование ненасыщенных жирных кислот,

а в ткани печени на фоне снижения их уровня значительно меняется соотношение отдельных ненасыщенных жирных кислот. Показано, что в печени двухлеток карпа происходит синтез кетонных тел в качестве дополнительного источника для мозга при подготовке к зимовке. В октябре количество кетонных тел в мышцах, печени и мозге двухлеток карпа в среднем в 10-20 раз больше, чем у сеголеток в тех же органах [15, 9]. Различия в реакции разновозрастных рыб на 15-дневную интоксикацию в наших опытах объясняется, возможно, различными стратегиями компенсаторно-приспособительных реакций.

Выявленные функциональные изменения у карповых рыб представляют собой комплекс неспецифических реакций адаптации, степень вовлеченности в которые органов и тканей зависит от силы и длительности воздействия на рыб токсических веществ и представлены от стадий повышенной активации до стресс-реакции, которая может привести к метаболической депрессии. Ответная реакция организма на внешнее воздействие зависит как от его интенсивности, так и исходного состояния физио-

логических систем, а также реактивности самого объекта исследования [6-8, 14].

Можно предположить этапность процесса адаптации: на первом этапе происходит разрушение внутри- и межсистемных связей, на втором – формирование новых корреляционных взаимодействий. Таким образом, закрепление адаптации появляется в межсистемной координации функций, поэтому формирование новых корреляционных взаимосвязей между процессами свободнорадикального окисления и антиоксидантной защиты, реализующихся в ответ на действие токсикантов – ключевой момент изменений, произошедших в организме рыб [7, 8, 17]. В клетках и органах (на структурно-функциональном уровне) возникает ответная реакция в виде «аварийной» стадии. Увеличенная нагрузка на орган приводит к мобилизации энергетических и структурных ресурсов организма, их перераспределение в сторону обеспечения систем, ответственных за адаптацию к данному фактору. В результате организм приобретает дополнительные способности, которые позволяют ему извлекать максимальную пользу из окружающей среды.

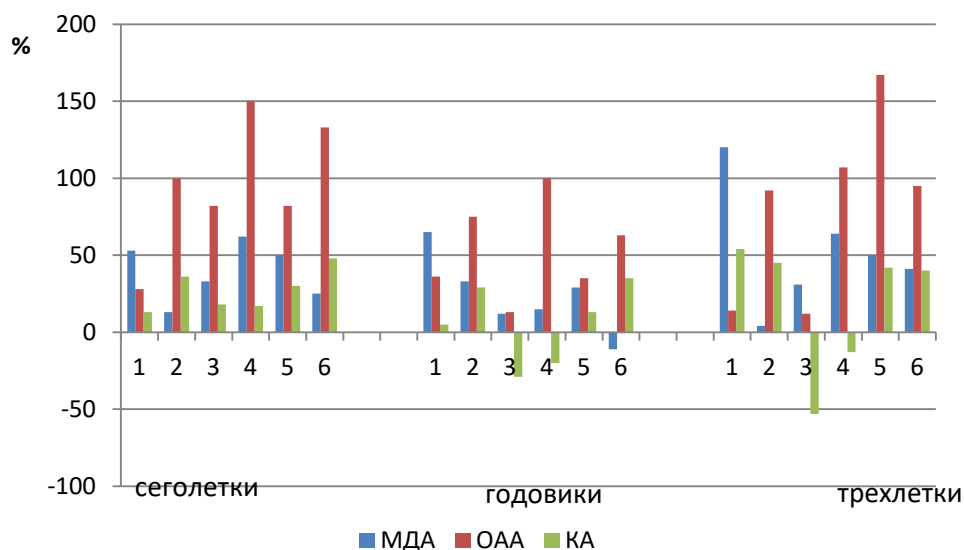


Рис. 2. Возрастная динамика показателей окислительно-антиоксидантной системы тканей карпа на 15-е сутки интоксикации смесью тяжелых металлов (1-кровь, 2 – головной мозг, 3- печень, 4 – почки, 5 – белые мышцы, 6 – красные мышцы)

Организм более взрослых особей приобретает новые благоприятные для него свойства, как бы заранее готовит себя к действию неблагоприятных факторов, что свидетельствует о наличии у него эксплуативной формы адаптации. В отличие от этой ситуации при действии токсических веществ формирование эксплуативной адаптации затруднено. Токсиканты вызывают у рыб компенсаторные ответные реакции, которые обеспечивают устойчивость организма к ксенобиотикам и протекание которых зависит от физико-химических свойств токсических веществ, особенностей проникновения их в организм и от возраста рыб.

Выводы: изменения в интенсивности свободнорадикальных и антиоксидантных процессов имеют значительные возрастные особенности. По мере постнатального развития происходит совершенствование и корректировка механизмов адаптации, и возрастные различия играют в этом процессе значительную роль. Они проявляются в активности ферментативного звена антиоксидантной защиты и на уровне процессов свободнорадикального окисления. С возрастом происходит перераспределение стресс-протекторной функции между органами: у сеголеток основную защитную функцию выполняет печень, у годовиков – почки, у трехлеток – скелетные мышцы. Несмотря на повышенный уровень свободно-

радикальных процессов, трехлетки карпа проявляют большую скорость восстановления гомеостаза, что является признаком более развитых регуляторных механизмов по сравнению с сеголетками.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Андреева, Л.И. Модификация метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой / Л.И. Андреева, А.А. Кожемякин, А.А. Кишкун // Лабораторное дело. 1988. № 11. С. 41-43.
2. Асанов, Э.О. Возрастные особенности интенсивности перекисного окисления липидов и состояния антиоксидантной системы при гипоксимическом стрессе / Э.О. Асанов, М.В. Беликова // Проблемы старения и долголетия. 2006. Т. 15. № 4. С. 285-290.
3. Берберова, Н.Т. Из жизни свободных радикалов // Сорос. Образовательный журнал. Биология. 2000. Т. 5. С. 39-44.
4. Габитов, М.М. Влияние токсического действия ионов свинца и кадмия на перекисное окисление липидов и антиоксидантную активность скелетных мышц воблы / М.М. Габитов, С.О. Абдулаева // Труды Междунар. форума по проблемам науки, техники и образования, Москва, 2-5 декабря 2008 г. – М., 2008. Т. 3. С. 64-66.
5. Гвозденко, Е.С. Интенсивность перекисного окисления липидов и состояние системы детоксикации ксенобиотиков у гидробионтов при воздействии пестицидов двух химических классов // Автореф. дисс. к.б.н. – Ростов-на-Дону, 2006. 15 с.
6. Голованова, И.Л. Влияние тяжелых металлов на физиолого-биохимический статус рыб и водных беспозвоночных // Биология внутренних вод. 2008. №1. С. 99-108.
7. Грубинко, В.В. Перекисное окисление липидов и антиоксидантная защита у рыб (Обзор) / В.В. Грубенко, Ю.В. Леус // Гидробиология. 2001. Т. 37. №1. С. 64-78.
8. Демчук, М.Л. Процессы перекисного окисления липидов при черепно-мозговой травме / М.Л. Демчук, Л.И. Левченко // Нейрохимия, 1990. Т. 9. №1. С.108-110.
9. Жиденко, А.А. Морфофизиологические адаптации разновозрастных групп карповых рыб при неблагоприятных воздействиях экологических токсикантов // Мат-лы междунар. конф. с элементами школы для молодых ученых, аспирантов и студентов, 26 июня, 2010. С. 57-59.
10. Извекова, В.А. Липиды мембран и функции иммунокомпетентных клеток в норме и при патологии // Успехи современной биологии. 1991. Т. 111. Вып. 4. С. 577-587.
11. Калинина, В.Н. Математическая статистика / В.Н. Калинина, В.Ф. Панкин. – М.: Дрофа, 2002. 336 с.
12. Каишулин, Н.А. Ихтиологические основы биоиндикации загрязнения среды тяжелыми металлами // Автореф. дисс. к.б.н. – Петрозаводск, 2000. 42 с.
13. Королюк, М.А. Метод определения активности каталазы // Лабораторное дело. 1988. № 4. С. 44-47.
14. Морозов, А.А. Органная специфика антиоксидантной системы леща Abramis Brama l. из Рыбинского водохранилища / А.А. Морозов и др. // Мат-лы Всеросс. конф. с междунар. участием «Водные и наземные экосистемы: проблемы и перспективы исследования». – Вологда, 2008. С. 75-77.
15. Позднякова, О.Н. Возрастные особенности свободно-радикального гомеостаза и параметров ориентировочно-исследовательского поведения крыс при долгосрочной и срочной адаптации к холоду // Автореф. дисс. к.б.н. – Астрахань, 2010. 21 с.
16. Рабаданова, А.И. Состояние процессов перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты головного мозга и скелетных мышц сеголеток карпа при совместном действии ионов тяжелых металлов // Мат-лы Междунар. научно-практ. конф., 3-5 октября, 2013 г. – Ростов-на-Дону, 2013. С. 447-448.
17. Руднева, И.И. Эколого-физиологические особенности антиоксидантной системы рыб и процессов перекисного окисления липидов // Успехи современной биологии. 2003. Т. 123. № 4. С. 391-400.
18. Трахтенберг, И.М. Свинец и окислительный стресс // Экология и токсикол. 2002. Вып.1. С. 209-214.
19. Ahmad, I. Oxidative stress and genotoxic effects in gill and kidney of *Anguilla anguilla* L. exposed to chromium with or without preexposure to beta-naphthoflavone // Mutat. Res. 2006. Vol. 608, N 1. P. 16-28.
20. Liu, H. Effects of copper and its ethylenediaminetetraacetate complex on the antioxidant defenses of the goldfish, *Carassius auratus* // Ecotoxicol. Environ. Saf. 2006. Vol. 65, N 3. P. 350-354.

AGE AND TISSUE SPECIFIC SENSITIVITY OF PRO-AND ANTIOXIDANT SYSTEMS OF CARP FISHES TO IMPACT OF HEAVY METALS

© 2017 A.I. Rabadanova, M.M. Gabibov, S.A. Chalayeva, G.R. Amirova, A.Yu. Ayubova
Dagestan State University, Makhachkala

The age-related features of oxidative – antioxidant system of carp fishes tissue at the impact of heavy metals (Cd^{2+} , Pb^{2+} , Mn^{2+}) mixture are investigated. The most intensive growth of MDA in all tissues observed were one-year-old age. The activity of components of pro- and antioxidant system of fish tissues reveals the age dependent. The total antioxidant activity of the liver and kidneys is highest at three years old, whereas in the remaining organs its activity is prevalent in yearlings. Catalase activity in juveniles is most pronounced in the brain and liver, in the kidneys - yearlings, at three years old - in skeletal muscle. Under the impact of heavy metals mixture in the juveniles is relative balance of lipid peroxidation processes, whereas yearlings in all organs compared with yearlings, the accumulation of MDA is not enough offset mechanisms of antioxidant protection. At three years old carp shown more resistance to toxic stress in skeletal muscle against the backdrop of deterioration of other organs.

Key words: carp, heavy metals, antioxidant system, age, catalase

Amina Rabadanova, Candidate of Biology, Associate Professor at the Department of Zoology and Physiology. E-mail: ashty06@mail.ru; Magomed Gabibov, Doctor of Biology, Professor at the Department of Zoology and Physiology. E-mail: fiziolog1@yandex.ru; Salimat Chalaeva, Candidate of Biology, Associate Professor at the Ichthyology Department. E-mail: boodur09@mail.ru; Gulziya Muradova, Candidate of Biology, Associate Professor at the Department of Zoology and Physiology. E-mail: gulka-2005@yandex.ru; Aida Ayubova, Post-Graduate Student