

## ВИВЧЕННЯ НАГРОМАДЖЕННЯ МІДІ ТА ЇЇ ВПЛИВУ НА АНТИОКСИДАНТНУ СИСТЕМУ ЧОРНОМОРСЬКИХ МІДІЙ

Одеський національний університет імені І. І. Мечникова

При вивченні екологічного стану водойм велику увагу приділяють важким металам — особливо небезпечним забруднювачам водного середовища. Потрапляючи у водойми, сполуки важких металів викликають перебудову структур водних ценозів і еколого-фізіологічних властивостей гідробіонтів [1–3]. Мідь посідає особливе місце серед важких металів, одночасно виступаючи і як небезпечний забруднювач, і як кофактор деяких ферментативних систем організму, що забезпечує їх функціонування. У мікрокількостях мідь — стимулятор поліфенолоксидазної, аскорбатоксидазної та інших систем. Відомо, що іони міді виявляють токсикогенний вплив на клітинні процеси нелізосомального розщеплення [4].

У сучасній науковій літературі описані окремі процеси метаболізму білків, ліпідів, вуглеводів, висвітлена роль тіоловмісних сполук за дії важких металів та їх вплив на травну систему прикріплених видів молюсків [5]. Проте лише в окремих працях викладені поодинокі аспекти антиоксидантної реакції мідій на присутність сполук важких металів [6–8]. Наукових досліджень, присвячених впливу важких металів на антиоксидантну систему при потраплянні їх з їжею в організм мідій, не існує. Це не дає можливості порівняти токсичний ефект, який виникає внаслідок потрапляння їх в організм мідій різними шляхами (з їжею чи у розчиненому стані), на антиоксидантну систему молюска.

**Метою** нашого дослідження було вивчити нагромадження міді та її вплив на антиоксидантну систему чорноморських мідій.

Дослідження проводилося на чорноморських мідіях *Mytilus galloprovincialis* Lam. чорної морфи, розміром 3,5–4,0 см. Відловлених мідій протягом 1 год доставляли в лабораторію, де розміщали в акваріуми. Після адаптації протягом 5 діб їх використовували для експериментів. Їжею для молюсків слугували водорості різних систематичних груп, насичені міддю: *Dunaliella salina* Teod, *Thalassiosira pseudonana* (Hustedt) Hasle et Heimdal, *Pavlova lutheri* (Droop) Green.

Для експериментів застосовували три концентрації хлориду міді — 0,1 мг·л<sup>-1</sup>; 1,0 мг·л<sup>-1</sup>; 10,0 мг·л<sup>-1</sup>. У кожній серії дослідів проводили 8–10 повторних експериментальних і контрольних варіантів. Експеримент тривав 72 год. Водорості, якими годували мідій, заздалегідь експонувалися в середовищах, насичених відповідними концентраціями хлориду міді. Кількість водоростей, використаних для годування, була такою, щоб вміст міді у них відповідав тому, що й у морській воді (0,1 мг·л<sup>-1</sup>, 1,0 мг·л<sup>-1</sup>, 10,0 мг·л<sup>-1</sup>).

Вміст міді у водоростях і чорноморських мідіях після леофілізації відповідних зразків визначали за допомогою полум'яного фотометра. Результати дослідження представлені середніми величинами з їхніми похибками ( $M \pm m$ ). Статистична обробка даних проводилася за допомогою методу Стьюдента [5–7].

Вивченню динаміки нагромадження міді у мідіях передувала серія попередніх експериментів щодо дослідження динаміки та кінетики нагромадження

міді у клітинах водоростей, які використовувалися як харчові фактори для молюсків. Результати цих експериментів дали можливість дозувати певну кількість міді, що потрапляє в їх організм із їжею.

Перед вивченням впливу хлориду міді на антиоксидантну систему чорноморських мідій були отримані дані про динаміку та кінетику нагромадження міді у клітинах водоростей різних систематичних груп за різних концентрацій хлориду міді у морській воді. Ці водорості у подальшому були використані як харчові фактори для досліджуваних молюсків.

Проте якщо у варіантах із мінімальними концентраціями (0,1 мг·л<sup>-1</sup>) залежність кількості міді в клітинах від часу після 1-ї доби експерименту мало змінювалася, то для середньої концентрації після 48 год експерименту ця залежність відхилялася від лінійної. У варіантах із максимальною концентрацією токсиканта (10,0 мг·л<sup>-1</sup>) спостерігалася насичення клітин *D. salina* на 2-гу добу експерименту.

У клітинах *Th. pseudonana* нагромадження міді при використанні мінімальної та середньої концентрацій хлориду міді відбувалося лінійно. При використанні максимальної концентрації спостерігалася відхилення від лінійності протягом 2 діб експерименту, а впродовж 3-ї доби рееструвалося насичення клітин водорості міддю. Аналогічні результати були отримані також при дослідженні динаміки нагромадження міді в клітинах *P. lutheri*.

Наступним етапом нашої роботи було вивчення нагромадження міді у тканинах чорно-

морських мідій при потраплянні їх в організм у розчиненому стані з морської води та з їжею.

Згідно з результатами досліджень, нагромадження міді при потраплянні її з їжею в гепатопанкреасі молюсків відбувалося значно інтенсивніше, ніж при нагромадженні даного металу з морської води. Був відсутній ефект насичення тканини міддю. При збільшенні часу експозиції кількість міді зростала в експериментальних варіантах зі всіма випробовуваними концентраціями.

У зябрах мідь при надходженні з їжею нагромаджувалася у значно менших кількостях, ніж при потраплянні її з морської води. Однак ефекту насичення тканин зябер в експерименті виявлено не було.

У тканинах ноги мідій мідь при потраплянні з їжею нагромаджувалася у більших кількостях, ніж із морської води. Ефекту насичення цього органа міддю виявлено не було. Після отримання результатів дослідження щодо динаміки нагромадження міді в організмі чорноморських мідій ми перейшли до вивчення антиоксидантного статусу молюсків в умовах потраплення в їхні організми міді.

Для оцінки антиоксидантного статусу був відібраний набір біохімічних тестів, які дозволяли у повному обсязі оцінити ан-

тиоксидантний потенціал тканин молюска: активності глутатіонпероксидази, глутатіонредуктази, супероксиддисмутази, каталази, пероксидази, кількість відновленого глутатіону та малонового діальдегіду.

Дані про стан антиоксидантної системи мідій під впливом максимальної концентрації  $\text{CuCl}_2$  наведені в табл. 1.

Активність супероксиддисмутази під впливом міді у всіх досліджених органах істотно підвищувалася. Паралельно зі збільшенням активності супероксиддисмутази ми спостерігали зростання активності каталази. Активність пероксидази у цих умовах не змінювалася.

Внаслідок активності процесів відтворення і метаболізму перекисів у всіх досліджених тканинах підвищувався вміст малонового діальдегіду.

У наступній серії ми вивчили антиоксидантний статус тканин мідій при потраплянні міді з їжею. Як видно з даних, наведених у табл. 2, харчове надходження міді приводить до протилежних відхилень у глутатіоновій системі порівняно з надходженням цього металу в розчиненому вигляді з води.

Зокрема, присутність міді в їжі приводить до зниження активності глутатіонпероксидази у всіх досліджуваних тканинах.

Водночас ми спостерігали істотне підвищення активності глутатіонредуктази, яке було найбільш значущим у нозі мідії, і як наслідок — збільшення вмісту відновленого глутатіону.

Це свідчить про те, що в умовах потраплення міді з їжею в організм глутатіонова система зберігає здатність генерувати відновлений глутатіон, на відміну від варіанта потраплення міді з води у розчиненому вигляді.

Аналіз сукупності ферментів, що відповідають за відтворення й утилізацію перекисів, показує, що реакція цієї системи на потраплення даного металу з їжею в організм аналогічна варіанту потраплення даного металу з води у розчиненому вигляді. А саме: активність взаємопов'язаних ферментів — супероксиддисмутази та каталази — істотно підвищена порівняно з контролем, активність же пероксидази не змінювалася. Активізація перекисних процесів привела до підвищення вмісту в усіх досліджених тканинах малонового діальдегіду.

## Висновки

1. Потраплення міді у розчиненому вигляді з морської води та з їжею викликає активізацію супероксиддисмутази-каталази та збільшення рів-

Таблиця 1

Антиоксидантний статус тканин мідій при надходженні міді у розчиненому стані з води,  $n=12-20$

Показник	Гепатопанкреас		Зябра		Нога	
	Контроль	$\text{CuCl}_2$	Контроль	$\text{CuCl}_2$	Контроль	$\text{CuCl}_2$
Глутатіонпероксидаза, мкМ GSSG/(мг білка·хв)	35±3	54±5*	38±4	72±6*	30±3	44±5*
Глутатіонредуктаза, мкМ НАДФН/(мг білка·хв)	95±10	72±7	148±16	94±9*	45±5	28±3*
Відновлений глутатіон, мкМ GSH/мг білка	1,0 ±0,2	0,4±0,1*	0,4±0,1	0,2±0,1	0,4±0,1	0,2±0,1
Супероксиддисмутаза, мкМ НАДН/(мг білка·хв)	1230±134	1844±191*	2380±250	3234±357*	8530±902	12 350±1002*
Пероксидаза, мкМ $\text{H}_2\text{O}_2$ /(мг білка·хв)	10±1	9±1	5±1	4±1	2,0±0,2	2,0±0,2
Каталаза, мкМ $\text{H}_2\text{O}_2$ /(мг білка·хв)	324±34	654±57*	567±60	922±90*	345±37	734±70*
Малоновий діальдегід, мкМ МДА/мг білка	824±84	1231±122*	1561±1661	2012±184*	712±73	1542±161*

Примітка. У табл. 1, 2: \* — розбіжності статистично достовірні ( $p<0,05$ ).

Антиоксидантний статус тканин мідій в умовах потрапляння міді з їжею, n=12–20

Показник	Гепатопанкреас		Зябра		Нога	
	Контроль	Мідь	Контроль	Мідь	Контроль	Мідь
Глутатіонпероксидаза, мкМ ГSSG/(мг білка·хв)	35±3	17±2*	38±4	21±2*	30±3	18±2*
Глутатіонредуктаза, мкМ НАДФФН/(мг білка·хв)	95±10	144±12*	148±16	193±16*	45±5	90±8*
Відновлений глутатіон, мкМ GSH/мг білка	1,0 ±0,2	0,9±0,1	0,4±0,1	1,2±0,1*	0,4±0,1	0,3±0,1
Супероксиддисмутаза, мкМ НАДН/(мг білка·хв)	1230±134	1946±141*	2380±250	3425±361*	8530±902	14 823±1118*
Пероксидаза, мкМ H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /(мг білка·хв)	10±1	10±1	5±1	6±1	2±0,2	3,0±0,3
Каталаза, мкМ H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /(мг білка·хв)	324±34	734±72*	567±60	1028±101*	345±37	802±75*
Малоновий діальдегід, мкМ МДА/мг білка	824±84	1125±105*	1561±161	1996±172*	712±73	1421±153*

ня малонового діальдегіду в тканинах чорноморських мідій.

2. Надходження міді в організм чорноморської мідії у розчиненому стані активізує окиснювальний потенціал глутатіонової системи. При потрапленні її з їжею активізується відновний потенціал.

3. При різних шляхах надходження міді в організм функціонують різні механізми її нагромадження у тканинах і реагування антиоксидантної системи мідій.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Арсан О. М. Состояние и перспективы развития водной экотоксикологии / О. М. Арсан // Гидробиологический журнал. – 2007. – Т. 43, № 6. – С. 50–64.

2. Заботкина Е. А. Влияние тяжелых металлов на иммуно-физиологический статус рыб / Е. А. Заботкина, Т. Б. Лапикова // Успехи современной биологии. – 2003. – Т. 123, № 4. – С. 401–408.

3. Семенова О. А. Миграции тяжелых металлов в пищевых цепях / О. А. Семенова // Экологические проблемы Черного моря : міжнар. наук. конф. Одеса, 28–29 жовтня 2010 р. : тези доп. – Одеса : Центр ИНВАЦ, 2010. – С. 257–260.

4. Золотухина Е. Ю. Связывание меди, кадмия, железа, цинка и марганца в белках водных макрофитов / Е. Ю. Золотухина, Е. Е. Гавриленко // Физиология растений. – 1990. – Т. 37, вып. 4. – С. 651–660.

5. Челонин В. П. Биологические механизмы адаптации мидии *Mytilus trossulus* к ионам кадмия и меди / В. П. Челонин, Н. Н. Бельчева, М. В. Захарцев // Биология моря. – 1998. – Т. 24, № 5. – С. 319–325.

6. Ферментативная система антиоксидантной защиты черноморского моллюска *Mytilus galloprovincialis* Lam. с пигментированными и депигментированными тканевыми структурами / А. А. Солдатов, О. Л. Александрова, И. В. Головина [и др.] // Доп. ННУ. – 2003. – № 5. – С. 162–166.

7. Храпова Н. Г. Токоферолы и убихиноны как природные антиоксиданты / Н. Г. Храпова // Методы оценки антиоксидантной активности биологически активных веществ лечебного и профилактического назначения : сб. докл. Москва, 14–15 сент. 2004 г. ; [общ. ред. Е. Б. Бурлакова]. – М. : РУДН, 2005. – С. 51–75.

8. Regoli F. Trace metals and antioxidant enzymes in gills and digestive gland of the Mediterranean mussel *Mytilus galloprovincialis* — cialis / F. Regoli // Arch. Environ. Contain Toxicol. – 1998. – Vol. 34, N 1. – P. 48–63.

УДК 594:124:094.3(262.5)

О. О. Семенова

#### ВИВЧЕННЯ НАГРОМАДЖЕННЯ МІДІ ТА ЇЇ ВПЛИВУ НА АНТИОКСИДАНТНУ СИСТЕМУ ЧОРНОМОРСЬКИХ МІДІЙ

Проведено вивчення стану антиоксидантної системи чорноморських мідій під впливом міді при її надходженні з їжею в організм і під час надходження у розчиненому стані. Показано, що надходження міді в організм, незалежно від способу її потрапляння, приводить до активізації супероксиддисмутазно-каталазної системи і збільшення рівня малонового діальдегіду. Реакція глутатіонової системи залежить від шляху потрапляння в організм мідій.

**Ключові слова:** водорості, чорноморські мідії, нагромадження, антиоксидантна система, мідь.

UDC 594:124:094.3(262.5)

O. O. Semenova

#### STUDY OF THE COPPER ACCUMULATION AND ITS EFFECT ON ANTIOXIDANT SYSTEM OF BLACK SEA MUSSELS

Study of the antioxidant system of Black Sea mussels under copper influence during its intake with food, and when dissolved. Copper intake to the organism irrespective on the way of introduction leads to activation of superoxide dismutase-catalase system and increase of malonic dialdehyde. Response of glutathione system depends on the way of the mussels introduction to the organism.

**Key words:** seaweed, Black Sea mussels, accumulation, antioxidant system, copper.