

УДК: 594: 124: 094. 3 (262.5)

**Активность некоторых дегидрогеназ в тканях черноморских мидий в условиях действия хлоридов тяжелых металлов**  
**О.А.Семенова**

*Одесский национальный университет имени И.И.Мечникова (Одесса, Украина)*  
*masterkristi@rambler.ru*

Исследовано воздействие хлоридов меди, свинца и кадмия на активность пируватдегидрогеназного комплекса и дегидрогеназ ЦТК в тканях черноморских мидий. Установлено, что концентрация в воде 10 мг/л хлорида кадмия не изменяет активность исследованных ферментов. Аналогичная концентрация хлорида меди снижает активность мультиэнзимных комплексов, а хлорид свинца ингибирует все исследованные дегидрогеназы.

**Ключевые слова:** *черноморская мидия, дегидрогеназы, цикл трикарбоновых кислот, гепатопанкреас, жабры, нога.*

**Активність деяких дегідрогеназ у тканинах чорноморських мідій в умовах дії хлоридів важких металів**  
**О.О.Семенова**

Досліджено вплив хлоридів міді, плумбуму і кадмію на активність піруватдегідрогеназного комплексу і дегідрогеназ ЦТК в тканинах чорноморських мідій. Встановлено, що концентрація у воді 10 мг/л хлориду кадмію не змінює активність досліджених ферментів. Аналогічна концентрація хлориду міді знижує активність мультиензимних комплексів, а хлорид свинцю інгібує всі досліджені дегідрогенази.

**Ключові слова:** *чорноморська мідія, дегідрогенази, цикл трикарбонових кислот, гепатопанкреас, зябра, нога.*

**The activity of some dehydrogenases in tissues of Black Sea mussels under the action of heavy metal chlorides**  
**O.A.Semenova**

The effect of copper, lead and cadmium chlorides on the activity of pyruvate dehydrogenase complex and TCA cycle dehydrogenases in tissues of Black Sea mussels has been studied. The concentration of 10 mg/L of cadmium chloride in water does not change the activity of the enzymes. A similar concentration of copper chloride reduces the activity of multienzyme complexes, and lead chloride inhibits all studied dehydrogenase.

**Key words:** *Black Sea mussel, dehydrogenases, TCA cycle, hepatopancreas, gills, foot.*

**Введение**

В настоящее время вследствие урбанизации, непрерывного роста техногенного давления, сброса промышленных стоков существенно изменяются качественные и количественные показатели водных ресурсов (Ткач, 2000). В условиях высокого уровня антропогенного загрязнения водной среды среди гидробионтов наиболее устойчивыми к действию токсикантов являются виды аккумуляторы и биофильтраторы, в частности двустворчатые моллюски. Эти гидробионты накапливают в тканях ксенобиотики в количествах, значительно превышающих их предельно допустимые концентрации в воде. При этом они способны сохранять основные жизненно важные функции за счет эффективных систем детоксикации (Cossu et al., 2000; Livingstone, 2001; Telli-Karakoc et al., 2002; Geret et al., 2002; Zhang et al., 2004) и защиты тканей от окислительного повреждения (Carrington, 2002; Гостюхина, 2005).

Естественно, что значительно более высокий уровень защитных свойств ферментативного комплекса антиоксидантной системы в тканях двустворчатых моллюсков, в частности, мидий, по сравнению с животными других таксономических групп, должен быть связан и с особенностями энергетического обмена у них.

Однако энергетический обмен у беспозвоночных изучен недостаточно. Еще меньше работ посвящено влиянию антропогенных факторов на активность основных ферментов энергетического обмена, в том числе и дегидрогеназ ЦТК, в тканях черноморских мидий.

Учитывая то, что высокие концентрации тяжелых металлов способны вызывать разнообразные токсические эффекты и являются одним из основных видов техногенной нагрузки, изучение механизмов их действия на эти ферменты представляется актуальным.

#### Материалы и методы исследования

Исследования проводили на черноморских мидиях *Mytilus galloprovincialis* Lam. черной морфы, размером 3,5–4, 0 см. Отловленные мидии в течение одного часа доставлялись в лабораторию, где размещались в аквариумы. После адаптации в течение 5 суток моллюсков использовали для исследований. В аквариумы вносили хлориды меди, свинца и кадмия в концентрации 10 мг/л.

Эта концентрация была выбрана на основании предыдущих работ, в которых было исследовано накопление в тканях мидий этих металлов в зависимости от концентрации их хлоридов в морской воде. Наиболее отчетливые закономерности наблюдались именно при концентрации 10 мг/л (Семенова, 2011, 2012, 2013; Семенова, Побережский, 2012).

Продолжительность опыта составляла трое суток. В течение этого периода воду в аквариуме, где экспонировали мидий, не меняли.

Об активности дегидрогеназ судили по количеству восстановленного  $K_3[Fe(CN)_6]$  в гомогенатах тканей гепатопанкреаса, жабр и ноги, который определяли по методу Kiessling (Kiessling, Zundquist, 1962). Количество повторных вариантов в каждой серии измерений составляло 8–10.

Статистическую обработку данных проводили с использованием критерия Фишера–Стьюдента (Лакин, 1990). Достоверными считали результаты с  $p < 0,05$ .

#### Результаты и обсуждение

Результаты исследований приведены в таблице.

Как видно, в присутствии хлорида меди использованные субстраты окисляются гомогенатами тканей с разной интенсивностью. Так, в частности, во всех трех исследуемых тканях наиболее интенсивно окислялся сукцинат. На втором месте по этому показателю был малат, и значительно слабее окислялись пируват и 2-оксоглутарат.

Таблица.

Влияние хлоридов меди, кадмия и свинца на активность пируватдегидрогеназного комплекса и дегидрогеназ ЦТК в органах черноморских мидий ( $\mu\text{M}$  восстановленного  $K_3[Fe(CN)_6]$   $\times$  г ткани<sup>-1</sup>  $\times$  мин<sup>-1</sup>)

Фермент	Орган	Контроль	CuCl <sub>2</sub>	CdCl <sub>2</sub>	PbCl <sub>2</sub>
Пируват-дегидрогеназа	Гепатопанкреас	12,32±1,81	6,57±0,89*	10,42±1,50	4,21±1,08*
	Жабры	8,10±1,40	4,31±0,80*	8,48±1,63	3,17±1,14*
	Нога	5,33±1,05	2,24±0,65*	6,41±1,37	2,40±1,05*
2-оксоглутарат-дегидрогеназа	Гепатопанкреас	14,25±2,05	7,69±1,81*	12,38±1,24	8,36±1,11*
	Жабры	9,33±1,44	5,82±1,13*	7,52±1,71	5,45±1,14*
	Нога	7,71±1,13	3,47±0,76*	8,26±1,31	4,36±1,12*
Сукцинат-дегидрогеназа	Гепатопанкреас	90,27±8,53	94,42±10,64	101,52±10,34	60,26±6,43*
	Жабры	65,03±7,28	69,37±8,41	72,28±7,18	42,35±4,28*
	Нога	115,26±12,52	134,43±14,75	124,33±13,20	70,36±7,91*
Малат-дегидрогеназа	Гепатопанкреас	54,13±5,27	49,08±6,31	59,46±6,18	30,73±3,24*
	Жабры	35,22±4,51	30,17±4,25	41,20±6,15	20,48±2,16*
	Нога	41,37±4,36	45,41±5,16	43,26±4,72	21,63±2,68*

Примечание: \* – достоверно ( $p < 0,05$ ) относительно контроля.

Сопоставление интенсивности окисления одних и тех же субстратов разными органами мидий показало, что и пируват, и 2-оксоглутарат, и малат наиболее интенсивно окисляются в гепатопанкреасе и менее интенсивно в жабрах и ноге. Что же касается сукцината, то он окисляется с

наибольшей интенсивностью в ноге, затем следует гепатопанкреас, и наименьшая интенсивность окисления этого субстрата отмечена в жабрах.

При анализе влияния хлорида меди следует отметить, что этот токсикант существенно снижал интенсивность окисления только пирувата и 2-оксоглутарата. Интенсивность окисления малата и сукцината под действием  $\text{CuCl}_2$  практически не изменялась ни в одном из исследуемых органов.

Интенсивность окисления всех четырех субстратов под действием хлорида кадмия не изменялась ни в одном из исследуемых органов мидий (табл.).

Иная картина наблюдалась при воздействии хлорида свинца на активность дегидрогеназ в тканях черноморских мидий.

Данные, приведенные в таблице, свидетельствуют о том, что хлорид свинца во всех исследуемых органах существенно угнетал интенсивность окисления всех изучаемых субстратов.

В наибольшей степени это угнетение наблюдалось в отношении окисления пирувата и 2-оксоглутарата. Так, под действием этого токсиканта активность пируватдегидрогеназы снижалась в 2,5–3 раза, а активность 2-оксоглутаратдегидрогеназы – на 35–45 %. Несколько меньше снижались активности малатдегидрогеназы и сукцинатдегидрогеназы.

Резюмируя полученные данные, следует отметить, прежде всего, отсутствие воздействия хлорида кадмия на активность дегидрогеназ ЦТК. Это обстоятельство может быть связано с относительно высоким порогом чувствительности организма мидий для кадмия по сравнению с медью и свинцом.

Избирательное воздействие хлорида меди на активность пируват и 2-оксоглутаратдегидрогеназы и отсутствие такого действия на малатдегидрогеназу и сукцинатдегидрогеназу, вероятно, связано со специфическим действием ионов меди на мультиэнзимные комплексы.

Значительное снижение активности всех четырех исследованных дегидрогеназ в присутствии  $\text{PbCl}_2$ , определяется, по-видимому, тем, что ионы свинца блокируют сульфгидрильные группы, которые играют существенную роль в функционировании этих ферментов (Челонин и др., 1998).

### Список литературы

- Гостюхина О.Л. Состояние ферментативной системы антиоксидантной защиты у черноморских мидий *Mytilus galloprovincialis* Lam. в условиях естественного окислительного стресса: коричневая морфа // *Наук. записки Терноп. нац. пед. ун-та. Серія "біологія". Спец. випуск: гідроекологія.* – 2005. – №4 (27). – С. 52–54. /Gostyukhina O.L. Sostoyaniye fermentativnoy sistemy antioksidantnoy zashchity u chernomorskikh midiy *Mytilus galloprovincialis* Lam. v usloviyakh estestvennogo okislitel'nogo stressa: korichnevaya morfa // *Nauk. zapysky Ternop. nats. ped. un-ta. Seriya "biologiya". Spets. vypusk: gidroekologiya.* – 2005. – №4 (27). – С. 52–54./
- Лакін Г.Ф. Биометрия. – М. Высшая школа. – 1990. – 351с. /Lakin G.F. Biometriya. – M. Vysshaja shkola. – 1990. – 351s./
- Семенова О.О. Динаміка накопичення кадмію у тканинах Чорноморської мідії за різних умов його надходження в організм // *Уч. зап. Тавр. нац. ун. ім. В.І.Вернадського. Серія Біологія. Хімія.* – 2011. – Т.24. (63), №2. – С. 249–253. /Semenova O.O. Dynamika nakopychennya kadmiyu u tkanyakh Chornomors'koi midii za riznykh umov yogo nadhodzhennya v organizm // *Uch. zap. Tavr. nats. un. im. V.I.Vernadskogo. Seriya Biologiya. Khimiya.* – 2011. – Т.24. (63), №2. – С. 249–253./
- Семенова О.А. Динамика накопления свинца в тканях черноморских мидий при различных способах попадания его в организм // *Сб. материалов междуна. заочн. научно-практич. конференции "Физика, Химия, Биология: актуальные проблемы". – Новосибирск: Сибирская ассоциация консультантов.* – 2012. – С. 10–15. /Semenova O.A. Dinamika nakopleniya svintsa v tkanyakh chernomorskikh midiy pri razlichnykh sposobakh popadaniya yego v organizm // *Sb. materialov mezhdun. zaochn. Nauchno-praktich. konferentsii "Fizika, Khimiya, Biologiya: aktual'nyye problemy". – Novosibirsk: Sibirskaia assotsiatsiya konsul'tantov.* – 2012. – С. 10–15./
- Семенова О.А., Побережский А.И. Оценка состояния антиоксидантной системы черноморских мидий под влиянием хлорида меди // *Сб. материалов междуна. молодеж. конференции "Биокаталитические технологии и технологии возобновляемых ресурсов в интересах рационального природопользования". – Кемерово, 2012. – С. 216–219.* /Semenova O.A., Poberezhskiy A.I. Otsenka sostoyaniya antioksidantnoy sistemy chernomorskikh midiy pod vliyaniyem hlorida medi // *Sb. materialov mezhdun. molodezh. konferentsii "Biokataliticheskiye tekhnologii i tekhnologii vobnovlyayemykh resursov v interesakh ratsional'nogo prirodopol'zovaniya.* – Kemerovo, 2012. – С. 216–219./
- Семенова О.О. Вивчення нагромадження міді та її впливу на антиоксидантну систему чорноморських мідій // *Досягнення біології та медицини.* – 2012. – №2 (20). – С. 20–22. /Semenova O.O. Vyvchennya nagromadzhennya midi ta ii vplyvu na antyoksydantnu systemu chornomorskykh midiy // *Dosyagnennya biologii ta medytsyny.* – 2012. – №2 (20). – С. 20–22./

- Семенова О.О. Оцінка антиоксидантної системи чорноморських мідій у присутності свинцю у воді та субстратах живлення молюска // *Одеський медичний журнал*. – 2013. – №2 (136). – С. 65–72. /Semenova O.O. Otsinka antyoksidantnoi systemy chornomors'kykh midiy u prysutnosti svyntsyu u vodi ta substratakh zhyvlennya molyuska // *Odes'kyu medytshnyy zhurnal*. – 2013. – №2 (136). – S. 65–72./
- Семенова О.О. Оцінка стану антиоксидантної системи чорноморських мідій під впливом важких металів // *Уч. зап. Тавр. нац. ун. В.И.Вернадского. Серия Биология, Химия*. – 2012. – Т.25 (64), №2. – С. 142–150. /Semenova O.O. Otsinka stanu antyoksidantnoi systemy chornomors'kykh midiy pid vplyvom vazhkykh metaliv // *Uch. zap. Tavr. nats. un. V.I.Vernadskogo. Seriya Biologiya, Khimiya*. – 2012. – T.25 (64), №2. – S. 142–150./
- Ткач С.И. Производство и экология // *Проблеми медичної науки і освіти*. – 2000. – №3. – С. 705–709. /Tkach S.I. Proizvodstvo i ekologiya // *Problemy medychnoi nauki i osvity*. – 2000. – №3. – S. 705–709./
- Челонин В.П., Бельчева Н.Н., Захарцев М.В. Биологические механизмы адаптации мидии *Mytilus trossulus* к ионам кадмия и меди // *Биология моря*. – 1998. – Т.24, №5. – С. 319–325. /Chelonin V.P., Bel'cheva N.N., Zakhartsev M.V. Biologicheskiye mekhanizmy adaptatsii midii *Mytilus trossulus* k ionam kadmiya i medi // *Biologiya morya*. – 1998. – T.24, №5. – S. 319–325./
- Carrington E. Seasonal variation in the attachment strength of the blue mussels: causes and consequences // *Limnol. Oceanogr.* – 2002. – Vol.47, №6. – P. 1723–1733.
- Cossu C., Doyotte A., Babut M. et al. Antioxidant biomarkers in freshwater bivalves, *Unio tumidus*, in response to different contamination profiles of aquatics sediments // *Ecotoxicol. and Environ. Safety*. – 2000. – Vol.45, №4. – P. 106–121.
- Geret F., Iouan A., Turpin V. et al. Influence of metal exposure on metallothionein synthesis and lipid peroxidation in two bivalve mollusks the oyster (*Crassostrea gigas*) and the mussel (*Mytilus edulis*) // *Aquat. Living Resour.* – 2002. – Vol.15. – P. 61–66.
- Kiessling K., Zundqust C. Thiamine diphosphate in growing tissues. III. Pyruvate oxidation in liver mitochondria from young and thiamine diphosphate deficient adult rats // *Exp. Cell. Pes.* – 1962. – Vol.26, №1. – P. 189–197.
- Livingstone D.R. Contaminant-stimulated reactive oxygen species production and oxidative damage in aquatic organisms // *Mar. Poll. Bull.* – 2001. – Vol.42, №8. – P. 656–666.
- Telli-Karakoc F., Tolun L., Henkelmann B. et al. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and polychlorinated biphenyls (PCBs) distributions in the Bay of Marmara sea: Izmit Bay // *Environ. Pollut.* – 2002. – Vol.119, №3. – P. 383–397.
- Zhang Z., Huang J., Yu G., Hong H. Occurrence of PAHs, PCBs and organochlorine pesticides in the Tonghui River of Beijing, China // *Environ. Pollut.* – 2004. – Vol.130, №2. – P. 249–261.

**Представлено: Н.Ф.Леус / Presented by: N.F.Leus**

**Рецензент: Є.Є.Перський / Reviewer: Ye.E.Persky**

*Подано до редакції / Received: 10.04.2013*