

ЛІТЕРАТУРА

1. Авцын А. П., Живоронков А. А., Ринг М. А., Строчкова Л. С. Микроэлементозы человека. М. Медицина, 1991. — 496 с.
2. Бурдин К. С., Полякова Е. Е. Металлотитонени, их строение и функция // Усп. соврем. биол. — 1987. — 103, № 3. — С. 390 — 400.
3. Лехс Ю.В., Грубінко В.В. Активність антиоксидантної системи коропа при дії важких металів. // Гідробіол. ж. — 1998. — № 2. — С. 59 — 63.
4. Ершов Ю. А., Идетенев Г. В. Механизмы токсического действия неорганических соединений. — М. Медицина, 1989. — 272 с.
5. Липник П. П. Тяжелые металлы в поверхностных водах Украины: содержание и формы миграции. — Гідробіол. журн. — 1999. — 35, № 1. — С. 22 — 41.
6. Столяр О. Б. Окислювальна модифікація білків гепатопанкреасу і плазми крові коропа за інтоксикації важкими металами. // Наукові записки Тернопільського національного університету. Серія: Біологія. — Тернопіль, 2001. — №2(13). — С. 44-49.
7. Столяр О. Б., Хоменчук В. О., Арсан В. О., Грубінко В. В. Роль низькомолекулярних сірковмісних сполук гепатопанкреасу коропа у зв'язуванні іонів міді // Доп. НАН України. — 2001. — № 3. — С.198 — 203.
8. Сытник Ю.М. Загрязнение тяжелыми металлами пресноводных рыб естественных и искусственных водоемов Украины // Н.Студ.гідроеколог. товариства України; Тез. доп., Київ, лист. 1997 р. — К.: 1997, 1, 2. — С. 151 — 152.
9. Цибрижинский О. И. Антиоксидантный статус при марганцевой интоксикации организма // Укр. биохим. журн. — 1998. — 70, № 4. — С. 79 — 84.
10. Liccione J. J., Maines M. D. Selective Vulnerability of glutathione Metabolism and cellular defense Mechanisms in rat striatum to manganese. — J. Pharmacol. Experiment. Therapeutics. — 1988. — 247, N 1. — P. 156 — 161.
11. Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L., Randall R. J. Protein measurement with folin phenol reagent. — J. Biol. Chem. — 1951. — 191, P. 265 — 275.
12. Olsson P.E., Zafarallah M., Gedamu Z. A role of metalloprotein in zinc regulation after estradiol induction of vitellogenin synthesis in Rainbow trout, *Salmo gairdneri*. // Biochem J. 1989. — 257, № 2. — P. 555-559.
13. Sedlak J., Lindsay R.H. Estimation of total, protein-bound and non-protein sulphhydryl groups in tissue with Ellmans Reagent. — Anal. Biochem. — 1968. — 25, № 1. — P.192-205.

O. B. Stolyar, R. B. Balaban

THE MANGANESE CONTENT IN THE LOW WEIGHT COMPOUNDS OF THE CARP HEPATOPANCREAS AND THEIR PROPERTIES UNDER THE MANGANESE (II) INFLUENCE ON THE ORGANISM

The influence of exposure to 0,12, 2,4 and 6,0 mg Mn²⁺ ions/l for up 14 days on the low weight thermostable proteins (LTP) of carp hepatopancreas, its fractions, obtained by gel-filtration on the sephadex G-75, and the accumulation of manganese in them has been investigated. The results show that the concentration of the hepatic total proteins and LTP isn't change under the manganese action. The manganese binds previously with LTP, specifically with metallothioneins. The manganese content in the LTP is increased under the intoxication. But the properties of MT aren't significantly change under the control value.

Надійшло 12.01.2001

УДК 546:597.554:547.963.3

В.З. Курант

Тернопільський державний педагогічний університет ім. Володимира Гнатюка
46027 Тернопіль, вул. М. Кривоноса,2

ВПЛИВ ПІДВИЩЕНИХ КОНЦЕНТРАЦІЙ СВИНЦЮ НА ДИНАМІКУ ВМІСТУ БІЛКІВ І НУКЛЕЇНОВИХ КИСЛОТ В ОРГАНІЗМІ КОРОПА

прісноводні риби, свинець, білки, нуклеїнові кислоти

Спостереження останніх років свідчать про те, що біологічна специфіка поверхневих водойм, яка значною мірою визначає якість води в них, пов'язана не тільки з концентрацією азоту, фосфору, сірки, кремнію та інших біогенних елементів, але і з вмістом біометалів та

забруднювачів поверхневих вод суші (ртуть, свинець, кадмій та інші).

Свинець є одним із найсильніших токсикантів для всіх організмів. Значне підвищення вмісту свинцю в оточуючому середовищі зумовлене його широким використанням у промисловості. Зокрема, важливими джерелами забруднення поверхневих вод сполуками цього металу є спалювання вугілля, застосування тетраетилсвинцю як антидетонатора у моторному паливі, а також винесення його у водойми разом із стічними водами металургійних, хімічних виробництв і шахт [7].

Встановлено, що неорганічні сполуки свинцю порушують обмін речовин і виступають інгібіторами ферментів [8]. Довготривале вживання води навіть з низьким вмістом цього металу викликає хронічне отруєння з досить різноманітними проявами: ураженням центральної та периферичної нервової системи, кісткового мозку і крові, судин, порушенням синтезу білків та генетичного апарату клітини, а також здійснює гонадотоксичну і ембріотоксичну дію [3].

Метою нашої роботи було вивчення впливу іонів двовалентного свинцю на вміст білків та нуклеїнових кислот в тканинах коропа (*Cyprinus carpio* L.) — важливого промислового виду прісних водойм.

Матеріали і методи досліджень

Досліди здійснювалися на коронах дворічного віку. Риб масою 250-300 г поміщали в 200-літрові акваріуми за температури води 12 °С. Дослідні групи риб перебували у воді, де концентрація Pb²⁺, внесених у вигляді нітрату, складала 0,2 та 0,5 мг/л, що відповідає 2 та 5 рибогосподарським ГДК. Контрольна група утримувалася в аналогічних умовах без додавання солі металу. Через 14 днів риб забивали і проби печінки, м'язів та крові брали для аналізу.

Нуклеїнові кислоти визначали спектрофотометрично за Цанєвим і Марковим [10], вміст загального білку біуретовим методом [1], а білок у фракціях нуклеїнових кислот за методом Лоурі та співаві. [13].

Отримані цифрові дані опрацьовували статистично [6].

Результати досліджень та їх обговорення

Встановлено, що за 14 добової аклімації риб до різних концентрацій свинцю у воді (2 та 5 ГДК) в їх тканинах змінюється вміст білків та нуклеїнових кислот, а також порушується обмін цих речовин. Так, зокрема, відмічено збільшення вмісту РНК в печінці на 15,9% при 2 ГДК і на 60,7% при 5 ГДК металу (табл. 1). У м'язах її кількість зменшувалася на 4,3% при 2 ГДК і збільшувалася на 15,0% при 5 ГДК. Щодо крові, то вміст РНК в ній знижувався під впливом обох досліджуваних концентрацій свинцю на 20,0% і 16,8% відповідно.

Таблиця 1

Вплив іонів свинцю на вміст нуклеїнових кислот у тканинах коропа (мг % Р, М±m, n=5)

Група риб	РНК	ДНК	РНК:ДНК
Печінка			
Контроль	45,72 ± 1,69	20,50 ± 0,96	2,23 ± 0,11
2 ГДК	53,01 ± 4,80	23,00 ± 1,73	2,42 ± 0,11
5 ГДК	73,49 ± 6,19*	29,50 ± 1,26*	2,50 ± 0,19
М'язи			
Контроль	13,04 ± 0,36	6,40 ± 0,24	2,04 ± 0,08
2 ГДК	12,48 ± 0,81	6,00 ± 0,00*	2,18 ± 0,10
5 ГДК	15,00 ± 0,52*	7,40 ± 0,24*	2,04 ± 0,11
Кров			
Контроль	26,65 ± 0,99	31,60 ± 0,98	0,85 ± 0,05
2 ГДК	21,32 ± 1,90*	32,00 ± 2,53	0,66 ± 0,02*
5 ГДК	22,16 ± 0,69*	42,50 ± 1,73*	0,50 ± 0,01*

Примітка. * - Різниця вірогідна порівняно з контролем (P<0,05)

Кількість ДНК у печінці зростає на 12,2% за вмісту металу у воді 2 ГДК та на 43,9% при 5 ГДК. У м'язах відхилення від контролю в концентрації ДНК менш значні. Кількість цієї

нуклеїнової кислоти дещо знижується при 2 ГДК (на 6,2%) і зростає при 5 ГДК (на 15,6%). Щодо крові, то тут ми спостерігали зростання вмісту ДНК на 34,5% за концентрації іонів свинцю у воді при рівні 5 ГДК. 2 ГДК металу практично не призводить до зміни вмісту ДНК в крові.

Різна кількість нуклеїнових кислот у тканинах риб може свідчити про тканинну специфічність їх вмісту. Однак поряд з цим, підвищена концентрація цих біополімерів, згідно з літературними даними [2], вважається показником посиленої життєдіяльності клітини, що обов'язково супроводжується більш інтенсивним обміном речовин.

Відомо, що іони металів, зв'язуючись з фосфатними групами або основами нуклеїнових кислот, впливають на електронну взаємодію та ініціюють конформаційні перебудови білкових молекул. При цьому, вступаючи у зв'язок з молекулами ДНК, вони впливають на активність геному [16]. Є дані про те, що точність синтезу ДНК визначається іонами активаторами деяких металів [15]. Літературні дані [14], а також результати наших досліджень свідчать про тканинну специфічність зв'язування металів з молекулами нуклеїнових кислот. Отже, одержані дані вказують на те, що іони свинцю активно впливають на вміст та обмін нуклеїнових кислот у тканинах коропа. Більш суттєві зміни спостерігаються в печінці та крові. М'язи є менш чутливими щодо впливу токсиканту.

У результаті дії іонів свинцю в печінці та крові змінюється також співвідношення РНК/ДНК. У печінці воно збільшується на 8,5% при концентрації металу 2ГДК і на 12,1% при 5 ГДК. У крові, навпаки, цей показник зменшується (на 22,3% при 2 ГДК і на 41,2% при 5 ГДК), а в м'язах практично не змінюється. Величина співвідношення РНК/ДНК може відображати транскрипційну здатність геному [4]. Високе значення цього показника вказує на більш високі потенційні білоксинтегичні можливості цієї тканини, і навпаки. Іони свинцю впливають на величину цього співвідношення, а, отже, і на активність згаданого процесу. Як видно із наших досліджень, в результаті дії підвищених концентрацій іонів свинцю зростає інтенсивність синтезу білків в печінці, а знижується в крові. М'язова тканина є більш консервативною і практично не реагує на дію токсиканту.

У вивченні впливу іонів свинцю на вміст різних форм білків також виявлені певні зміни (табл. 2). Зокрема, відмічено зростання кількості загального білка в печінці при обох концентраціях металу, що узгоджується з даними авторів [11], які за дії токсикантів також спостерігали посилення біосинтезу білків в цьому органі. Дане явище, можливо, пов'язане з утворенням захисних білків металотіонейнів [12], високий вміст і специфічне розміщення сульфгідрильних груп в молекулах яких забезпечує можливість надійного зв'язування іонів металів [5]. В м'язах цей показник незначною мірою зменшувався в обох концентраціях металу у воді, а в крові залишався незмінним при 5 ГДК і зростав на 5,5% при 2 ГДК.

Таблиця 2

Вплив іонів свинцю на вміст білків в тканинах коропа (г %, $M \pm m$, $n=5$)

Група риб	Загальний білок	РНП	ДНП
Печінка			
Контроль	11,22 ± 0,40	7,00 ± 0,14	1,62 ± 0,04
2 ГДК	11,45 ± 0,33	6,87 ± 0,26	1,52 ± 0,07
5 ГДК	12,17 ± 0,69	7,42 ± 0,17	1,60 ± 0,07
М'язи			
Контроль	15,08 ± 0,24	9,40 ± 0,20	2,17 ± 0,06
2 ГДК	14,84 ± 0,79	9,17 ± 0,30	2,16 ± 0,03
5 ГДК	14,92 ± 0,27	9,30 ± 0,17	2,16 ± 0,04
Кров			
Контроль	12,26 ± 0,78	5,65 ± 0,10	1,67 ± 0,04
2 ГДК	12,94 ± 0,64	5,27 ± 0,16	1,52 ± 0,06
5 ГДК	12,22 ± 0,81	5,55 ± 0,20	1,69 ± 0,09

Певний інтерес становить вивчення вмісту в тканинах білків, зв'язаних з нуклеїновими кислотами, тобто визначення кількості білків у гідролізатах нуклеопротеїдів [9]. У вивченні білків у фракціях нуклеїнових кислот практично не виявлено змін у концентрації білку ДНК у

всіх досліджуваних тканинах. Білок РНК в печінці має тенденцію до зниження при 2 ГДК і до зростання при 5 ГДК. Аналогічна закономірність простежується і щодо кількості білків у складі рибонуклеопротеїду в крові. В м'язах, кількість білку РНК знижується при обох ГДК металу, при цьому значніше при 2 ГДК.

Виявлено, що в різних тканинах вміст білків у складі нуклеопротеїдних комплексів різний, що, ймовірно, пов'язано із функціональною специфікою останніх. Крім зазначеного, слід відмітити те, що більша частина білків у досліджуваних тканинах зв'язана з фракцією РНК. У фракції ДНК їх значно менше.

Висновки

Підвищені концентрації іонів свинцю у водному середовищі (2 та 5 ГДК) впливають на вміст та обмін білків і нуклеїнових кислот в тканинах коропа, що призводить до порушення клітинного метаболізму в організмі риб. Одержані дані можуть бути використані як об'єктивні засоби біомоніторингу, а також для розробки ефективних протекторів до токсичної дії сполук свинцю.

ЛІТЕРАТУРА

1. Бейли Д. Методы химии белков. — М.: Мир, 1965. — 266 с.
2. Белозерский А.М. Биохимия нуклеиновых кислот и нуклеопротеидов. — М.: Наука, 1976. — 295 с.
3. Вредные химические вещества. Справочник / Под ред. В.А. Филова. — Л.: Химия, 1988. — 420 с.
4. Зусман М. Биология развития. — М.: Мир, 1977. — 301 с.
5. Коновалов Ю.Д. Связывание кадмия и ртути низкомолекулярными тиоловыми соединениями рыб (обзор) // Гидробиол. журн. — 1993. — Т. 29, № 1. — С. 42-51.
6. Дакин Г.Ф. Биометрия. — М.: Высшая школа, 1990. — 351 с.
7. Динчик П.П., Набиванец Б.И. Формы миграции металлов в пресных поверхностных водах. — Л.: Гидрометеониздат, 1986. — 270 с.
8. Никаноров А.М., Жулидов А.В., Покаржевский А.Д. Биомониторинг тяжелых металлов в пресноводных экосистемах. — Л.: Гидрометеониздат, 1988. — 143 с.
9. Серсенов А.С. О количественном определении белка в пробе ткани, использованной для экстрагирования нуклеиновых кислот // Тр. И-та эксперим. биол. АН Каз. ССР — 1977. — Вып. 12. С. 127-129.
10. Цанев Р.Г., Марков Г.Г. К вопросу о количественном спектрофотометрическом определении нуклеиновой кислоты // Биохимия. — 1960. — Т. 25, Вып. 1. — С.151-159.
11. Arioshi T., Shiba S., Hasegawa H., Arizono K. Profite of metallbinding proteins and heme oxygenase in red carp treated with heavy metals, pesticides and surfactants // Bull. Environ. Contam. and Toxicol. — 1990. Vol. 44, № 4. — P. 643-649.
12. Hamer D. H. Metallothionein // Ann. Rev. Biochem. — 1986. — Vol. 55. — P. 913-951.
13. Lowry O. H., Rosebrough H. J., Farr A. L., Randall R. J. Protein measurement with the Folin phenol reagent // J. Biol. Chem. — 1951. — Vol. 191, № 1. — P. 265-275.
14. Shack J., Jenkins R.G., Thompsett J.M. The interaction of ions and desoxyntose nucleic of colb thymus // J. Biol. Chem. — 1953. — Vol. 203, № 1. — P. 373-387.
15. Sirver M.T., Loeb H.A. Metal activation of DNA synthesis // Biochem. and Biophys. Res. Commun. — 1976. — Vol. 70, № 3. — P. 812-817.
16. Sissoeff J., Zrisverd J. Studies of metal ions-DNA interactions: specific behavior of DNA sequences // Progr. Bophys. And mol. Biol. — 1976. — Vol. 31, № 2. — P. 165-199.

V.Z. Kurant

INFLUENCE OF HIGHER CONCENTRATION OF LEAD ON THE CONTENT OF PROTEINS AND NUCLEIC ACIDS IN CARP ORGANISM

The influence of higher concentrations of lead (0,2 and 0,5 mg/l) on the content of proteins and nucleic acids in liver, muscles and blood of two-year-old carps has been studied. After the 14-day acclimation a little decrease of the content of RNA in liver and muscles and DNA in liver and blood had been observed with the concentrations studied. While the content of general protein has increased in liver. As a result of the influence of lead ions the metabolic activity of the studied tissues has been changing.

Надійшло 12.01. 2001