

После извлечения из респирометра рыб (опыт) у них брали кровь, пункцией хвостовой вены. Параллельно брали кровь у рыб (контроль), которые содержались в бассейнах с проточной морской водой. Аутогенная гипоксия приводит к увеличению гематокрита у всех исследованных видов рыб, причем у скорпены этот сдвиг оказался самым высоким и составил 128%, у ласкиря — 118%, а у ставриды — 108% от уровня контроля. Изменения по содержанию глюкозы в крови при гипоксии у рыб также показали, что с ростом подвижности увеличение концентрации этого углевода менее значительны. Так у скорпены рост концентрации глюкозы при гипоксических условиях был самым большим и составил 205%, у ласкиря — 170%, а у ставриды не было отмечено достоверного увеличения концентрации этого углевода.

При аутогенной гипоксии концентрация  $\text{Na}^+$  в эритроцитах рыб имела тенденцию к росту (на 20-30%), а концентрация  $\text{K}^+$  в этих условиях заметно снижалась (на 10-20%). Причем, потери  $\text{K}^+$  в эритроцитах скорпены были самыми значительными и составили 23%, в эритроцитах ласкиря эти потери не превышали 10%, а в эритроцитах ставриды достоверного падения концентрации  $\text{K}^+$  не было отмечено. Натрий в эритроцитах скорпены возрастал на 17%, у ласкиря прирост натрия не был достоверен, а в эритроцитах ставриды концентрация этого катиона возрастала на 28%.

Полученные результаты указывают на различную величину отклонений исследованных параметров крови рыб разной подвижности в ответ на гипоксию. Так, у более устойчивой к гипоксии малоподвижной скорпены отмечено существенное увеличение гематокрита, уровня глюкозы крови и падение концентрации  $\text{K}^+$  в эритроцитах по сравнению с подвижными видами рыб. У промежуточного по двигательной активности ласкиря эти изменения менее значительны. Еще менее существенны изменения показателей крови у быстро плавающей ставриды, что свидетельствовало об отсутствии резервов у этого вида для перенесения гипоксических состояний. В опытах, ставрида, уже после перехода критического порога 60-50% от исходного насыщения кислородом, впадала в оцепенение и теряла ориентацию.

Полученные результаты показали, что такие параметры крови как гематокрит, глюкоза и одновалентные катионы могут служить индикаторами устойчивости рыб к гипоксическим режимам, а величина этих изменений является критерием этой устойчивости.

УДК 577. 41/46 + 597. 554

**А.С. Смольский**

Черниговский государственный педуниверситет, г. Чернигов

## **ПОСТТРАНСЛЯЦИОННЫЕ МОДИФИКАЦИИ БЕЛКОВ КРОВИ РЫБ ПРИ ЭКСТРЕМАЛЬНЫХ ВОЗДЕЙСТВИЯХ ФАКТОРОВ ВНЕШНЕЙ СРЕДЫ**

Известно, что действие токсичных веществ вызывает в организме животных изменения структурно-функциональных характеристик белков, в том числе и гемоглобина, что используется для тестирования патологических состояний [3]. Токсиканты могут влиять на белки крови как прямо, так и косвенно. Последнее можно установить, рассматривая возможные модификационные процессы, которые используются организмом для поддержания высших уровней структуры белков. Изучалось токсичное воздействие на систему гемоглобина ионов тяжелых металлов (свинца, меди, цинка, марганца и магния) отдельно и в смесях с аммиаком на уровне 2-х ПДК.

Показателем стабильности макроструктуры белков может быть изменение степени амидирования [2]. Установлено, что степень амидирования гемоглобина как показателя стабильности макроструктуры этого белка увеличивается в большинстве случаев токсических воздействий, за исключением влияния ионов меди и цинка. Известно, что при токсичных воздействиях прежде всего изменяется количество легкогидролизуемых амидных групп аспарагина [2], количество которого увеличено и делается вывод о его стабилизирующей роли для гемоглобина при действии ионов свинца, марганца, а также смесей аммиака с ионами марганца и магния. Снижение амидированности гемоглобина в остальных случаях свидетельствует о наличии в крови рыб других компенсаторных механизмов защиты белков от стрессирующих агентов. Первоочередное значение в этих случаях, вероятно, играет глюкозо-аланиновый путь детоксикации аммиака, усиление которого установлено при влиянии аммиака отдельно и в смеси с ионами свинца [3]. Кроме этого, снижение уровня амидных групп гемоглобина может быть связано с повышением защитной роли эритроцитарной мембраны. Установлено, что аммиак как фактор прямого

амидирования 4-кратно увеличивает амидированность гемоглобина, но мало влияет на содержание амидных групп в белках плазмы. Поэтому в условиях аммиачной интоксикации для снижения уровня аммиака активируются все защитные системы его связывания и удаления [3]. В противном случае повышенное амидирование аминокислотных радикалов белков будет сопровождаться дополнительным защелачиванием клеток.

Дополнительным механизмом защиты функциональной активности белков является содержание сульфгидрильных групп белков. Установлено, что увеличение количества восстановленных тиоловых групп в крови наблюдается в случаях влияния смеси аммиака с ионами свинца, ионов марганца отдельно и в смеси с аммиаком, ионов меди и цинка. Кроме этого, имеет место обратная зависимость между уровнем амидных групп и содержанием в белках сульфгидрильных остатков, что наиболее ярко выражено при влиянии ионов меди, цинка (степень амидированности снижается, а число SH-групп увеличивается). В случаях действия ионов металлов это позволяет предположить преобладание механизмов защиты белков крови от токсикантов путем экранирования их карбоксильных групп за счет амидированности. Снижение количества сульфгидрильных групп отмечено для случаев влияния аммиака отдельно и в смеси с ионами магния, ионов свинца. Снижение их содержания при действии ионов свинца может быть связано с тем, что, по мере его связывания, происходит увеличение легкогидролизуемых амидных групп, в связи с чем достигается эффект поддержания целостности заряда и структуры молекулы гемоглобина. При действии ионов меди и цинка увеличение числа сульфгидрильных групп приводит к снижению степени амидированности гемоглобина, что позволяет сделать вывод об отличии механизмов защиты белков крови при влиянии разных ионов тяжелых металлов. При влиянии ионов марганца наблюдается увеличение как степени амидированности гемоглобина, так и числа белковых сульфгидрильных групп белков. Усиление амидированности гемоглобина позволяет предположить о большей значимости именно этого процесса.

Кроме того, рассмотрены реакции комплексообразования гемоглобина с углеводными компонентами [4], в частности степень его гликирования. Установлено, что % гликирования гемоглобина зависит от физико-химических свойств токсиканта. Так, при действии свинца, аммиака и его смеси с ионами магния этот показатель снижается. В остальных случаях уровень гликированных белков крови увеличивается.

Считаем, что между степенью амидированности и % гликированных белков существует определенная зависимость. Увеличение доли гликированного гемоглобина в случаях влияния ионов меди и цинка при значительном снижении степени их амидированности свидетельствует о преобладающей роли гликирования белков для защиты функциональных групп от необратимого связывания их ионами меди и цинка и полного ингибирования функциональной активности этих белков. В случае действия ионов свинца уменьшение доли гликированных белков свидетельствует о незначительной роли этой модификации для стабилизации белков. В данном случае увеличивается степень амидированности гемоглобина.

Заключаем, что возможно существование нескольких механизмов защиты структурно-функциональной целостности молекул белков при действии различных стресс-факторов. Кроме того, необходимо отметить, что динамика рассматриваемых показателей во многом определяется физико-химическими свойствами токсиканта. При этом роль структурных модификаций определяется силой их биологического действия. По этому принципу изучаемые токсиканты можно разбить на 3 группы.

1. При действии ионов свинца основная роль в защите белковых молекул принадлежит SH-группам, которые, связывая молекулы токсиканта, снижают его доступ к функционально активным центрам. Последние за счет увеличения уровня легкогидролизуемых амидных групп гемоглобина дополнительно повышают устойчивость белка к действию токсиканта. В эту же группу можно отнести аммиак, ионы магния. При влиянии аммиака сульфгидрильные группы могут использоваться как доноры протонов для поддержания кислотно-основного состояния крови, а также для перевода аммиака в ионизованную (менее токсичную форму) форму.

2. При действии ионов меди и цинка функционирует другой механизм, заключающийся не в прямом связывании ионов металлов, а в конформационных перестройках белковых молекул. Последнее выражается в увеличении содержания сульфгидрильных групп, снижении степени амидированности (вследствие потери легкогидролизуемых амидных групп аспарагина) и интенсификации степени гликирования этого амида. В этих случаях основной защитный эффект обеспечивает гликирование.

3. Действие ионов марганца можно охарактеризовать как активирующее, выражающееся в увеличении активности всех механизмов. Однако увеличение % гликирования и уровня сульфгидрильных групп может свидетельствовать об экранирующем механизме защиты структурно-функциональной целостности белков крови.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Грубінко В. В. Адаптивні реакції риб до дії аміаку водного середовища: Автореф. дис... д-ра біол. наук: 03. 00. 18, 03. 00. 04 / Інститут гідробіол. НАН України. — К. . 1995. — 44 с.
2. Пушкіна Н. В. Амидированность белков при старении организма // Укр. биохим. журн. — 1979. — Т. 51, № 6. — С. 680-683.
3. Семенчева Э. М. Типы гемоглобинов в норме и при воздействии на организм некоторых химических веществ: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук: 765 / АН УССР. Ин. — т физиол. им. А. А. Богомольца. — К., 1972. — 54 с.
4. Fluckiger R., Wilterhalter K. In vitro synthesis of hemoglobin A<sub>1c</sub> // FEVS Lett. — 1976. — Vol. 71, № 2. — P. 356.

УДК 591.1 + 594.1:591.4 + 597.5; 591.133.1

**Я. Шивокене, Л. Мицкенене, Г. Воверене, Р. Янкаускене**

Институт экологии, Академис 2, г. Вильнюс, Литва

## МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ В ЭКОСИСТЕМЕ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОГО ТРАКТА ГИДРОБИОНТОВ

Представляется новое научно-практическое направление в области экологической гидробиологии и физиологии гидробионтов, которое является важным вкладом в разработку научных основ прогнозирования процессов, происходящих в бактериоценозах экосистемы пищеварительного тракта у гидробионтов.

Нами установлены закономерности формирования бактериоценозов пищеварительного тракта ракообразных, моллюсков, рыб (пресноводных и морских). Исследованы отношения между гидробионтами и микроорганизмами их пищеварительного тракта. Изучены функции кишечных бактерий, трофические связи между бактериальным населением биотопа, животными и бактериями их пищеварительного тракта. Выявлена специфика формирования микробоценозов пищеварительного тракта гидробионтов при различном спектре питания. Установлены закономерности формирования микробоценозов пищеварительного тракта гидробионтов с учетом влияния окружающей водной среды.

Микробиологические исследования пищеварительного тракта проводили методом *in vitro*, главное преимущество которого заключается в том, что с его помощью можно исследовать функциональную и биохимическую деятельность кишечной бактериальной флоры животного и симбиоза как процесса взаимоотношения партнеров друг от друга.

Нами установлено, что численность бактерий в пищеварительном тракте гидробионтов подвержена значительным колебаниям, зависящим от состава пищи, специфики бактериофлоры окружающей среды, возраста и физиологического состояния гидробионтов (питание, голодание). Показано, что микрофлора пищеварительного тракта гидробионтов при всем своем разнообразии представлена бактериями, попадающими и размножающимися безотносительно от процесса симбиоза, и специфическими формами, характеризующимися сравнительным постоянством и доминантностью присутствия в пищеварительном тракте макроорганизмов. Нами доказано, что симбионты не только обеспечивают расщепление некоторых компонентов пищи, не могущих перевариваться организмом-хозяином, но и снабжают его продуктами собственного метаболизма. Способность бактерий пищеварительного тракта продуцировать аминокислоты, используемые гидробионтами, особенно важно в зимнее время, когда питание в значительной мере становится эндогенным.

Нами установлено, что микрофлора внешней среды и содержимого пищеварительного тракта резко различна не только количественными показателями, но и по-своему составу. Это подтверждает специфичность микрофлоры, адаптацию отдельных групп бактерий к условиям пищеварительного тракта и к сожительству с гидробионтами. Значительная часть бактерий не переваривается даже в условиях длительного голодания гидробионтов.

В результате исследований трофических взаимоотношений между макро и микроорганизмами нами установлено значение кишечной микрофлоры в процессах пищеварения гидробионтов [1, 2, 3]. Нами обосновано, что микроорганизмы, попадающие в пищеварительный тракт исследованных гидробионтов не только используются различными животными в качестве достаточно полноценного пищевого компонента, но и размножаются в кишечнике, принимая активное участие в процессах переваривания естественной пищи и искусственных кормов. Количественные параметры бактериоценоза пищеварительного тракта гидробионтов обусловлены интенсивностью питания и составом потребляемой пищи, а качественные — составом пищи. В ряде экспериментов нами выявлены два основных механизма — экскреция бактериями ферментов, участвующих в разложении различных компонентов пищи