

УДК 563:577.112.82

Ю.В. СИНЮК, Ф.А. ПРИБІЧ

Тернопільський національний педагогічний університет ім. Володимира Гнатюка
вул. Кривоноса, 2, Тернопіль 46027, Україна

ФРАКЦІЙНИЙ СКЛАД БІЛКІВ *DAPHNIA MAGNA* STRAUS ЯК БІОМАРКЕР ІНТОКСИКАЦІЇ ВАЖКИМИ МЕТАЛАМИ

Ключові слова: *Daphnia magna*, біоіндикація, важкі метали, білки, альбумін, глобуліни

Відомо, що між хімічним складом води білковим складом крові риб є взаємозалежність [3, 6]. Встановлено кількісні і якісні зміни білків крові риб за дії іонів важких металів та ряду органічних токсикантів [7, 8]. У відповідь на дію токсикантів насамперед відбуваються зміни фракційного складу білків гідробіонтів. Їх визначення може бути зручним та інформативним методом встановлення якості водного середовища та успішності перебування у ньому організмів. Показано, що перспективними є дослідження щодо та абсолютного вмісту фракцій водорозчинних білків [2]. Досліджуючи динаміку змін преальбуміну, альбуміну, α , β , і γ -глобулінів, можна визначити внесок окремих гілок метаболізму у адаптивні реакції, а також визначити тип токсиканту, його концентрацію та тривалість дії [7].

Метою нашого дослідження був порівняльний аналіз фракційного розподілу білків у організмі *Daphnia magna* за дії підвищених концентрацій іонів важких металів.

Матеріал і методи досліджень

Як об'єкт досліджень використано дорослих особин *Daphnia magna* Straus однакового розміру, каліброваних за допомогою металевих сит. Інтотоксикацію моделювали внесенням у воду акваріумів, де знаходились дослідні групи дафній, розчинених солей $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$, $MnCl_2 \cdot 2H_2O$, $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ та $Pb(NO_3)_2$ до досягнення концентрацій іонів досліджуваних металів, що відповідали 2 і 5 санітарно-гігієнічним ГДК.

Вміст кисню у воді акваріумів підтримували на рівні 7,0-8,0 мг/дм³, диоксиду вуглецю – 2,2–2,8 мг/дм³. Величина рН коливалась в межах 7,7–7,9. Температура води становила 12±2°C. Контрольні групи дафній витримували в аналогічних умовах, однак без присутності вищевказаних металів. Під час досліду дафній не годували.

Дафній підсушували на фільтрувальному папері та гомогенізували у скляному гомогенізаторі, після чого центрифугували 15 хв при 3000 об/хв і відбирали супернатант.

Для досліджень білкових фракцій водорозчинних білків дафній використовували “Діагностичний набір для електрофоретичного розділення білків сироватки крові на агарозі Comau gel protein 100” виробництва фірми Comau (Австрія).

Гомогенат дафній без розведення у кількості 5 мкл наносили на фірмову пластинку, покриту агарозою, за допомогою спеціального трафарету. Електрофорез здійснювали у камері для електрофорезу виробництва фірми Comau протягом 20 хв. при напрузі 100В. Розшифровку фореграм здійснювали на денситометрі цієї ж фірми. Результати обробляли статистично з використанням комп'ютерної програми Excel на основі методів варіаційної статистики [4].

Результати досліджень та їх обговорення

За незначного терміну експозиції переважно відбуваються зміни кількості білків гострої фази. Їх можна виявити досить швидко після внесення у середовище токсикатів. Їх роль полягає в основному в участі у неспецифічних реакціях, спрямованих на виведення пошкоджуючого чинника, локалізацію пошкодження, відновлення порушених структур і функцій [10, 12]. Тому ми досліджували відносний вміст преальбумінів, альбумінів, α , β , γ -глобулінів, що дає змогу визначити, які конкретно білки гострої фази беруть участь у адаптивних реакціях відповіді організму на дію важких металів.

Преальбумін – один з найбільш лабільних білків. Він належить до негативних білків гострої фази, а у відповідь на дію стрес-факторів його рівень знижується [10]. Завдяки тому, що співвідношення у ньому незамінних амінокислот до замінних – одне з найвищих серед усіх білків організму, його можна використовувати як маркер синтезу білків [10]. Зниження його вмісту свідчить про білкову недостатність організму. У наших дослідженнях зниження вмісту

преальбумінів спостерігалось у всіх випадках (рис.). Чим довше дафнії перебували у токсичному середовищі, тим сильніше відбувалось зниження вмісту преальбумінів.

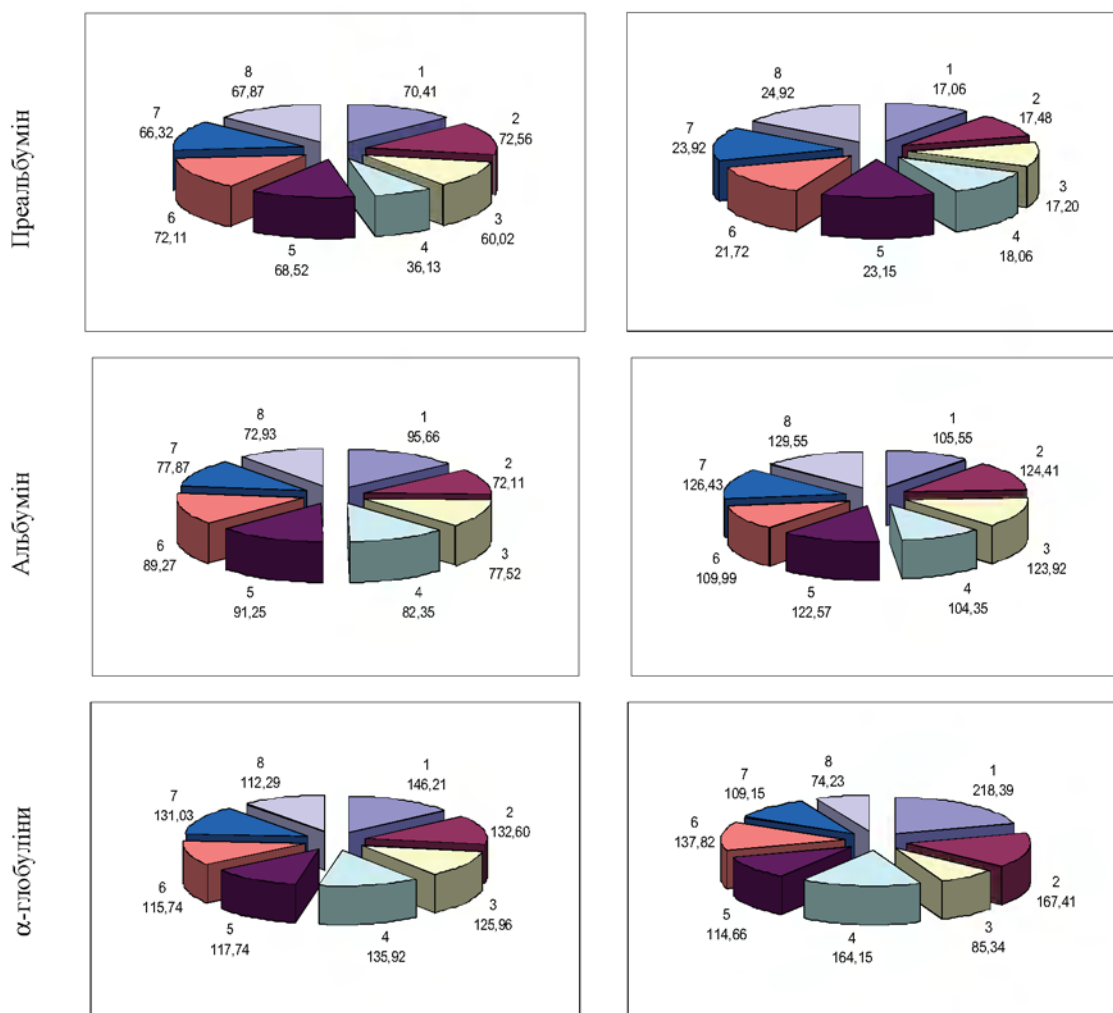
Альбуміни беруть участь в підтриманні онкотичного тиску і об'єму крові, а також відповідають за транспорт і депонування ряду речовин, з якими утворюють розчинні комплекси [9]. Альбумін є значним резервом амінокислот. Кількість альбумінів знижується при інтенсифікації обміну речовин [1, 5]. У наших дослідженнях зниження вмісту альбуміну спостерігалось лише за дії металів протягом 24 год. У дослідях з більшим терміном експозиції у дафній кількість альбуміну зростала. Відомо, що за умов інтоксикації гідробіонтів важкими металами відбувається інтенсифікація використання вільних амінокислот, що може бути причиною зростання кількості альбуміну [6]. Крім того, зростання вмісту альбуміну свідчить про дегідратацію організму на фоні збільшення у них концентрації іонів металів [9].

Вміст α -глобулінів у дафній зростав за дії всіх досліджуваних металів протягом 24 год, а знижувався лише за 2 ГДК марганцю та 5 ГДК свинцю протягом 72 год.. Найбільше зростання спостерігали за дії солі міді.

Частка β -глобулінів за дії на *Daphnia magna* всіх металів у досліджуваних концентраціях протягом 24 год зростала у 12-18 разів проти контрольних значень. Очевидно, це є неспецифічною реакцією організму на токсичний стрес. Відомо, що до складу цієї фракції входить С-реактивний білок, вміст якого може збільшуватись від кількох до тисячі разів [11].

Експозиція 24 год.

Експозиція 72 год.



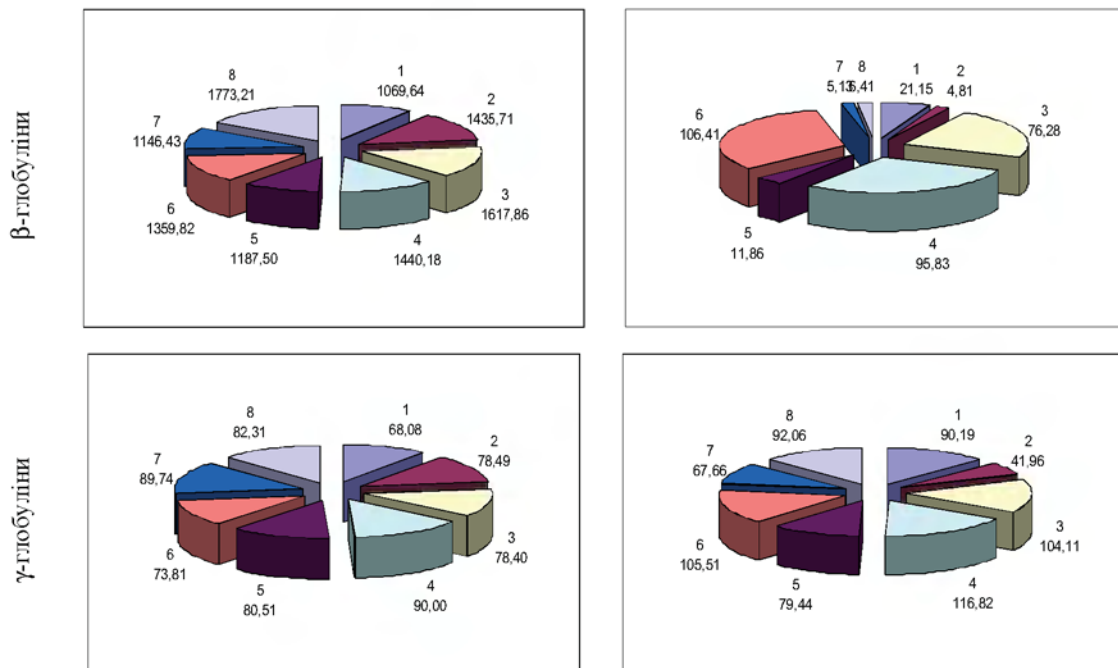


Рис. Вплив іонів важких металів на фракційний розподіл білків *Daphnia magna* (% від контролю)

Примітки: 1 – мідь 2 ГДК, 2 – мідь, 5 ГДК; 3 – марганець, 2 ГДК; 4 – марганець, 5 ГДК; 5 – цинк, 2 ГДК; 6 – цинк, 5 ГДК; 7 – свинець, 2 ГДК; 8 – свинець 5 ГДК.

Тому, очевидно, значне зростання частки β-глобулінів зумовлено його синтезом. Оскільки термін напіввиведення цього білка є досить малим, при переході до наступних фаз адаптації його рівень різко зменшується аж до повного зникнення. Значне зниження частки білків цієї фракції проти контролю при експозиції 72 год. за дії міді та свинцю у обох концентраціях та цинку за дії 2 ГДК може бути пов'язано з трансферином, що є негативним білком гострої фази [10, 12].

Фракція γ-глобулінів складається з імуноглобулінів, що забезпечують гуморальний імунітет [10]. Зниження їх вмісту, що переважно спостерігається за дії важких металів, свідчить про зниження опірності організму. Зростання відмічено лише за дії свинцю при експозиції 72 год, що може бути результатом зменшення продукції білків інших фракцій з меншою молекулярною масою.

Висновки

Отже, зміни, що виникають за дії іонів важких металів, залежать від терміну експозиції, концентрації токсиканту та його біологічної агресивності. Добрим біомаркером можна вважати зміни щодо вмісту фракцій преальбумінів та β-глобулінів. Використані для моделювання інтоксикації метали показали однакову токсичність: найбільше досліджувані показники змінювались за дії міді та свинцю, менше – за дії цинку та марганцю. Вищі концентрації токсикантів викликали більші зміни показників білкового обміну.

1. Кузьмина В.В. Электрофоретическое изучение белков сыворотки крови рыб при длительном голодании / В.В. Кузьмина // Гидробиол. журн. – 1966. – Т. 2, № 4. – С. 74–77.
2. Курант В.З. Роль білкового обміну в адаптації риб до дії іонів важких металів : автореф. дис. ... докт. біол. наук : 03.00.10 "Іхтіологія" / В.З. Курант. – Київ, 2003. – 43 с.
3. Лукьяненко В.И. Альбуминовая система сыворотки крови разных по экологии видов осетровых рыб / Лукьяненко В.И., Хабаров М.В. – Ярославль: ВВО РЭА, 2005. – 232 с.
4. Метелев В.В. Водная токсикология / В.В. Метелев, А.И. Канаев, Н.Г. Дзасохова. – М.: Колос, 1971. – 247 с.
5. Остроумова И.Н. Белковый состав сыворотки крови лососевых рыб / И.Н. Остроумова // Обмен веществ и биохимия рыб. – М.: Наука, 1967. – С. 283–290.
6. Ситюк Ю.В. Обмін амінокислот і фракційний склад білків у організмі коропа за дії іонів марганцю, цинку, міді та свинцю : автореф. дис. ... канд. біол. наук . 03.00.04 "Біохімія" / Ю.В. Ситюк. – Львів, 2004. – 19 с.

7. Ситюк Ю.В. Фракционный состав белков *Daphnia Magna* под влиянием органических токсикантов / Ю.В. Ситюк // Сов. рем. пробл. физиол. и биохим. водных организмов : Мат. 2-й науч. междунар. конф., 11-14 сентября 2007. – Петрозаводск, 2007. – С. 141–142.
8. Фракційний склад білків *Daphnia magna* Straus за дії іонів важких металів / Ю.В. Ситюк, О.В. Ситюк, І.М. Коновець, В.В. Грубінко // Наук. зап. Терноп. нац. пед. ун-ту ім. В. Гнатюка. Сер. Біологія. Спец. випуск „Гідроекологія”. – 2005. – № 3(26). – С. 395–397.
9. Чезър С.И. Транспортная функция сывороточного альбумина / С.И. Мегер. – Бухарест.: Узд-во Академии Соц. респ. Румынии, 1975. – 183 с.
10. Шевченко О.П. Характеристика и клиническое значение белков острой фазы воспаления // Лаборант. диагностика / О.П. Шевченко. – М.: Реафарм, 2005. – 137–143.
11. Baumann H. The acute phase response / H. Baumann, J. Gauldie // Immunologie Today. – 1994. – N 2. – P.74–80.
12. Koj A. Metabolic studies of acute-phase proteins / A. Koj / Pathophysiology of plasma protein metabolism. – 1984. – P. 221–248.

Ю.В. Ситюк, Ф.А. Прибич

Тернопольский национальный педагогический университет им. Владимира Гнатюка, Украина

ФРАКЦИОННИЙ СОСТАВ БЕЛКОВ *DAPHNIA MAGNA* STRAUS КАК БИОМАРКЕР ИНТОКСИКАЦИИ ТЯЖЕЛЫМИ МЕТАЛЛАМИ

Електрофоретически дослідували розподілення білків у *Daphnia magna* як методу біоіндикації. Змінення вмісту β -глобулінів і преальбуміну можуть бути використані для експрес-оцінки забруднення водної середовища іонами важких металів.

Ключові слова: *Daphnia magna*, біоіндикація, важкі метали, білки, альбуміни, глобуліни

Y.V. Sytyuk, F.A. Pribich

Ternopil National Volodymir Hnatiuk Pedagogical University, Ukraine

COMPOSITION OF *DAPHNIA MAGNA* STRAUS PROTEIN FRACTIONS AS BIOMARKER OF HEAVY METALS INTOXICATION

Daphnia magna proteins electroforetic distributing bioindication method efficiency is analyzed and recommended for application to estimating toxicity of heavy metals ions in water. The high level changes of β -globulins and prealbumin can be used for diagnostic purposes in express-estimating of water quality.

Key words: *Daphnia magna*, bioindication, heavy metals, proteins, albumin, globulins

УДК [574. 64: 597] (282. 247. 324)

Ю.М. СИТНИК

Інститут гідробіології НАН України

пр-т Героїв Сталінграда, 12, Київ 04210

ВАЖКІ МЕТАЛИ В ОРГАНІЗМІ ДЕЯКИХ ВИДІВ РИБ ГИРЛОВОЇ ДІЛЯНКИ РІЧКИ ДЕСНА

Представлено результати досліджень вмісту важких металів в органах і тканинах риби гирлової ділянки річки Десна.

Ключові слова: важкі метали, риба, органи та тканини, гирлова ділянка, р. Десна

Одним з актуальних завдань сучасної екологічної токсикології є вивчення особливостей екології риби та закономірностей формування її екологічної стійкості при дії токсичних речовин різної хімічної природи. Для вирішення цих завдань потрібно виявити динаміку еколого-токсикологічних та біохімічних параметрів досліджуваних популяцій риби [1–3]. Риби є важливою ланкою в неперервному кругообігу мікро- та макроелементів – металів водойми, що належать до групи незамінних для нормальної життєдіяльності організмів. Ці елементи (мідь, цинк, залізо, магній, марганець, кобальт, хром та ін.) відіграють важливу роль у протіканні низки фізіологічних та біохімічних процесів [1–9]. Важкі метали – хімічні елементи з властивостями металів, що мають атомні номери з 22 до 92 в Періодичній таблиці хімічних елементів [5].