

## **ЕНЕРГЕТИЧНА РОЛЬ АМІНОКИСЛОТ У АДАПТАЦІЇ ДО ВАЖКИХ МЕТАЛІВ ПРІСНОВОДНИХ РИБ І МОЛЮСКІВ**

В статті, опираючись, в основному, на результати власних досліджень, в порівняльному аспекті проаналізовано питання участі амінокислот у енергетичному метаболізмі у організмі прісноводних риб і моллюсків за дії розчинних солей важких металів. Показано токсичну та регуляторну дію іонів важких металів щодо участі амінокислот у енергетичному обміні гідробіонтів в залежності від їх фізико-хімічної природи, концентрації, тривалості впливу та видових особливостей реакції і стійкості до іонів важких металів прісноводних риб і моллюсків.

*Ключові слова: важкі метали, амінокислоти, енергетичний обмін, токсичність, регуляція, фізіолого-біохімічна адаптація, прісноводні риби і моллюски*

Забруднення водойм важкими металами є одним із лімітуючих факторів функціонування водних екосистем та їх біопродуктивності. Входячи до складу багатьох органічних речовин, або вступаючи з ними у взаємодію, метали здатні утворювати в тканинах міцні зв'язки з різними біологічно активними центрами, зокрема із сірковмісними лігандами, які можуть міститися у білках та амінокислотах, а також значною мірою їх дія пов'язана з ферментами, які містять у своєму складі іони металів, або активуються ними, – вони впливають на перебіг багатьох біохімічних процесів в організмі гідробіонтів [24, 35].

В наших дослідженнях одержано сукупність даних, що підтверджують і розширюють уявлення про важливу роль енергетичного обміну в процесах детоксикації іонів важких металів та формуванні стійкості до них, а також дають можливість здійснити комплексну оцінку біохімічної відповіді організму риб на хронічну інтоксикацію [8].

Вільні амінокислоти як лабільні метаболіти є сполуками, що широко використовуються в енергетичному забезпеченні організму гідробіонтів [16, 26, 30]. Їх метаболізм є одним із чинників, що забезпечує біохімічну адаптацію організмів до змінюваних чинників водного середовища [35, 45]. В організмі гідробіонтів, особливо в умовах стресу, вони є універсальним джерелом енергії, попередньо перетворюючись у певні субстрати циклу Кребса [26]. Відомо [36], що використання амінокислот як енергетичних субстратів є важливим адаптивним надбанням водяних тварин. Це пов'язано з можливістю їх анаеробного окиснення в клітинах та необхідністю протікання цього процесу через наявність частого кисневого голодування і низької інтенсивності аеробного окиснення вуглеводів та ліпідів. Разом з тим, вплив різноманітних токсикантів на організм гідробіонтів призводить до зміни вмісту вільних амінокислот в їх органах та тканинах [17, 37, 50, 52], однак, не відомо, які біохімічні механізми регуляції метаболізму амінокислот цими токсикантами викликаються.

Ефекторною стресовою дією щодо амінокислот володіють іони важких металів. Щодо останніх, то механізм їх впливу на білковий обмін визначається високою проникністю цих іонів у клітини та їх хімічною природою, що спричиняє здатність до комплексоутворення з білками та амінокислотами [27, 31]. Відомо [22], що комплекси іонів важких металів з білками та, особливо, з амінокислотами, (гліцин, аланін, аспарагінова кислота, гістидин тощо) у 2-3 рази міцніші, ніж з кетокислотами – субстратами циклу трикарбонових кислот (ЦТК). Останнім часом у зв'язку з значним забрудненням внутрішніх водойм важкими металами активно досліджуються механізми підтримання метаболічного гомеостазу в організмі водяних тварин за дії на них підвищених концентрацій цих токсикантів [23]. При різних типах екотоксикозів для цих тварин відмічено збільшення в крові, органах травлення, м'язах та головному мозку вмісту вільних амінокислот, особливо глютамінової, аспарагінової та

аспарагіну, котрі пов'язані з перерозподілом та детоксикацією аміаку [16, 21, 26]. Зміни вмісту вільних амінокислот, наприклад, в тканинах риб виявлені при дії іонів низки металів [39] і дозволяють констатувати високу метаболічну активність цих сполук та їх роль у формуванні токсикорезистентності організму гідробіонтів.

Детальне вивчення метаболізму амінокислот в організмі водяних тварин дає можливість глибше зрозуміти роль цих сполук у життєдіяльності гідробіонтів і, виходячи з цього, застосовувати їх у практиці біоіндикації. Тому метою дослідження було встановлення спрямованості і інтенсивності метаболічних шляхів амінокислот за адаптивних перебудов метаболізму у риб і молюсків при дії іонів важких металів.

**Енергетична роль амінокислот у риб. Шляхи використання амінокислот** в енергетичному забезпеченні організму можуть бути різними, кожна амінокислота має індивідуальний шлях перетворень, в якому беруть участь специфічні ферменти [13]. В наших дослідженнях [19] спостерігали значне підвищення активності кислих лізосомальних протеїназ за дії іонів марганцю, міді та свинцю як в печінці, так і в м'язах риб (рис. 1). Винятком були іони цинку, які в обох тканинах знижували активність досліджуваних ферментів. Інгібуючу дію цинку на протеїнази можна пояснити здатністю цих ферментів до неспецифічної взаємодії з металом [24].

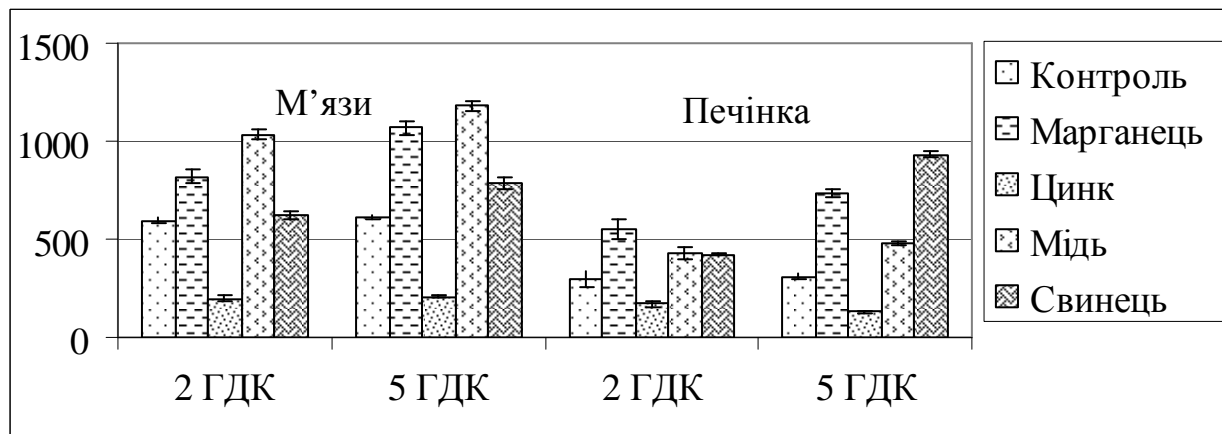


Рис. 1. Активність кислих лізосомальних протеїназ у тканинах коропа за дії іонів важких металів (мкМ тирозину/мг білку\*хв.), n=5

Найбільшою мірою зростала активність протеїназ в м'язах при дії іонів міді, а в печінці – іонів марганцю та свинцю. Важлива роль в цих процесах належить лізосомам, які містять значну кількість кислих гідролаз, включно протеїназ. В нормі завдяки певним властивостям лізосомальних мембран гідролітичний потенціал лізосом використовується лише частково. Однак, за дії на організм стрес-факторів кількість та розміри лізосом швидко збільшуються, підвищується проникність мембран, змінюється їх локалізація відносно ядра клітини. Зростання активності цих ферментів свідчить про посилення протеолізу білків в обох тканинах за досліджених концентрацій металів у воді, і як результат – збільшення кількості вільних амінокислот. Останні за інтоксикації активно використовуються як на енергетичні потреби організму коропа, так і у метаболічних процесах, пов'язаних з перебудовою білкового обміну. При цьому деякі амінокислоти можуть виконувати специфічні функції, наприклад, виступати джерелом піровиноградної кислоти у м'язах риб, брати участь у детоксикації аміаку, виконувати нейромедіаторну функцію [15, 26].

Використання амінокислот у гідробіонтів є видоспецифічним, бо в організмів різних видів окрема або декілька амінокислот відіграють провідну роль, наприклад у коропа така роль притаманна гліцину [37]. Вміст гліцину в м'язах риб перевищує концентрацію в цій тканині всіх інших амінокислот, а при дії на організм риб іонів важких металів його вміст зменшується найбільшою мірою (табл. 1.) [17, 18]. В печінці дослідних риб накопичення гліцину не спостерігається.

Вплив важких металів на вміст вільних амінокислот в тканинах коропа,  
нмоль/г вологої тканини, n=5

Аміно-кислота	М'язи			Печінка		
	Контроль	2 ГДК	5 ГДК	Контроль	2 ГДК	5 ГДК
	Марганець					
Гліцин	2270,0 ± 25,5	1590,0 ± 22,7	1340,0 ± 21,8	1280,0 ± 12,7	1190,0 ± 12,3	1390,0 ± 19,7
Аланін	797,0 ± 18,7	929,0 ± 17,5	473,0 ± 15,5	324,0 ± 8,2	296,0 ± 5,6	213,0 ± 3,8
Лейцин	617,0 ± 10,5	716,0 ± 17,3	685,0 ± 20,7	151,0 ± 7,2	86,0 ± 3,2	84,0 ± 3,7
	Цинк					
Гліцин	2028,0 ± 23,8	1656,0 ± 20,6	1327,0 ± 16,2	1368,0 ± 30,1	1306,0 ± 23,1	1305,0 ± 18,9
Аланін	879,0 ± 16,4	757,0 ± 16,8	576,0 ± 15,7	217,0 ± 5,8	230,0 ± 7,3	235,0 ± 6,7
Лейцин	517,0 ± 9,8	578,0 ± 12,4	467,0 ± 12,3	172,0 ± 8,3	124,0 ± 8,4	94,0 ± 6,8
	Мідь					
Гліцин	1810,0 ± 22,1	1730,0 ± 18,6	1330,0 ± 16,2	1208,0 ± 16,6	1255,0 ± 18,1	1309,0 ± 18,9
Аланін	982,0 ± 18,6	622,0 ± 14,3	619,0 ± 16,0	326,0 ± 4,2	275,0 ± 14,3	308,0 ± 17,6
Лейцин	427,0 ± 10,2	448,0 ± 11,2	268,0 ± 6,7	162,0 ± 3,1	150,0 ± 3,2	201,0 ± 4,2
	Свинець					
Гліцин	1970,0 ± 8,5	2020,0 ± 7,7	1630,0 ± 6,5	1512,0 ± 23,4	1973,0 ± 12,4	1328,0 ± 19,5
Аланін	826,0 ± 22,1	928,0 ± 25,2	721,0 ± 26,5	425,0 ± 5,2	361,0 ± 3,2	565,0 ± 12,5
Лейцин	312,0 ± 11,4	924,0 ± 37,4	820,0 ± 10,4	192,0 ± 3,5	126,0 ± 2,5	81,0 ± 2,2

Серед інших амінокислот, слід відмітити зростання як в м'язах, так і в печінці дослідних риб кількості сірковмісних сполук. Особливо активно сірковмісні амінокислоти взаємодіють з іонами міді, утворюючи сульфід-органічні комплекси, що сприяє зниженню токсичної дії іонів металу.

Важлива роль в детоксикації аміаку, який утворюється при дії на організм амонійтелічних тварин підвищених концентрацій важких металів, належить аспарагіновій та глутаміновій кислотам. Амід аспарагінової та глутамінової кислот, які утворюються в результаті приєднання вільного аміаку до амінокислот, можуть захищати організм від його дії [6]. У наших дослідженнях у більшості випадків вміст цих амінокислот як в печінці, так і в м'язах риб за дії іонів важких металів знижується, що може свідчити про активну участь аспарагінової та глутамінової кислот в процесах детоксикації цих іонів.

На основі кореляції між активністю глутамінсинтетази в м'язах і печінці риб та глутамінази у вивідних тканинах (зябра, нирки, кишківник) а також вмістом у цих тканинах аміаку та глутаміну можна зробити висновок про пряме виведення аміаку з використанням глутаміну як його нетоксичної транспортної форми [7]. Реальність глутамінового шляху виведення азоту підтверджується також відсутністю в коропа циклу сечовини, ферменти якого в печінці риб не виявлені [40]. Крім того, обмін глутаміну в організмі риб пов'язаний з регуляцією кислотно-лужної рівноваги, а також осморегуляцією. У водних організмів, на відміну від наземних хребетних, визначальними для метаболізму є фактори водного

середовища, перш за все іонний склад і температура води [25]. Саме тому кислотно-лужний гомеостаз в організмі коропа за інтоксикації іонами важких металів значною мірою залежить від спрямованості обміну глутаміну та його вмісту в тканинах риб.

При інтоксикації організму коропа іонами важких металів в досліджуваних тканинах значно змінюється вміст аланіну та лейцину. Цим двом амінокислотам, а також гліцину, згідно з даними літератури [35, 37], належить провідна роль в адаптації організму до стрес-факторів середовища.

**Метаболізм більшості амінокислот** розпочинається з відщеплення аміногрупи, як правило в реакціях переамінування. В результаті цього сумарного дезамінування амінокислоти не відбувається, оскільки воно супроводжується амінуванням  $\alpha$ -кетокислот, які є акцепторами аміногрупи. Кінцевим акцептором аміногруп більшості амінокислот є  $\alpha$ -кетоглутарова кислота, яка перетворюється в глутамінову кислоту і, таким чином, є субстратом, що переносить аміногрупу в ланцюг реакцій, які ведуть до утворення кінцевих продуктів азотистого обміну. Ферментам трансамінування належить головна роль у взаємозв'язку білкового та вуглеводного обмінів, що важливо для перемикання окиснення енергетичних субстратів з глюкозного на амінокислотне (білкове) енергетичне живлення, яке має виняткове значення за впливу різних чинників середовища [36, 45]. Найбільш активними трансаміназами є аспартатамінотрансфераза (АсАТ) та аланінамінотрансфераза (АлАТ). Роль трансаміназ у цьому процесі полягає у перерозподілі амінокислотних резервів з метою використання частини пулу у детоксикації аміаку, а решти – у енергетичних цілях у зв'язку з зростанням енерговитрат організму на процеси адаптації [16]. Крім того, адаптація гідробіонтів, в тому числі і молюсків, до несприятливих чинників здійснюється також за рахунок виведення кінцевих продуктів обміну з організму тварин, накопичення яких призвело б до його отруєння [30, 35]. Одержано експериментальні результати, що свідчать про значну роль реакцій переамінування у процесах детоксикації в організмі риб [21]. Однак, автори зазначених робіт не досліджували механізмів участі переамінування у формуванні детоксикуючої функції. Разом з тим, на підставі фактів про зростання вмісту одних амінокислот та зменшення рівня інших у деяких гідробіонтів при дії іонів важких металів можна припустити, що роль трансаміназ полягає не стільки в прямій детоксикації цих іонів, скільки у адаптивному перерозподілі азотистих (білкових та амінокислотних) резервів організму.

Отримані нами дані свідчать про те [2, 3], що підвищені концентрації іонів важких металів викликають підвищення активності трансаміназ у коропа (табл. 2). Активність трансаміназ в організмі риб може бути пов'язана також із шунтуванням циклу Кребса, що забезпечує реальний механізм перемикання процесів окиснення з так званого повільного шляху на швидкий [14]. Активація аспартатамінотрансферази є основною ланкою малат-аспартатного човникового механізму, який посилює своє функціонування при стимуляції фізіологічних функцій організму.

Аспартатамінотрансфераза, шунтуючи цикл Кребса, замість лимонної спричиняє активне окиснення янтарної кислоти. Щодо аспартату, який утворюється в результаті переамінування глутамату, то він, в основному, використовується на синтез азотистих сполук.

Отже, головною функцією швидкого шляху генерації енергії є прискорене утворення і окиснення янтарної кислоти, що дає організму можливість одержати швидше більше АТФ, ніж при окисненні інших інтермедіатів циклу трикарбонових кислот. В умовах посиленого окиснення янтарної кислоти активно функціонують мітохондрії, окиснюючи цей субстрат. Ймовірно, що в стресових умовах, викликаних інтоксикацією організму, спостерігаємо високу активність мітохондріальних форм трансаміназ.

Таблиця 2

Вплив іонів важких металів на активність цитоплазматичної (А) та мітохондріальної (Б) АсАТ та АлАТ в тканинах коропа (мкМ ПВК/мг білку/хв.)  $10^{-3}$ , n=5

Група	Цитоплазматична форма				Мітохондріальна форма				
	Mn	Zn	Cu	Pb	Mn	Zn	Cu	Pb	
АсАТ									
Контроль	М'язи	17,99 ± 2,7	21,68 ± 1,76	21,06 ± 2,32	23,77 ± 3,04	39,83 ± 2,2	26,64 ± 1,47	12,3 ± 1,29	10,4 ± 1,1
2		45,08 ± 6,8	26,46 ± 0,87	12,45 ± 2,54	13,93 ± 1,48	14,75 ± 4,25	31,94 ± 1,36	6,39 ± 0,77	14,86 ± 1,25
5		71,03 ± 5,13	26,57 ± 0,45	13,55 ± 0,49	39,74 ± 2,48	7,00 ± 0,94	79,75 ± 6,6	14,91 ± 1,96	6,07 ± 0,94
Контроль	Печінка	44,51 ± 5,7	26,13 ± 2,58	20,36 ± 2,15	19,68 ± 1,51	13,5 ± 3,5	92,33 ± 6,93	37,5 ± 2,5	17,83 ± 1,42
2		56,22 ± 6,95	16,03 ± 1,81	19,31 ± 2,63	20,05 ± 1,88	61,3 ± 3,9	67,43 ± 5,08	25,44 ± 2,73	34,73 ± 3,13
5		40,72 ± 3,68	26,9 ± 1,92	27,91 ± 2,44	17,64 ± 3,8	45,36 ± 8,84	84,63 ± 10,06	34,6 ± 1,42	45,5 ± 2,85
Контроль	Кров	1,32 ± 0,22	8,03 ± 2,01	1,67 ± 0,18	5,39 ± 0,57	-	-	-	-
2		1,31 ± 0,1	4,13 ± 0,19	1,78 ± 0,16	4,46 ± 0,38	-	-	-	-
5		5,31 ± 0,59	3,42 ± 0,59	2,21 ± 0,16	7,61 ± 0,8	-	-	-	-
АлАТ									
Контроль	М'язи	42,76 ± 1,46	19,22 ± 0,82	30,08 ± 2,45	22,84 ± 4,11	13,27 ± 0,42	14,8 ± 1,04	27,01 ± 1,9	18,76 ± 2,32
2		22,1 ± 2,92	25,2 ± 0,88	12,66 ± 0,66	22,34 ± 2,85	28 ± 2,5	24,29 ± 3,01	13,51 ± 0,42	27,39 ± 1,9
5		45,7 ± 6,79	27,56 ± 2,14	21,85 ± 0,45	29,71 ± 1,63	58,53 ± 3,64	19,11 ± 1,09	13,97 ± 0,58	39,33 ± 3,84
Контроль	Печінка	18,7 ± 1,8	11,69 ± 0,99	13,37 ± 0,88	12,07 ± 2,85	8,2 ± 0,9	11,14 ± 0,71	3,45 ± 0,2	14,46 ± 1,29
2		20 ± 2,59	19,27 ± 1,26	8,21 ± 0,81	7,06 ± 1,64	14,9 ± 1,3	34,72 ± 1,09	5,91 ± 0,48	34,00 ± 2,00
5		75,2 ± 8,21	13,56 ± 1,26	12,6 ± 1,74	10,96 ± 2,47	46,75 ± 1,15	31,39 ± 1,91	2,25 ± 0,18	27,67 ± 2,09
Контроль	Кров	2,72 ± 0,26	5,76 ± 0,03	1,55 ± 0,21	5,57 ± 0,7	-	-	-	-
2		1,64 ± 0,27	2,03 ± 0,44	1,95 ± 0,27	5,38 ± 0,99	-	-	-	-
5		2,87 ± 0,31	7,08 ± 0,71	2,33 ± 0,24	2,78 ± 0,41	-	-	-	-

Загалом реакція системи переамінування у коропа за інтоксикації іонами важких металів свідчить про перебудову амінокислотного та білкового метаболізму з метою забезпечення енергетичної та пластичної адаптації до стресової дії токсиканту.

Реакції переамінування в досліджених тканинах риб тісно пов'язані з **окисним дезамінуванням глутамату**. Ракція проходить з участю однієї з глутаматдегідрогеназ, ферментів, які локалізовані в мітохондріях. Напрямок реакції визначає кофермент – НАД(Н) чи НАДФ(Н). В організмі риб дезамінування глутамату здійснює НАД(Н)-залежна глутаматдегідрогеназа, а його синтез – НАДФ(Н)-залежний фермент [7].

В результаті проведених досліджень за дії іонів важких металів нами виявлено зміни активності в м'язах та печінці коропа обох глутаматдегідрогеназ (табл. 3) [2, 16]. При цьому в

м'язах риб більш активна НАДФ(Н)-залежна форма ферменту, а в печінці – НАД(Н)-залежна. В м'язовій тканині риб під впливом іонів марганцю, цинку та міді зростає активність НАДФ(Н)-залежної глутаматдегідрогенази, і лише іони свинцю інгібують її. Разом з тим активність НАД(Н) –залежної форми ферменту в м'язах риб за дії досліджуваних металів дещо знижується. Одержані дані свідчать про зміщення реакції в бік утворення глутамату, тобто таким чином нейтралізується токсичний для організму аміак. В цій реакції аміак, взаємодіючи з  $\alpha$ -кетоглутаровою кислотою, сприяє вилученню її з циклу Кребса і, таким чином, веде до зниження активності аеробних процесів. Як результат, в м'язах використовуються інші шляхи генерації енергії.

Таблиця 3

Активність глутаматдегідрогеназ в мітохондріях м'язів (А) та печінки (Б) коропа з НАД(Н) та НАДР(Н) за дії іонів важких металів (мкМ/мг білку/хв.)  $10^{-3}$ , n=5

Група	Марганець		Цинк		Мідь		Свинець	
	НАДН	НАДРН	НАДН	НАДРН	НАДН	НАДРН	НАДН	НАДРН
М'язи								
Контроль	21,94 ± 2,26	127,72 ± 9,32	50,54 ± 8,52	109,69 ± 8,98	51,08 ± 7,27	70,88 ± 4,9	20,98 ± 2,84	59,40 ± 6,84
2 ГДК	24,12 ± 3,84	136,92 ± 10,82	42,76 ± 3,09	164,95 ± 8,83	18,72 ± 1,69	97,88 ± 2,9	18,54 ± 1,25	56,08 ± 8,36
5 ГДК	12,80 ± 2,9	109,32 ± 4,44	42,76 ± 5,79	170,09 ± 16,05	23,55 ± 2,36	89,70 ± 6,7	12,81 ± 3,64	38,07 ± 6,65
Печінка								
Контроль	14,40 ± 0,64	12,20 ± 1,94	32,72 ± 2,65	24,28 ± 1,27	14,39 ± 2,28	16,99 ± 1,45	17,80 ± 2,47	12,72 ± 2,47
2 ГДК	9,66 ± 1,6	25,74 ± 2,28	34,82 ± 2,37	21,19 ± 1,93	21,10 ± 5,16	15,52 ± 1,59	18,54 ± 1,47	10,40 ± 1,95
5 ГДК	10,00 ± 2,08	17,80 ± 1,6	16,99 ± 1,54	36,36 ± 3,09	9,13 ± 1,36	15,05 ± 0,81	15,38 ± 1,5	17,46 ± 1,83

В наших дослідженнях за інтоксикації важкими металами у м'язах піддослідних риб активність НАД(Н)-залежної глутаматдегідрогенази була незначною і спостігалось її зниження за обох концентрацій досліджуваних металів у воді.

Активність НАД(Н)-залежної глутаматдегідрогенази в печінці коропа зростала за вмісту металів у воді 2 ГДК (за винятком марганцю), та знижувалася за 5 ГДК. Отже, в печінці риб в умовах токсичного стресу переважає процес розщеплення глутамату над його утворенням, що узгоджується з даними про високу активність саме глутаматдегідрогеназного шляху дезамінування амінокислот у риб [7].

В цілому, зміна метаболізму амінокислот в тканинах коропа забезпечує низку пристосувань в його організмі до дії токсичного водного середовища:

а) при інтоксикації іонами марганцю, цинку, міді та свинцю в скелетних м'язах та печінці коропа зростає активність протеолітичних ферментів, зокрема, кислих лізосомальних протеїназ;

б) підвищений вміст іонів важких металів у воді активує переамінування амінокислот в АлАТ та АсАТ реакціях;

в) в мітохондріях печінки та скелетних м'язів коропа за дії підвищених концентрацій іонів важких металів виявлена зміна активності НАД(Н)- та НАДФ(Н)-залежних глутаматдегідрогеназ. Зростає роль глутаматдегідрогеназної системи в підтриманні гомеостазу інтермедіатів білкового обміну, а також в процесах детоксикації аміаку, утворення якого в тканинах коропа за умов інтоксикації зростає.

#### Енергетична роль амінокислот у молюсків

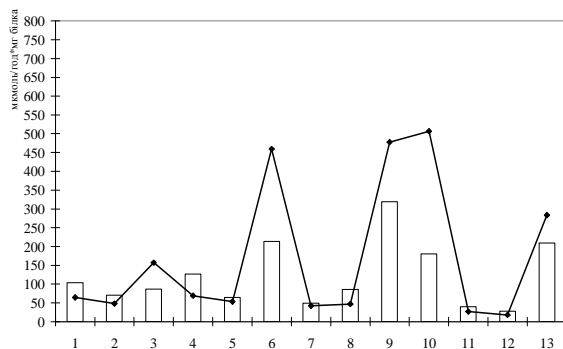
Як і у риб, трансамінази – АсАТ та АлАТ – беруть участь в перерозподілі пулу амінокислот та інтермедіатів ЦТК, енергетичному метаболізмі амінокислот, в субстратному забезпеченні

глюконеогенезу та ліпогенезу, а також виконують важливу роль в процесах фізіолого-біохімічної регуляції гомеостазу в організмі тварин [42, 44, 51]. Однак риби є систематично більш організованою групою і відносяться до типу хордових, в той час як тип молюски – це окрема систематична група, котра має певні фізіологічні та біохімічні особливості.

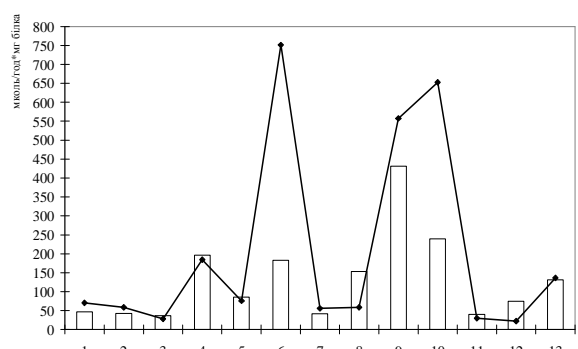
Дослідження активності трансаміназ у тканинах молюсків показало лише неоднотипність реакції цих тварин на різнопланові біотичні та абіотичні чинники: активування амінотрансфераз простежується при побудові черепашки та зміни осмотичного тиску [43], гіпоксії [5], голодуванні [41], за дії партеніт трематоди [48]. З'ясовано [5], що органічні отрути, які містять миш'як (ХФА) та олово (ТБТО), інгібують АсАТ і АлАТ у зябрах мідії, однак зі збільшенням експозиції цей ефект послаблюється. За дії  $Fe^{2+}$ ,  $As^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Hg^{2+}$  також простежується інгібування активності трансаміаз в м'язовій тканині молюсків, що, насамперед, пов'язано з високою спорідненістю металів до сульфгідрильних груп [34]. Рівень трансаміназної активності у тканинах *Unio pictorum* змінюється в разі збільшення концентрації фенолу в діапазоні LC<sub>25</sub>-LC<sub>75</sub>. Співвідношення АлАТ/АсАТ у випадку отруєння фенолом у самок збільшується, в той час як у самців відмічено зменшення величини даного показника [38]. В цих дослідженнях часто не враховано ефекти впливу на метаболізм амінокислот токсикологічних, біотичних та інших метаболічних чинників. Тому нами досліджено вплив інтоксикації іонами важких металів на активність трансаміназних систем у молюсків за різних режимів дії (короткочасний та довготривалий вплив) у неінвазованих і інвазованих тварин.

**Короткотривала дія металів.** З метою виявлення динаміки процесів переамінування в залежності від концентрації іонів металів у середовищі існування молюсків нами здійснено серію дослідів з короткотривалого впливу токсикантів (2 доби) в концентраціях, відповідних LC<sub>25</sub><sup>48</sup>, LC<sub>50</sub><sup>48</sup>, LC<sub>75</sub><sup>48</sup> (рис. 1).

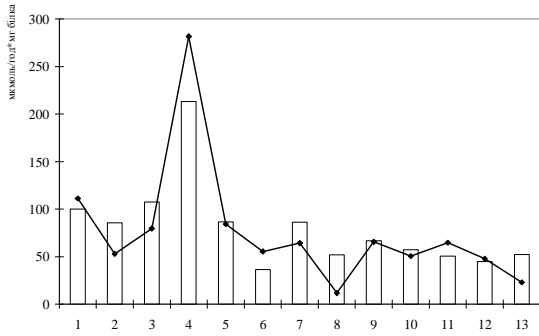
**Аланінамінотрансфераза.** Встановлено, що в мантиї (рис. 2а) має місце активація ферменту за рівня LC<sub>75</sub> цинку і кадмію, LC<sub>50</sub> міді та свинцю як у неінвазованих, так і інвазованих тварин. При цьому низькі (LC<sub>25</sub>) і надто високі (LC більше 75) концентрації металів інгібують ферментну активність на 20–50%. Максимальна активація за цих умов відбувається у 2-3 рази. Отже, малі концентрації металів викликають характерну стрес-відповідь організму, великі – патологічне пригнічення, а середні – первинну адаптивну відповідь [4]. У гепатопанкреасі активацію ферменту відмічено лише за концентрації іонів цинку LC<sub>75</sub>, всі інші метали інгібують аланінамінотрансферазу на 30-50 % (мідь в концентрації LC<sub>50</sub>, свинець – LC<sub>25</sub>, кадмій – LC<sub>25-75</sub>) (рис. 2в). Активуюча здатність цинку пов'язана з його біохімічними функціями, а саме: він входить до складу важливих ферментів білкового (пептидази, протеази, глутаматдегідрогенази) та нуклеїнового (ДНК-і РНК-полімерази) обмінів, стимулює ріст тварин через вплив на синтез РНК [23]. Наші результати співвідносяться з реакцією організму риб на іони цинку, коли загальний вміст білків збільшувався у їх печінці на 2,9%, у м'язах на 7,6% і в крові на 24,3% [16]. Відзначимо, що чутливість гепатопанкреасу до металів є вищою, ніж мантиї, бо це метаболічно активніша тканина і процеси переамінування здійснюється найактивніше саме в ній.



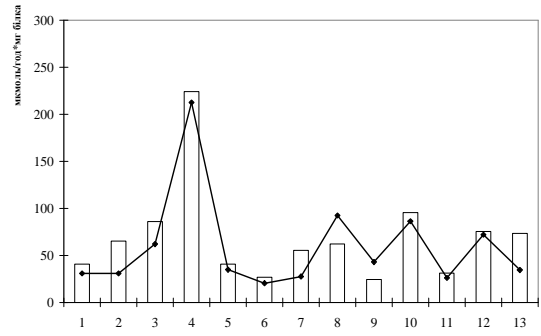
а



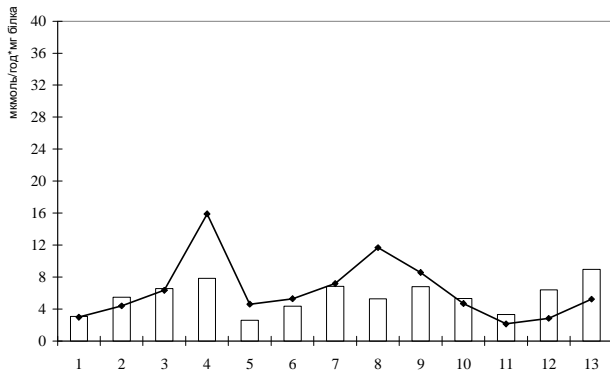
б



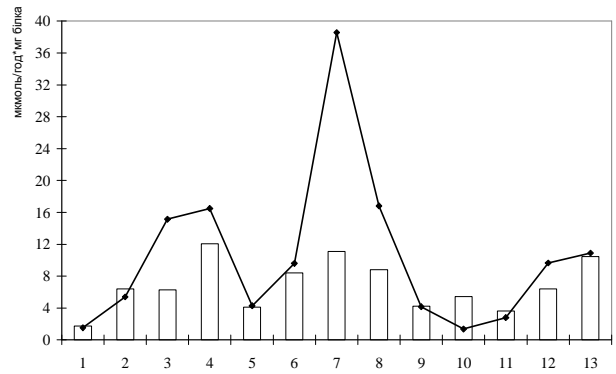
В



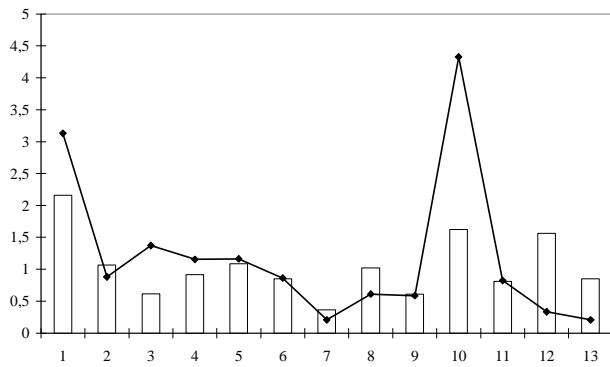
Г



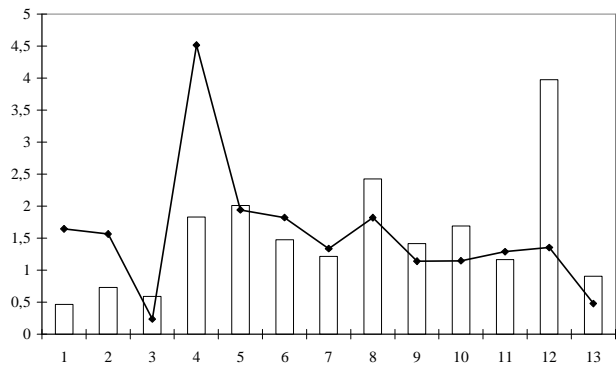
Д



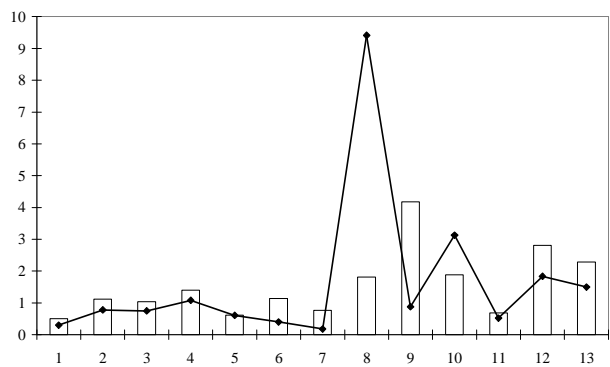
е



е



ж



3

Рис. 1. Активність переамінування в організмі *Planorbarius purpura* за дії іонів важких металів (а, в, д – АлАТ; б, г, е – АсАТ; є, ж, з – коефіцієнт де Рітиса; а, б, ж – мантия; в, г, з – гепатопанкреас; д, е, є – гемолімфа.

1 – контроль; 2 - Zn Lc<sub>25</sub><sup>48</sup>, 3 – Zn Lc<sub>50</sub><sup>48</sup>, 4 – Zn Lc<sub>75</sub><sup>48</sup>, 5 – Cu Lc<sub>25</sub><sup>48</sup>, 6 – Cu Lc<sub>50</sub><sup>48</sup>, 7 – Cu Lc<sub>75</sub><sup>48</sup>, 8 – Pb Lc<sub>25</sub><sup>48</sup>, 9 – Pb Lc<sub>50</sub><sup>48</sup>, 10 – Pb Lc<sub>75</sub><sup>48</sup>, 11 – Cd Lc<sub>25</sub><sup>48</sup>, 12 – Cd Lc<sub>50</sub><sup>48</sup>, 13 – Cd Lc<sub>75</sub><sup>48</sup>;

□ – неінвазовані особини;

— – інвазовані особини)



Отже, іони металів за концентрації у воді  $LC_{50-75}$  активують АлАТ, що може бути результатом формування первинної стресової відповіді, яка включає зміну білкового статусу організму загалом у зв'язку з їх спрямуванням на детоксикацію металів та підвищення участі у її енергетичному забезпеченні [3, 29, 32] та перерозподілі метаболічних субстратів для підтримання енергетичного гомеостазу і рівня глюкози шляхом активації функціонування глікозо-аланінового циклу [9].

*Аспаратамінотрансфераза.* В мантиї активність ферменту підвищується за дії іонів: свинцю у всіх досліджуваних концентраціях, цинку в концентрації  $LC_{75}$ , міді –  $LC_{50}$ , кадмію –  $LC_{75}$  як у неінвазованих, так і інвазованих молюсків (рис. 2б), що співвідноситься з реакцією на дію металів АлАТ, і свідчить про однотипність участі обох ферментів у перерозподілі енергетичних субстратів за інтоксикаційного стресу. Разом з тим, активність АсАТ в мантиї молюсків у 2 – рази вища, ніж активність АлАТ.

У гепатопанкреасі (рис. 2г) іони цинку також активують аспаратамінотрансферазу у всіх досліджуваних концентраціях, особливо за  $LC_{75}$  (у 5 разів проти контролю), іони міді та свинцю – за  $LC_{75}$ , а кадмію – за  $LC_{50-75}$ , що підтверджує високу стресову здатність цих металів щодо гепатопанкреасу. При цьому інвазія не викликає особливих відмінностей реакції молюсків, що свідчить про суттєвішу роль іонів важких металів як стресового чинника для організму молюсків.

У гемолімфі (рис. 2е) АсАТ активується за дії іонів цинку, міді, свинцю і кадмію у всіх досліджуваних концентраціях, особливо за  $LC_{75}$ , як і у випадку впливу на активність АлАТ. Відмічено, що активність досліджуваного ферменту за дії іонів міді у інвазованих тварин у 4 рази вища, ніж в інтактних молюсків, що може бути пов'язано з комплексним впливом обох несприятливих чинників. Відомо, що у інвазованих молюсків [46] інтенсифікуються основні біохімічні і фізіологічні функції, а дисиміляція вуглеводів відбувається інтенсивніше, ніж їх засвоєння [47]. Це в свою чергу активізує процеси переамінування як джерело проміжних субстратів ЦТК, наприклад, оксалоацетату із аспартату.

Отже, стрес-адаптаційний синдром, що розвивається у молюсків за короткотривалої дії більшості досліджуваних металів зі зростанням їх концентрації у воді, характеризується, в основному, односпрямованою активацією реакцій переамінування, що свідчить про залучення білкових резервів у енергетичний метаболізм та забезпечення функціонального гомеостазу і формування захисних систем організму до металів. Про це свідчить і коефіцієнт де Рігіса. У мантиї (рис. 2ж) його величини вищі від контрольних показників за дії всіх досліджуваних металів. Його зростання у 3-4 рази відмічено за впливу іонів цинку ( $LC_{75}$ ), міді і свинцю ( $LC_{25}$ ), кадмію ( $LC_{50}$ ). У гепатопанкреасі (рис. 2з) зростає величина цього коефіцієнту за впливу іонів цинку ( $LC_{75}$ ), міді ( $LC_{50}$ ), свинцю ( $LC_{25-75}$ ) та кадмію ( $LC_{50, 75}$ ) – у 4 рази проти контролю. Тільки в гемолімфі (рис. 1е) рівень цього показника у випадках дії усіх металів знижується проти контролю. Отже, в мантиї і гепатопанкреасі основну функцію з переамінування виконує АсАТ, а в гемолімфі – АлАТ, що може бути пов'язано з участю АсАТ в залученні білкових і амінокислотних резервів мантиї та гепатопанкреасу в енергетичний метаболізм [36] і особливою роллю АлАТ в регуляції рівня глюкози в ній шляхом участі в забезпеченні функціонування глікозо-аланінового циклу, який, крім того, виконує ще й детоксикаційну функцію щодо аміаку, що утворюється з амінокислот у результаті їх окиснювального дезамінування [9, 36].

Загалом, у інтактних і інвазованих тварин ефекти дії металів є аналогічними, однак у інвазованих молюсків спостерігаються флюктуаційні реакції з більшими кількісними інтервалами активації чи пригнічення. Наприклад, максимуми активації за дії іонів цинку ( $LC_{75}$ ) у мантиї, свинцю ( $LC_{25}$ ) у гепатопанкреасі, свинцю ( $LC_{75}$ ) у гемолімфі, а мінімуми пригнічення за дії іонів кадмію ( $LC_{50-75}$ ) у всіх тканинах, свинцю ( $LC_{25}$ ) у гемолімфі, міді ( $LC_{50}$ ).

75) у гепатопанкреасі. Флуктуаційні реакції з великою амплітудою кількісних змін параметрів можуть бути пов'язані як зі специфікою накопичення металів в окремих тканинах залежно від їх концентрації у воді, так і особливостями їх біологічної дії на окремі структурно-метаболичні мішені в клітинах, що залежить, в свою чергу від індивідуальної спорідненості металів до окремих білків [49].

Отже, при дії іонів досліджуваних металів за короткотривалої експозиції на процеси переамінування у моллюсків чітко виявляються стрес-адаптаційні зміни флуктуаційного типу на рівні первинної відповіді системи білкового обміну, включно, переамінування [4], які пов'язані як зі зміною білкового статусу (зв'язування білками металів та їх транспортування у депонуючі тканини, участь білків у формуванні осморегуляції за зміни металами іонного складу гемолімфи тощо), так і участю білкових резервів тканин у енергетичному метаболізмі та забезпеченні гомеостазу глюкози. В цілому це забезпечує новий (захисний) статус організму до неспецифічних стресорів, якими є іони важких металів. Інвазія в цьому процесі, скоріше за все, не виступає додатковим стрес-чинником, оскільки в організмі моллюсків до неї вже сформувався певний адаптивний статус, однак, в окремих випадках у інвазованих тварин ступінь кількісного прояву реакції на дію іонів металів (мідь в концентрації  $LC_{50-75}$ , цинк і свинець в концентрації  $LC_{75}$ ) вища, ніж у інтактних особин, особливо за високих концентрацій цих іонів у водному середовищі. Тому, з одного боку, інвазія є додатковим чинником стимуляції формування готовності організму до реакції на стрес-чинник, з іншого – вона може призвести до швидшого, ніж у неінвазованих моллюсків, вичерпання пластичних і енергетичних ресурсів та ємності гомеостатичних систем.

#### **Довготривала дія металів.**

*Аланінамінотрансфераза.* У мантиї (рис. 3а) фермент активується іонами цинку в усіх концентраціях, особливо за  $0,05 \text{ мг/дм}^3$ , іонами свинцю за концентрації  $0,01 \text{ мг/дм}^3$ , міді –  $0,05 \text{ мг/дм}^3$ ; кадмію –  $0,01-0,02 \text{ мг/дм}^3$  як у інтактних, так і інвазованих моллюсків. За дії досліджуваних іонів в усіх концентраціях у мантиї практично не спостерігається інгібування ферментної активності, що свідчить про високу адаптованість або нечутливість цього органу до дії іонів металів, особливо в середніх концентраціях.

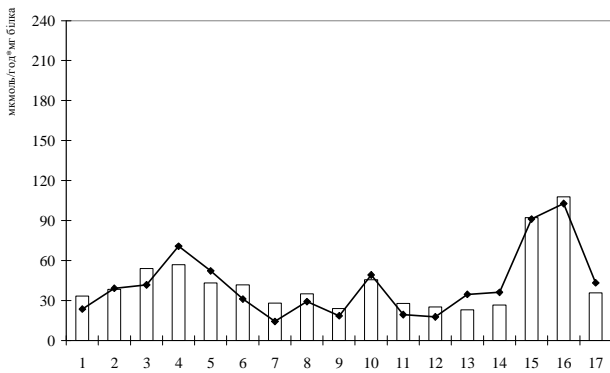
Гепатопанкреас (рис. 3в) *Planorbarius purpura* чутливіший до дії досліджуваних іонів, що свідчить про участь цього органу у формування довготривалої адаптації до дії металів. Активують АлАТ гепатопанкреасу всі досліджувані іони, особливо цинку в концентрації  $0,005 \text{ мг/дм}^3$ , міді в концентрації  $0,0005 \text{ мг/дм}^3$ , свинцю в концентрації  $0,005 \text{ мг/дм}^3$  та кадмію в концентрації  $0,002 \text{ мг/дм}^3$ . Інгібування ферменту має місце за рівнів іонів: цинку –  $0,02 \text{ мг/дм}^3$ , міді –  $0,005 \text{ мг/дм}^3$ , свинцю і кадмію –  $0,005 \text{ мг/дм}^3$ . Отже, іони металів в низьких концентраціях активують фермент, а в високих – інгібують, виявляючи класичний для стійкої інтоксикації біологічний ефект.

Аналогічний ефект металів виявлено і в гемолімфі (рис 3д). Активація АлАТ спостерігається за дії іонів цинку ( $0,005$  та  $0,02 \text{ мг/дм}^3$ ), міді ( $0,005 \text{ мг/дм}^3$ ), свинцю ( $0,05 \text{ мг/дм}^3$ ), кадмію ( $0,005 \text{ мг/дм}^3$ ). В цілому, зі зростанням концентрації цих поліютантів активність ферменту збільшувалася, а інгібування його активності практично не виявлено, що співвідноситься з ефектом впливу металів за короткотривалої дії. Отже, процес переамінування в гемолімфі найкраще забезпечує функціональну адаптацію моллюсків до дії іонів металів. При цьому у інвазованих та інтактних тварин як за короткотривалої, так і за довготермінової інтоксикації рівень прояву цього процесу майже не відрізняється.

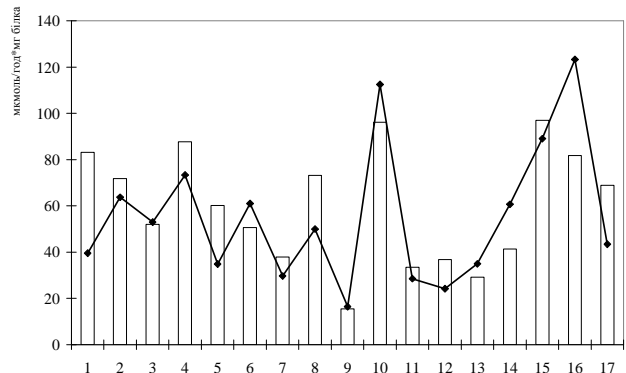
*Аспаратамінотрансфераза.* У мантиї іони металів практично не активують досліджуваній фермент. Разом з тим, порівняно з АлАТ, виявлено більше випадків його інгібування, а саме за дії іонів цинку і міді –  $0,005$  та  $0,02 \text{ мг/дм}^3$ , свинцю –  $0,01 \text{ мг/дм}^3$ ,  $0,02$  та

0,05 мг/дм<sup>3</sup>, кадмію – 0,005 мг/дм<sup>3</sup>. Зі зростанням концентрації токсиканту ступінь інгібування ферменту збільшувалася як у інтактних, так і у інвазованих тварин. Отже, АсАТ мантиї виявилася чутливішою до хронічної дії металів, ніж АлАТ. Ця закономірність характерна і для гепатопанкреасу (рис. 3г). Тут окремі концентрації іонів металів або не впливають, або незначно інгібують АсАТ, а окремі активують її у 4-5,5 рази (іони цинку в концентрації 0,005 та 0,05 мг/дм<sup>3</sup>, міді в концентрації 0,001 та 0,01 мг/дм<sup>3</sup>, свинцю в концентрації 0,05 мг/дм<sup>3</sup> та кадмію в концентрації 0,0025 мг/дм<sup>3</sup>). Активуючий ефект, як правило, виявляють середні концентрації іонів металів, що може бути пов'язано з такою токсикологічною характеристикою їх дії як дозозалежний ефект, тобто формування максимальної відповіді біологічної системи за певної (конкретної) концентрації токсиканту, здатної активувати системи довготривалої адаптації організму [4]. При цьому, піки активності у інвазованих та інтактних тварин співпадають, що додатково свідчить про аналогічний характер адаптивного процесу в обох групах і його незалежність від наявності інвазії. Такі ж висновки можна зробити і щодо гемолімфи (рис. 3е), в якій виявлено концентраційну залежність впливу іонів ВМ на активність АсАТ. Її активують іони цинку в концентрації 0,005 та 0,02 мг/дм<sup>3</sup>, міді в концентрації 0,005 мг/дм<sup>3</sup>, свинцю в концентрації 0,05 мг/дм<sup>3</sup>, кадмію в концентрації 0,001 мг/дм<sup>3</sup>.

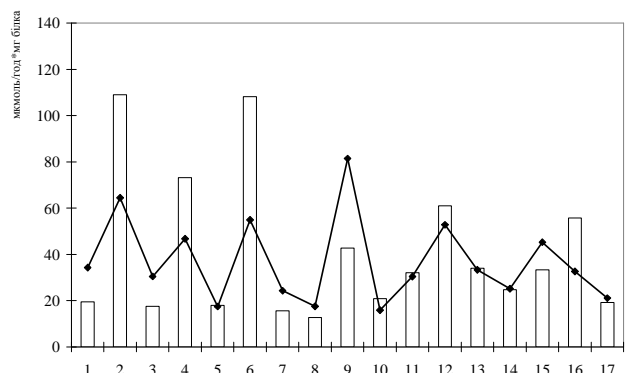
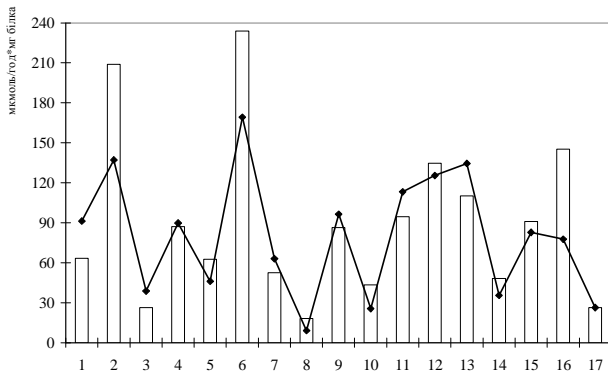
Загалом, активаційні і пригнічуючі ефекти АсАТ та АлАТ для окремих металів в певних концентраціях співпадають, що свідчить про синхронність реакції системи переамінування на дію токсикантів. Щодо співвідношення їх активності, то в мантиї коефіцієнт де Рітиса знижується (рис. 3ж), що може бути пов'язано з перерозподілом амінокислот в клітинах мантиї та з їх участю у діяльності човникових транспортних систем, в яких є задіяним аспартат [22, 26]. У гепатопанкреасі (рис. 3з), та, особливо, в гемолімфі (рис. 3е), коефіцієнт де Рітиса, як правило, зростає, що пов'язано з участю систем переамінування в підтриманні азотного і енергетичного гомеостазу та детоксикацією аміаку.



а



б



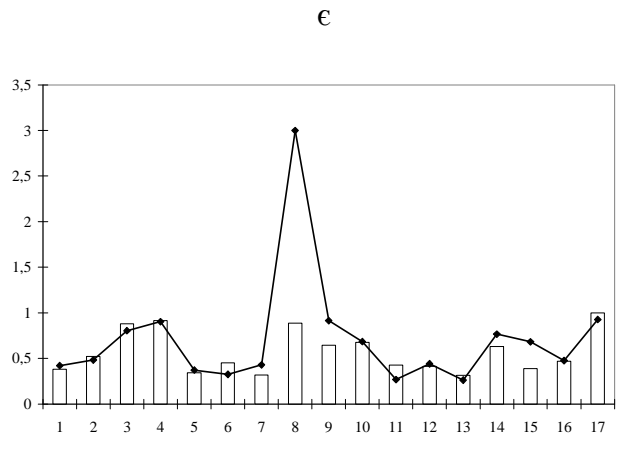
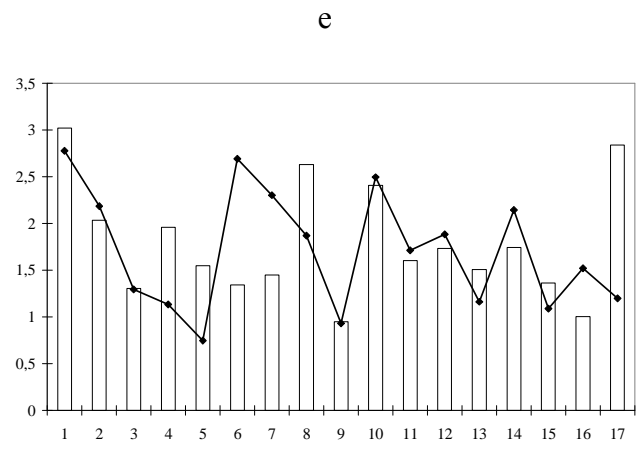
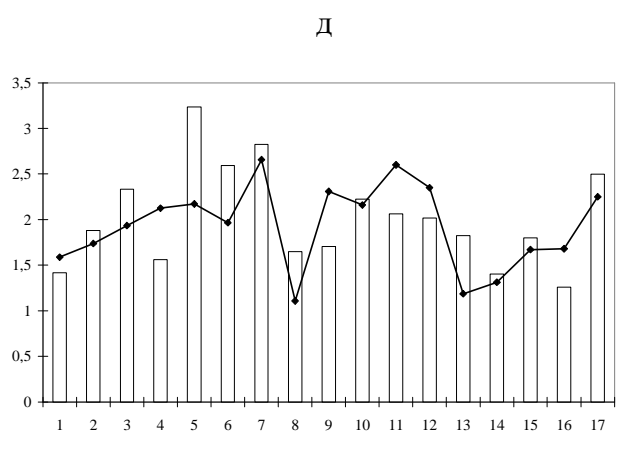
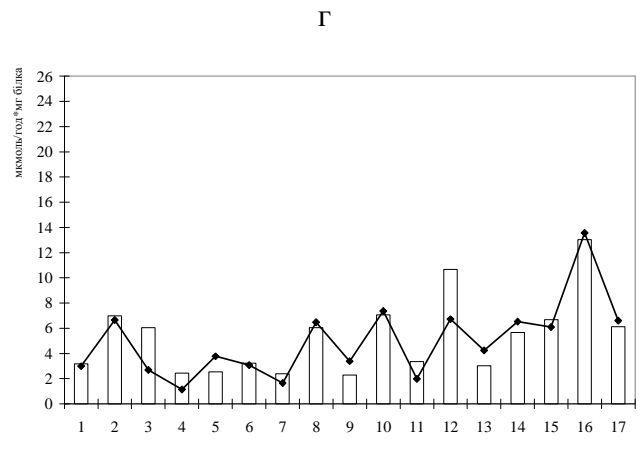
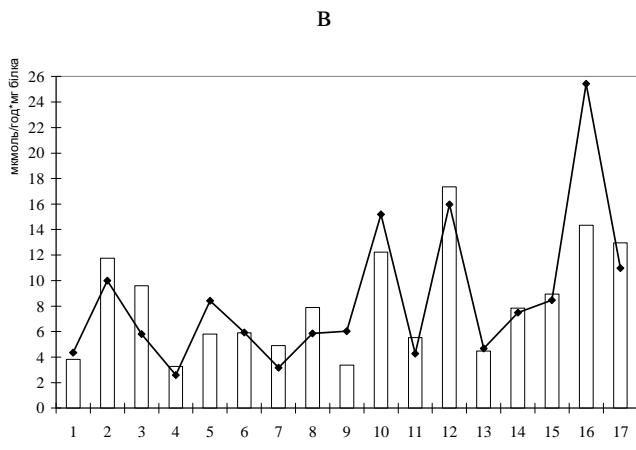


Рис. 3. Активність переамінування в організмі *Planorbarius purpura* за дії іонів важких металів (а, в, д – АЛТ; б, г, е – АСТ; є, ж, з – коефіцієнт де Рігіса; а, б, ж – мантия; в, г, з – гепатопанкреас; д, е, є – гемолімфа.  
 1 – контроль; 2 –  $[Zn^{2+}]$ , 0,005 мг/дм<sup>3</sup>; 3 –  $[Zn^{2+}]$ , 0,02; 4 –  $[Zn^{2+}]$ , 0,05; 5 –  $[Zn^{2+}]$ , 0,1; 6 –  $[Cu^{2+}]$ , 0,0005; 7 –  $[Cu^{2+}]$ , 0,002; 8 –  $[Cu^{2+}]$ , 0,005; 9 –  $[Cu^{2+}]$ , 0,01; 10 –  $[Pb^{2+}]$ , 0,005; 11 –  $[Pb^{2+}]$ , 0,02; 12 –  $[Pb^{2+}]$ , 0,05; 13 –  $[Pb^{2+}]$ , 0,1; 14 –  $[Cd^{2+}]$ , 0,00025; 15 –  $[Cd^{2+}]$ , 0,001; 16 –  $[Cd^{2+}]$ , 0,0025; 17 –  $[Cd^{2+}]$ , 0,005 мг/дм<sup>3</sup>;  
 □ - неінвазовані особи;  
 — - інвазовані особи)

Щодо впливу окремих іонів металів, то в короткотривалому експерименті більші ефекти щодо ферментів переамінування виявили іони міді і свинцю в мантиї, цинку – в гепатопанкреасі та гемолімфі, свинець і, частково, кадмій – в гемолімфі. Це може бути пов'язано як з інтенсивністю накопичення вказаних металів у досліджуваних тканинах, так і їх біологічною дією на білки-мішені у зв'язку з високим рівнем спорідненості металів до них [28].

За довготермінової дії досліджуваних токсикантів на молюсків виявляється виражена дія практично всіх іонів металів на активність ферментів переамінування у всіх досліджених тканинах. Більші ефекти щодо обох ферментів переамінування, ніж у короткотривалому досліді, виявляли іони міді і кадмію. Це можна пояснити тривалішим терміном їх проникнення у тканини, особливо, кадмію у мантию. Частково це характерно і для свинцю. Слід зазначити,

що рівень ефектів для кожного металу є індивідуальним, однак суттєвої різниці між так званими біогенними (цинк і мідь) та небіогенними (свинець і кадмій) металами не виявлено, хіба що у короткотривалому досліді вплив кадмію був дещо меншим, ніж інших металів, а за довготривалого впливу він був вищим. Це, як зазначалося, може бути спричинено швидкістю його розповсюдження у тканинах. Довготривала дії іонів металів виявила найвищу ступінь токсичності. У короткотривалому досліді інгібуєчий біологічний ефект показали іони цинку та свинцю.

На підставі виявлених динамічних змін встановлено, що стан переамінування у молюсків *Planorbarius purpura*:

а) в контролі характеризується переважанням АлАТ, особливо в мантиї, менше у гепатопанкреасі та гемолімфі;

б) інвазія в нормі практично не позначається на інтенсивності переамінування в жодній з тканин, що свідчить про високу адаптованість організму молюсків до присутності *Echinoparyphium aconiatum Dietz*. Дія металів практично не порушує цієї рівноваги, бо як інвазовані, так і неінвазовані особини процесом переамінування реагують на дію іонів металів практично однаково за винятком реакції АсАТ за впливу іонів міді в мантиї та гемолімфі за короткотривалої експозиції, що можна пояснити флуктуаційними ефектами в процесі формування адаптації;

в) дія іонів металів є тканинно- та ферментоспецифічною незалежно від природи металу за короткотривалої дії. Іони цинку, свинцю, міді і, частково, кадмію викликають первинну стрес-реакцію флуктуаційного характеру, що характеризується участю трансаміназ у перерозподілі пластичних і енергетичних ресурсів організму тварин. Можлива також участь ферментів у регулюванні транспорту іонів металів в тканинах;

г) за довготривалої дії досліджувані токсиканти, крім відзначених вище ефектів, ймовірно, викликають глибше залучення процесу переамінування до формування адаптивного статусу енергетичного метаболізму, детоксикації аміаку та участі у мембранному транспорті металів в клітинах;

д) концентраційної залежності за типом доза-ефект для всіх металів не виявлено. Як правило, активували процеси переамінування середні концентрації іонів металів. У концентраціях, що значно перевищують ГДК (в декілька разів), метали або не виявляли значного впливу на переамінування, або в окремих випадках – кадмій і свинець – як неспецифічні для організму метали у найвищих концентраціях за довготривалого впливу інгібували його;

е) в цілому, підвищений вміст іонів важких металів у воді активує переамінування амінокислот в АлАТ та АсАТ реакціях. Роль трансаміназ полягає у перерозподілі амінокислотних резервів в організмі молюсків з використання їх для детоксикації іонів важких металів (сірковмісні АК), аміаку (глутамат, аспартат, аланін), а також в енергетичних цілях.

Відомо, що механізми надходження до клітин іонів кадмію та цинку однотипні, а закономірності депонування біологічно необхідного мінімуму цих іонів, формування резистентності до них у клітинах та видалення їх надлишку – різні [20]. Кадмій та його сполуки є політропними отрутами, що негативно впливають на всі органи гідробіонтів [12], бо його катіони володіють вираженою тілотропною дією та утворюють міцніші зв'язки з сульфгідрильними групами молекул ферментів, ніж катіони цинку [11]. Крім того, його присутність в клітинах навіть в низьких концентраціях знижує вміст аскорбінової кислоти та відновленого глутатіону, інгібує активність окремих ферментів систем, викликає канцерогенну та мутагенну дії, впливає на метаболізм кальцію та цинку [12]. При цьому, стійкість до дії іонів кадмію забезпечується трьома шляхами: активне викачування кадмію з клітин за участю специфічної АТФ-залежної системи; функціонування мультибілкової хеміосмотичної системи антипорту видалення іонів металу; детоксикація кадмію шляхом його зв'язування металотіонеїновою системою клітин [20].

На відміну від кадмію, цинк, як проміжна кислота Льюїса, належить до мікроелементів, що входять до складу багатьох ферментів, наприклад, активує аргіназу, амінопептидазу,

карбоксилазу, інгібує лужну фосфатазу, бере участь у регуляції гліколізу, у синтезі порфіринів та гемопротейнів, утворює комплекси з багатьма біологічно активними речовинами [33].

### Висновки

Отже, зазначені іони здатні в організмі тварин спричиняти багатоаспектний вплив, що в кінцевому випадку позначається на здатності організму підтримувати енергетичний гомеостаз, який у біомониторингових дослідженнях вважають одним із основних показників формування токсикорезистентності [1]. Регуляторні механізми у системах енергозабезпечення полягають у:

1. Вибірковому вилученні із метаболічних ланцюгів проміжних метаболітів (пірувату), що використовується у процесах детоксикації та для підтримання кислотно-основного і метаболічного гомеостазу.
2. Збільшенні енерговитрат, спрямованих на підтримання енергозабезпечення систем детоксикації.
3. Зниженні активності аеробних ланок енергозабезпечення та посиленні функціонування гліколізу.
4. Встановленні специфічного співвідношення інтенсивності окремих ланок метаболізму вуглеводів, який полягає в активуванні гліколізу та глюконеогенезу з можливим одночасним функціонуванням глюкозо-аланінового циклу.

1. Арсан О. М. Состояние и перспективы развития водной экотоксикологии / О. М. Арсан // Гидробиол. журн. – 2007. – Т. 43, № 6. – С. 50–64.
2. Балабан Р. Б. Роль трансаміназ і глутаматдегідрогеназ в адаптації риб і молюсків до іонів важких металів : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. біол. наук. Спеціальність "Гідробиологія" / Р. Б. Балабан. – Київ, 2011. – 22 с.
3. Балабан Р. Б. Функціональна роль трансаміназ в адаптації двостулкового молюска *Unio pictorum* до іонів важких металів ( $Mn^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Pb^{2+}$ ) / Р. Б. Балабан, В. З. Курант, В. В. Грубінко // Наук. зап. Терноп. нац. пед. ун-ту ім. Володимира Гнатюка. Сер.: Біологія. – 2004. – № 3-4(24). – С. 76–80.
4. Гандзюра В. П. Концепція шкодочинності в екології / В. П. Гандзюра, В. В. Грубінко. – Київ-Тернопіль : Вид-во ТНПУ ім. В. Гнатюка, 2008. – 144 с.
5. Горомосова С. А. Основне черты биохимии энергетического обмена мидий / С. А. Горомосова, А. З. Шапиро. – М. : Легкая и пищевая промышленность, 1984. – 120 с.
6. Грубінко В. В. Роль глутаміна в забезпеченні азотистого гомеостазу у риб / В. В. Грубінко. // Гидробиол. журн. – 1991. – Т. 27, № 4. – С. 46–56.
7. Грубінко В. В. Адаптивні реакції риб до аміаку водного середовища : автореф. дис. на здобуття наукового ступеня доктора біол. наук. Спец. "Гідробиологія" і "Біохімія" / В. В. Грубінко. – Київ, 1995. – 37 с.
8. Грубінко В. В. Роль металів в адаптації гідробіонтів : еволюційно-екологічні аспекти / В. В. Грубінко // Наук. зап. Терноп. нац. пед. ун-ту ім. Володимира Гнатюка. Сер.: Біологія. – 2011. – № 2(47). – С. 237–262.
9. Грубінко В. В. Роль глюкозо-аланінового циклу в адаптації риб к аміаку / В. В. Грубінко, О. М. Арсан // Доповіді НАН України. – 1995. – № 1. – С. 107–110.
10. Гуменюк Г. Б. Вплив важких металів ( $Zn^{2+}$ ,  $Pb^{2+}$ ) на активність NADP-залежної глутаматдегідрогенази в печінці та м'язах молюска *Unio pictorum* L. / Г. Б. Гуменюк, В. В. Грубінко // Наук. зап. Терноп. нац. пед. ун-ту ім. Володимира Гнатюка. Сер. Біол. Спец. випуск „Гідроекологія”. – 2005. – № 3(26). – С. 111–114.
11. Івашків Л. Я. Дисперсійний аналіз впливу  $Cd^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$  та  $Mn^{2+}$  на активність  $Na^+$ ,  $K^+$ -АТФ-ази мембран зародків в'юна / Л. Я. Івашків, М. В. Целевич, Н. М. Бойко, Д. І. Санагурський // Укр. біохім. журн. – 2005. – Т. 77, № 3. – С. 44–48.
12. Кадмий / Научные обзоры советской литературы по токсичности и опасности химических веществ. – Москва, 1984. – Вып. 69. – 59 с.
13. Кольман Я. Наглядная биохимия : пер. с нем. / Я. Кольман, К. Г. Рем. – М. : Мир, 2000. – 469 с.
14. Кондрашова М. Н. Взаимодействие процессов переаминирования и окисления карбоновых кислот при различных функциональных состояниях ткани / М. Н. Кондрашова // Биохимия. – 1991. – Т. 56, вып. 3. – С. 388–405.
15. Кривопиша В. В. Вплив стрес-факторів водного середовища на адаптивні функції нервової системи коропа : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. біол. наук. Спеціальність "Гідробиологія" / В. В. Кривопиша. – Київ, 2001. – 21 с.
16. Курант В. З. Роль білкового обміну в адаптації риб до дії іонів важких металів : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня доктора біол. наук. Спеціальність "Іхтіологія" / В. З. Курант. – Київ, 2003. – 38 с.

17. *Курант В. З.* Особливості метаболізму гліцину в печінці і скелетних м'язах коропа при інтоксикації йонами свинцю / В. З. Курант, С. В. Бродін, Ю. В. Синюк [і ін.] // Біологія тварин. – 1999. – Т. 1(2). – С. 73–76.
18. *Курант В. З.* Особливості метаболізму гліцину, аланіну та лейцину в організмі коропа за дії іонів важких металів / В. З. Курант, Ю. В. Синюк, В. В. Грубінко // Укр. біохім. журн. – 2002. – Т. 74, № 46(додаток 2). – С. 94–95.
19. *Курант В. З.* Функціонування кислих лізосомальних протеїназ в тканинах коропа за дії іонів важких металів / В. З. Курант, Р. Б. Балабан, В. В. Грубінко // Наук. зап. Терноп. держ. пед. ун-ту ім. Володимира Гнатюка. Сер.: Біологія. – 2003. – № 2(21). – С. 84–88.
20. *Кушкевич І.* Вплив важких металів на клітини мікроорганізмів / І. Кушкевич, С. Гнатуш, С. Гудзь // Вісник Львівського ун-ту. Сер.: Біологія. – 2007. – Вип. 45. – С. 3–28.
21. *Лукьяненко В. И.* Общая ихтиотоксикология / В. И. Лукьяненко. – М. : Лёгкая и пищ. пром-сть, 1983. – 320 с.
22. *Мецлер Д.* Биохимия / Д. Мецлер. – М. : Мир, 1980. – Т.1. – 407 с.
23. *Никаноров А. М.* Биомониторинг тяжелых металлов в пресноводных экосистемах / А. М. Никаноров, А. В. Жулидов, А. Д. Покаржевский. – Л. : Гидрометеоиздат, 1985. – 144 с.
24. *Ноздрюхина Л. Р.* Биологическая роль микроэлементов в организме животных и человека / Л. Р. Ноздрюхина. – М. : Наука, 1977. – 184 с.
25. *Романенко В. Д.* Механизмы температурной акклимации рыб / В. Д. Романенко, О. М. Арсан, В. Д. Соломатина. – Київ : Наукова думка, 1991. – 192 с.
26. *Сидоров В. С.* Аминокислоты рыб / В. С. Сидоров // Биохимия молодежи пресноводных рыб. – Петрозаводск, 1985. – С. 103–137
27. *Сімчук С. Р.* Особливості білкового складу сироватки крові тварин різних еколого-еволюційних груп за дії іонів металів / С. Р. Сімчук, В. О. Хоменчук, Ф. А. Прібіч, В. В. Грубінко // Біологія тварин. — 2009. — Т. 12, № 1. — С. 133—139.
28. *Синюк Ю. В.* Обмін амінокислот і фракційний склад білків у організмі коропа за дії іонів марганцю, цинку, міді та свинцю : автореф. дис. на здобуття наукового ступеня канд. біол. наук. Спеціальність "Біохімія" / Ю. В. Синюк. – Львів, 2003. – 20 с.
29. *Синюк Ю. В.* Влияние тяжелых металлов на качественный и количественный состав белков сыворотки крови карпа / Ю. В. Синюк, В. З. Курант, В. В. Грубинко // Гидробиол. журн. – 2003. – Т. 39, № 3. – С. 56–64.
30. *Сорвачёв К. Ф.* Основы биохимии питания рыб / К. Ф. Сорвачев. – М. : Лёгк. и пищ. пром-сть, 1982. – 247 с.
31. *Столяр О. Б.* Роль металотіонеїнів в детоксикації йонів міді, цинку, марганцю та свинцю в організмі прісноводних риб і молюсків : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня доктора біол. наук. Спеціальність "Біохімія" / О. Б. Столяр. – Львів, 2004. – 40 с.
32. *Столяр О. Б.* Влияние условий существования на связывание тяжелых металлов и окислительную деструкцию биомолекул в тканях пресноводного двухстворчатого моллюска *Anodonta cygnea* / О. Б. Столяр, В. В. Грубинко, Р. Л. Мыхайлив, Е. В. Мищук // Гидробиол. журн. – 2003. – Т. 39, № 6. – С. 73–82.
33. *Удрис Г. А.* Биологическая роль цинка / Г. А. Удрис, Я. А. Нейланд. – Рига, 1981. – 180 с.
34. *Филенко О.Ф.* Некоторые универсальные закономерности действия химических агентов на водные организмы : автореф. дисс. на соиск. ученой степени докт. биол. наук. Специальность "Гидробиология" / О. Ф. Филенко. – М. : МГУ, 1990. – 36 с.
35. *Хочачка П.* Биохимическая адаптация / П. Хочачка, Дж. Сомеро. – М. : Мир, 1988. – 568 с.
36. *Шульман Г. Е.* Использование белка в энергетическом обмене гидробионтов / Г. Е. Шульман, Г. И. Аболмова, А. Я. Столбов // Усп. соврем. биол. – 1993. – Т.113, №5. – С. 576–586.
37. *Яковенко Б. В.* Метаболізм гліцину в організмі коропа лускатого : автореф. дис. на здобуття наукового ступеня доктора біол. наук. Спеціальність "Біохімія" / Б. В. Яковенко. – Львів, 1993. – 37 с.
38. *Янович Л. М.* Вплив фенолу на активність ферментів переамінування у тканинах *Unio pictorum* / Л. М. Янович // Вісн. Львів. ун-ту. Сер.: Біологічна. – 2003. – Вип. 34. – С. 32–40.
39. *Clearwater S. J.* Bioavailability and toxicity of dietborne copper and zinc to fish (review) / S. J. Clearwater, A. M. Farag, J. S. Meyer // Compar. Biochem. Physiol. – 2002. – Vol. 132C, № 3. – P. 269–313.
40. *Creac'h Y.* Metabolisme azote chez les poissons / Y. Creac'h, F. Vellas, G. Bauche // Bull. Union of oceanogr. France. – 1974. – Vol. 6, № 4. – P.57–59.
41. *Goddard C.K.* Physiology of mollusca. Carbohydrate metabolism / C. K. Goddard, A. W. Martin– New York : Acad. Press, 1966. – Vol. 1. – P. 275–308.
42. *Goldberg A. L.* Regulation and significance of amino acid metabolism in sceletal muscle / A. L. Goldberg, T. W. Chang // Fed. Proc. – 1988. – Vol. 37, № 9. – P. 2301–2307.
43. *Hammen C. S.* Aminotransferase activities and amino acid excretion of bivalve mollusks and brachiopods / C. S. Hammen // Comp. Biochem. Physiol. – 1968. – Vol. 26 B, № 4. – P. 697–705.

44. Harper A. E. Some recent developments in the study of amino acid metabolism / A. E. Harper // Proc. Nutr. Soc. – 1983. – Vol. 42, № 3. – P. 489–495.
45. Hochachka P. W. Biochemical Adaptation : Mechanism and Process in Physiological Evolution / P. W. Hochachka, G. N. Somero. – New York-London : Oxford University Press US, 2002. – 466 p.
46. Hurst C. T. Structural and functional changes, produced in the gastropod mollusc, *Physa occidentalis*, in the case of parasitism by the larvae of *Echinostoma revolutum* / C. T. Hurst // Univ. Calif. Publ. Zool. – 1927. – Vol. 29. – P. 321–409.
47. Ishak M.M. Carbohydrate metabolism in uninfected and trematode-infected snails *Biomphalaria alexandrina* and *Bulinus truncatulus* / M. M. Ishak, A. M. Mohamed, A. A. Sharaf // Comp. Biochem. Physiol. – 1975. – Vol. 51. – P. 499–505.
48. Manohar L. Variations in Aminotransferase Activity and Total Free Amino Acid Levels in the Body Fluid of the Snail *Lymnaea luteola* during Different Larval Trematode Infections / L. Manohar, P. Rao. Venkateswara, K. S. Swamy // J. Invertebr. Pathol. – 1972. – Vol. 19, № 1. – P. 36–41.
49. Marafante E. Binding of mercury and zinc to cadmium-binding protein in liver and kidney of goldfish (*Carassius auratus L.*) / E. Marafante // Experientia. – 1976. – Vol. 32. – P. 149–152.
50. Waldichuk M. Some biological concerns in heavy metals pollution / M. Waldichuk // Pollution and physiology of marine organism. – New York – San-Francisco – London : Acad. Press, 1974. – P. 1–58.
51. Wolfson A.M.J. Amino acids – their role as energy source / A. M. J. Wolfson // Proc. Nutr. Soc. – 1983. – Vol. 42, № 3. – P. 489–495.
52. Yoshida T. Comparative study of major parthways of glicine and serine catabolism in vertebrate livers / T. Yoshida, R. Kikuchi // J. Biochem. – 1972. – Vol. 72. – P. 1503–1516.

*В.В. Грубинко<sup>1</sup>, Г.Е. Киричук<sup>2</sup>, В.З. Курант<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Тернопольский национальный педагогический университет им. Владимира Гнатюка

<sup>2</sup>Житомирский государственный университет им. Ивана Франко

#### ЭНЕРГЕТИЧЕСКАЯ РОЛЬ АМИНОКИСЛОТ В АДАПТАЦИИ К ТЯЖЕЛЫМ МЕТАЛЛАМ У ПРЭСНОВОДНЫХ РЫБ И МОЛЛЮСКОВ

В статье, опираясь, в основном, на результаты собственных исследований, в сравнительном аспекте проанализирован вопрос об участии аминокислот в энергетическом метаболизме в организме пресноводных рыб и моллюсков при действии растворимых солей тяжелых металлов. Показано токсичное и регуляторное действие ионов тяжелых металлов относительно участия аминокислот в энергетическом обмене гидробионтов в зависимости от их физико-химической природы, концентрации, длительности влияния и видовых особенностей реакции и стойкости к ионам тяжелых металлов пресноводных рыб и моллюсков.

*Ключевые слова: тяжелые металлы, аминокислоты, энергетический обмен, токсичность, регуляция, физиолого-биохимическая адаптация, пресноводные рыбы и моллюски*

*V.V. Grubinko<sup>1</sup>, G.E. Kirichuk<sup>2</sup>, V.Z. Kurant<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Volodymyr Hnatiuk Ternopil National Pedagogical University

<sup>2</sup>Ivan Franco Zhitomir State University

#### THE ROLE OF AMINO ACIDS IN ADAPTATION TO HEAVY METALS AT FRESHWATER FISHES AND MOLLUSC

In the article, leaning, mainly, on the results of own researches, a question is analysed about participating of amino acids in energetic metabolism in the organism of freshwater fishes and mollusc at the action of soluble salts of heavy metals. The toxic and regulator action of ions of heavy metals is shown in relation to participating of amino acids in the energetic exchange of aquatic lives depending on their physical and chemical property, concentration, duration of influence and specific features of reaction and firmness to the ions of heavy metals of freshwater fishes and mollusc.

*Key words: heavy metals, amino acids, energetic metabolism, toxicness, adjusting, physiology and biochemistry adaptation, freshwater fishes and mollusc*