

фотопериодах, не перевищало рівня спонтанного мутагенеза для риб (20%). Найбільше кількість МЯ наблюдалась у виду з найбільшою екологічною валентністю (карася) як під впливом абиотических так і генотоксического фактора (іони хрому) і складала 5,73 і 9,74% відповідно, в середньому по всіх тканинах, найменше – з самої узкої (сомика п'ятнистого) – 3,71 і 5,59%. Кількість МЯ являється видо- і тканеспецифічною характеристикою і залежить від фотопериода і температури.

Ключеві слова: микроядра (МЯ), риби, температура, фотоперіод

V.D. Romanenko, Yu.O. Stoyka, L.S. Kipnis
Institute of Hydrobiology of NAS of Ukraine, Kyiv

INFLUENCE OF TEMPERATURE AND PHOTOPERIOD ON SPONTANEOUS MUTAGENESIS IN FISH CELLS

The problem of micronuclei (MN) quantity in different tissues of common carp (*Cyprinus carpio* L.), crucian carp (*Carassius auratus gibelio* L.) and peppered catfish (*Corydoras paleatus* (Jenyns)) under the influence of varied temperature and photoperiod is discussed in the paper. The highest frequency of MN is detected in fin epithelial cells (7.6, 8.24 and 5.82% respectively to fish species). The lowest frequency of MN is observed in hepatocytes of common and crucian carp (1.13 and 3.62%) and in peppered catfish erythrocytes (2.27%). Detected number of MN in fish tissues under varied temperature and photoperiod corresponds to spontaneous mutagenesis level (lower than 20%). The highest MN frequency is observed in ecologically tolerant fish crucian carp (5.73% under abiotic factors influence and 9.74% under toxic impact). The lowest MN frequency is observed in non tolerant peppered catfish (3.71% under abiotic factors influence and 5.59% under toxic impact). MN quantity under potassium dichromate impact (5 mg Cr⁶⁺/l) is significantly different with natural conditions for all species and tissues (excepting erythrocytes). It is demonstrated that number of MN in tissues and species specific parameter, which is dependent on photoperiod and temperature.

Keywords: micronuclei, fish, temperature, photoperiod

УДК: 591.5:592/599-114.5

О.В. РОМАНЕНКО

Національний медичний університет імені О. О. Богомольця
пр. Перемоги 34, Київ, 03057, Україна

ТОКСИЧНІ ПЕПТИДИ МОЛЮСКІВ CONUS ЯК ЕКОЛОГІЧНІ ЧИННИКИ ТА ПОТЕНЦІЙНІ ЛІКАРСЬКІ ЗАСОБИ

В статті акцентується увага на отруйних молюсках *Conus*, на ролі їх токсичних пептидів як екологічних чинників. Висвітлюються шляхи дії токсинів в організмі. Обговорюються потенційні можливості їх використання в медицині.

Ключові слова: отруйні молюски, екологічні чинники, токсичні пептиди, механізми дії токсинів

Поміж екологічних чинників найбільш складною категорією є біотичні. У багатьох тварин, яких представники інших видів намагалися використовувати як джерело живлення, виникли в ході еволюції різноманітні захисні пристосування. До них належить, зокрема, здатність до утворення отрути та наявність раничого апарату для її введення в тварину іншого виду. Вони використовуються для захисту від ворогів, а також під час полювання тварини з метою забезпечення її власних харчових потреб. Отруйні для тварин інших видів сполуки можуть спричинювати знерухомлення та смертність здобичі [1-3].

До категорії активно-отруйних озброєних тварин належать Червононогі молюски роду *Conus*, що мешкають в теплих водах Індійського та Тихого океанів. Ці тварини мають розвинений отруйний апарат, до складу якого входять отруйний міхурець, протока для отрути,

радула (тертка) із зубами, а також розміщений на передньому кінці тіла рухомий м'язовий хоботок, озброєний одним із передніх зубів радули. Каналом, що знаходиться в цьому зубі, відбувається надходження отрути в тіло жертви. Молюски роду *Conus* використовують отруйний апарат під час полювання (усі представники цього роду – хижаки). Відомо понад 700 видів цього роду. За харчовими уподобаннями їх можна умовно розділити три групи: одна включає молюсків *Conus*, що полюють на риб (притаманно *Conus striatus*, *C. geographus*), друга – на інших молюсків (притаманно *C. textile*, *C. pannaceus*), третьою – на поліхет (притаманно *C. imperialis*, *C. vexillum*). Для швидко знерухомлення жертви, а також для ефективно захисту від ворогів молюски *Conus* використовують отруту, що містить токсичні пептиди, до складу яких входять 10 – 50 амінокислотних залишків. В організмі молюска кожного виду утворюється 100 – 200 таких пептидів, характерних саме для нього. Потрапивши в організмі жертви, вони чинять селективний вплив на конкретний тип іонних каналів, рецепторів нейротрансмітерів або мембранних переносників останніх. Зважаючи на велике різноманіття токсичних пептидів, які продукуються молюсками *Conus* кожного окремого виду, можна очікувати, що тваринами даного роду утворюються загалом декілька десятків тисяч отруйних сполук. Молюски *Conus* використовують їх поза межами організму (екзогенно) для забезпечення реалізації харчових потреб та захисту від ворогів і згадані токсичні пептиди є важливими екологічними чинниками. Їх різноманіття швидко зростає, про що свідчать дані молекулярного аналізу генів, у яких міститься інформація про названі пептиди [4-8, 10-13, 15].

Синергічна дія в організмі жертви токсичних пептидів, уведених молюском *Conus*, на чутливі до них структури забезпечує ефективне полювання. Так, у риби, що виявилася ураженою молюском *C. purpurascens*, спочатку настає миттєве різке збудження нервової системи, що оглушує жертву, а потім з певним латентним періодом розвивається блокування нервово-м'язової передачі, внаслідок чого припиняється виникнення потенціалів дії м'язів [14].

Молюски *Conus*, що зазвичай живляться рибою, можуть вражати людину, якщо та необережно доторкнеться до них [15]. Це супроводжується у постраждалого сильним болем у місці уколу, онімінням спочатку прилеглих тканин, а потім скелетних м'язів, зокрема жувальних, мімічних, м'язів кінцівок, порушенням координації рухів, слуху, зору, а якщо розвинеться параліч дихальних м'язів, то може настати смерть.

Токсичні пептиди, що продукуються молюсками *Conus*, високоафінно зв'язуються з відповідними структурами в організмі жертви, зокрема іонними каналами, рецепторами, білками-переносниками клітинної мембрани. За особливостями будови згадані токсичні пептиди поділяють на дві групи. В першу входять сполуки, що містять декілька дисульфідних зв'язків (таких пептидів більшість, їх називають конотоксинами), а в другу – тільки один дисульфідний зв'язок або не мають жодного (таких пептидів меншість). Крім того, токсичні пептиди поділяють на декілька “суперродин”, кожна з яких включає окремі “родини”. Пептиди однієї “суперродини” схожі за розташуванням цистеїнових залишків і за висококонсервативною сигнальною послідовністю у їхніх попередників. Пептиди конкретної “родини” такої “суперродини” характеризуються тільки їм притаманними властивостями дисульфідних зв'язків і фармакологічної активності [11, 15].

Отрута згаданих молюсків *Conus*, що полюють на риб, забезпечує: 1) миттєве збудження нервової системи жертви за рахунок дії різних конотоксинів: блокаторів потенціалзалежних калієвих каналів; сполук, які затримують інактивацію потенціалзалежних натрієвих каналів; 2) блокування нервово-м'язової передачі з розвитком повного паралічу жертви за рахунок дії різних конотоксинів: конкурентних антагоністів постсинаптичних нікотинових ацетилхолінових рецепторів; неконкурентних антагоністів постсинаптичних нікотинових ацетилхолінових рецепторів; блокаторів потенціалзалежних кальцієвих каналів нервових закінчень, внаслідок чого порушується квантова секреція нейротрансмітера з нервових закінчень; блокаторів потенціалзалежних натрієвих каналів поперечно-позмугованих м'язів [14, 15]. Хоча присутні в конкретній отруті пептидні токсини по різному впливають на організм жертви, проте діють вони синергічно на пре- та постсинаптичні структури, пов'язані із забезпеченням нервово-м'язової передачі. Це дозволяє молюску *Conus* ефективно полювати на рибу, якою він живиться.

Склад отрути кожного виду молюсків *Conus* є унікальним за набором токсичних пептидів [9, 11]. Вони використовуються для забезпечення ефективного паралізування саме тих тварин, на яких в даний час полює молюск *Conus*. Проте у різні сезони склад останніх може змінюватися, що зумовлює необхідність продукування молюском токсинів саме з урахуванням потенційних жертв, які можуть стати для нього джерелом живлення. У тварин різних видів є відмінності в будові іонних каналів, субодиниць рецепторів нейротрансмітерів та мембранних транспортерів, тому для молюска *Conus* життєво важливим є утворення токсичних пептидів, специфічних до структур саме потенційної жертви. Цією обставиною можна пояснити суттєві відмінності, виявлені в різні сезони, в якісному та кількісному складі отрути молюсків *C. vexillum* з однієї конкретної ділянки Південно-Китайського моря [15].

Утворення молюсками *Conus* колосального різноманіття токсичних пептидів можна розглядати як приклад ефективної стратегії оперативного реагування на зміни потенційних джерел харчових ресурсів, ворогів і конкурентів, що відбуваються в навколишньому середовищі, зокрема в екстремальній формі внаслідок кліматичних змін та геологічних катастроф [11]. З цим може бути пов'язане надзвичайне видове багатство роду *Conus*. Для кожного виду тварин є притаманна йому екологічна ніша, відповідний спектр біотичних зв'язків, що може бути підґрунтям для пояснення принципових відмінностей у складі отрути різних видів молюсків роду *Conus*. Є підстави розглядати такі відмінності як віддзеркалення того спектра жертв, ворогів та конкурентів, що трапляються в ареалі поширення конкретного виду *Conus*.

Токсичні пептиди молюсків *Conus* характеризуються дуже високою селективністю дії. Наприклад, чутливість потенціалзалежних кальцієвих каналів N-типу до блокування деякими конотоксинами у сто мільйонів разів більша, ніж у потенціалзалежних кальцієвих каналів інших типів [11]. Дуже значна вибірковість дії токсичних пептидів, що продукуються молюсками *Conus*, дозволяє розглядати ці сполуки як джерело потенційних лікарських засобів. При цьому слід зауважити, що важливою характеристикою токсичності тієї чи іншої речовини є доза, в якій вона здатна виявляти конкретну дію в організмі, до якого потрапила, а величина такої дози залежить від способу введення відповідної речовини в цей організм, його вікових, статевих, індивідуальних особливостей, метаболічних перетворень ксенобіотика в ньому.

Дослідженню токсичних пептидів з отрути молюсків *Conus* сприяє те, що багато з них містить лише біля 20 амінокислотних залишків, завдяки чому згадані пептиди можна відносно легко синтезувати в лабораторних умовах [15]. Серед надзвичайного різноманіття токсичних пептидів, виділених з отрути молюсків *Conus*, фармакологічні властивості досліджено у менше ніж одного відсотка, проте вже окреслено коло сполук, що можуть виявитися корисними як потенційні лікарські засоби. Поміж них є такі, що вивчаються і вважаються перспективними для лікування епілепсії (реєструється взаємодія з рецепторами N-метил-D-аспартату), для знеболювання (реєструється взаємодія одних з потенціалзалежними кальцієвими каналами N-типу, других – з рецепторами нейротензину, третіх – з переносниками норадреналіну, четвертих – з потенціалзалежними натрієвими каналами збудливих мембран), для допомоги хворим з інфарктом міокарда.

Одні з токсичних пептидів, виділених з отрути молюсків *Conus*, проходять регламентовані доклінічні дослідження, інші – відповідні етапи клінічних досліджень, а синтетичний пептид зіконотід, будова якого така сама, як у одного з конотоксинів з отрути молюска *C. magus*, що полює на риб, вже застосовується в медичній практиці для угамування в людини хронічного болю [11, 16, 17]. За допомогою імплантованої помпи зіконотід вводять під спинномозкову оболонку хворого і це створює можливість для безпосередньої дії препарату на потенціалзалежні кальцієві канали N-типу, локалізовані в нервових закінченнях волокон типів А-дельта та С, що розміщені у пластинках I та II дорсальних корінців спинного мозку.

Зважаючи на зазначене вище, актуальним є висвітлення у процесі фахової підготовки студентів вищих медичних та фармацевтичних навчальних закладів питання про отримання з отрути молюсків *Conus* біологічно активних сполук та вивчення їх властивостей як потенційних лікарських засобів.

1. Солбриг О. Популяционная биология и эволюция: Пер. с англ. Штилькин Т. И.; под ред. и с предисл. А. Д. Базыкина / О. Солбриг, Д. Солбриг. – М.: Мир, 1982. – 488 с.
2. Степановских А. С. Биологическая экология. Теория и практика / А. С. Степановских. – М.: ЮНИТИ-ДАНА, 2009. – 791 с.
3. Шилов И. А. Экология: учебн. для биол. и мед. спец. вузов / И. А. Шилов. – М.: Высшая школа, 1997. – 512 с.
4. Arias H. R. α -Conotoxins / H.R. Arias, M.P. Blanton // Int. J. Biochem. Cell Biol. – 2000. – Vol. 32. – P. 1017–1028.
5. Bulaj G. Folding of conotoxins: formation of the native disulfide bridges during chemical synthesis and biosynthesis of *Conus* peptides / G. Bulaj, B. M. Olivera // Antioxidants & Redox Signaling. – 2008. – Vol. 10, № 1. – P. 141–155.
6. Craig A. G. Post-translationally modified neuropeptides from *Conus* venoms / A. G. Craig, P. Bandyopadhyay, B. M. Olivera // Eur. J. Biochem. – 1999. – Vol. 264. – P. 271–275.
7. Daly N.L. Structural studies of conotoxins / N. L. Daly, D. J. Craik // Life. – 2009. – Vol. 61, № 2. – P. 144–150.
8. Ekberg J. Conotoxin modulation of voltage-gated sodium channels / J. Ekberg, D. J. Craik, D. J. Adams // Int. J. Biochem. Cell Biol. – 2008. – Vol. 40. – P. 2363–2368.
9. Espiritu D. A. Venomous cone snails: Molecular phylogeny and the generation of toxin diversity / [D. A. Espiritu, M. Watkins, V. Dia-Monje et al.] // Toxicon. – 2001. – Vol. 39, № 12. – P. 1899–1916.
10. Lewis R. J. Conotoxins as selective inhibitors of neuronal ion channels, receptors and transporters / R. J. Lewis // Life. – 2004. – Vol. 56, № 2. – P. 89–93.
11. Olivera B. M. *Conus* peptides: biodiversity-based discovery and exogenomics / B. M. Olivera // J. Biol. Chem. – 2006. – Vol. 281, № 42. – P. 31173–31177.
12. Teichert R. W. Discovery and characterization of the short κ A-conotoxins: A novel subfamily of excitatory conotoxins / R. W. Teichert, R. Jacobsen, H. Terlau [et al.] // Toxicon. – 2007. – Vol. 49. – P. 318–328.
13. Terlau H. *Conus* Venoms: a rich source of novel ion channel-targeted peptides / H. Terlau, B. M. Olivera // Physiol. Rev. – 2004. – Vol. 84. – P. 41–68.
14. Terlau H. Strategy for rapid immobilization of prey by fish-hunting marine snail / [H. Terlau, K. J. Shon, M. Grilley et al.] // Nature. – 1996. – Vol. 381, № 6578. – P. 148–151.
15. Wang C.-Z. *Conus* peptides – a rich pharmaceutical treasure / C.-Z. Wang, C.-W. Chi // Acta Biochim. Biophys. Sin. – 2004. – Vol. 36, № 11. – P. 713–723.
16. Williams J. A. Ziconotide: an update and review / J. A. Williams, M. Day, J. E. Heavner // Expert Opin. Pharmacother. – 2008. – Vol. 9, № 9. – P. 1575–1583.
17. Xiao C. NR2B-selective conantokin peptide inhibitors of the NMDA receptor display enhanced antinociceptive properties compared to non-selective conantokins / C. Xiao, Y. Huang, M. Dong [et al.] // Neuropeptides. – 2008. – Vol. 42. – P. 601–609.

A.V. Романенко

Национальный медицинский университет имени А. А. Богомольца, Киев

ТОКСИЧЕСКИЕ ПЕПТИДЫ МОЛЛЮСКОВ CONUS КАК ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ И ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ ЛЕЧЕБНЫЕ СРЕДСТВА

В статье акцентируется внимание на ядовитых моллюсках *Conus*, на роли их токсических пептидов как экологических факторов. Освещаются пути действия токсинов в организме. Обсуждаются потенциальные возможности их применения в медицине.

Ключевые слова: ядовитые моллюски, экологические факторы, токсические пептиды, механизмы действия токсинов.

O.V. Romanenko

O. O. Bogomolets National Medical University, Kyiv

TOXIC PEPTIDES OF MOLLUSCS CONUS AS ECOLOGICAL FACTORS AND POTENTIAL MEDICAL DRUGS

The article emphasizes the poisonous molluscs *Conus*, the role of their toxic peptides as ecological factors. The mechanisms of toxins action in the organism are highlights. The potential possibilities of their usage in medicine are discussed.

Keywords: poisonous molluscs, ecological factors, toxic peptides, mechanisms of toxins action