

БИОЛОГИЯ

УДК 577.1:597

DOI: 10.21779/2542-0321-2021-36-1-115–121

М.М. Габибов, А.И. Рабаданова

Динамика содержания белков в тканях разновозрастных карповых рыб при комбинированном действии солей тяжелых металлов

Дагестанский государственный университет; Россия, 367000, г. Махачкала, ул. М. Гаджиева, 43а; ashty06@mail.ru

Исследовано комплексное влияние солей тяжелых металлов (Pb^{2+} , Cd^{2+} , Mn^{2+}) на показатели белкового обмена тканей разновозрастных особей карпа (*Cyprinus carpio* L.). Для исследования брали гомогенаты тканей печени, почек и скелетных мышц рыб. О степени влияния смеси тяжелых металлов на интенсивность обмена белков судили по содержанию общего белка и его фракций (альбуминов, глобулинов) на 5-е и 15-е сутки их воздействия.

Показано, что на 5-е и 15-е сутки комбинированного воздействия ионов тяжелых металлов отмечаются фазные изменения в содержании белков и их фракций в органах сеголеток и годовиков карпа. Ионы Pb^{2+} , Cd^{2+} и Mn^{2+} при их комбинированном действии не обладают синергизмом действия и не оказывают кумулятивного эффекта.

Ключевые слова: *карп, тяжелые металлы, кадмий, свинец, марганец, белок, альбумин, глобулин, сеголетки, годовики.*

Рост антропогенной нагрузки в последние годы сопровождается поступлением тяжелых металлов в гидробиоценозы и их передачей по трофическим цепям. Тяжелые металлы могут аккумулироваться в различных органах и тканях гидробионтов, вызывая патологические изменения на молекулярном, клеточном и внутриклеточном уровнях, отдаленные мутагенные эффекты, снижение биохимических показателей и изменение уровня активности антиоксидантных ферментов, гемоглобина и показателей форменных элементов крови [1–9].

В последнее время (октябрь–ноябрь 2020 г.) наблюдалась массовая гибель тюленей на дагестанском побережье Каспийского моря. Одной из косвенных причин этого явления могло стать продолжающееся загрязнение вод Каспийского бассейна. По данным Института экологии и устойчивого развития Дагестанского государственного университета, в тканях и органах мертвых тюленей обнаружены высокие концентрации тяжелых металлов. Очевидно, что накопление токсикантов отмечается в тканях и органах не только тюленей, но и остальных гидробионтов, в частности рыб.

Реакция рыб на загрязнение токсичными веществами зависит от многих факторов: массы рыб [5], их трофического положения, возраста, а также специфики и длительности действия токсиканта и может проявляться в последовательном вовлечении в адаптационный процесс необходимых для этого функциональных систем [10–15]. Важную роль в этом играет состояние органов и тканей рыб. В условиях естественной среды развитие токсического процесса протекает одновременно с мобилизацией адаптивных реакций к действующему фактору, которые обладают более выраженным эффектом [2–3]. Немалую роль в адаптации играет изменение интенсивности обмена веществ,

прежде всего, белкового. Эффект действия тяжелых металлов на обмен белков обусловлен липофильностью действия их комплексов и способностью ковалентно связываться с сульфгидрильными (-SH) группами клеточных белков. В результате они депонируются и очень медленно выводятся из организма, при этом интенсивнее всего накопление происходит при повышенном содержании функциональных групп белков (-SH, -NH₂, -COOH, -OH) [16].

Для определения характера такой зависимости нами было исследовано комплексное влияние тяжелых металлов на состояние белкового обмена в организме сеголеток и годовиков карпа.

Материалы и методы. Объектом исследования выбрана широко распространенная в Республике Дагестан продовольственная рыба – карп (*Cyprinus carpio L.*), выращенная на Широкольском рыболовном комбинате.

Рыб перевозили в специальных мешках с кислородом из Широкольского рыболовного комбината Республики Дагестан в Махачкалу.

Рыбы помещались в аквариумы объемом 250 л, в которых создавались условия постоянного температурного и газового режима. В течение одного месяца рыбы проходили адаптацию в условиях аквариума. В эксперименте использовались выжившие рыбы.

В качестве токсикантов была использована смесь солей тяжелых металлов: ацетата свинца (0,5 мг/дм³; ПДК – 0,1 мг/дм³); хлорида кадмия (1 мг/дм³; ПДК – 0,005 мг/дм³) и сульфата марганца (0,1 мг/дм³; ПДК – 0,01 мг/дм³).

Для исследования брали красные, белые мышцы, печень, почки рыб, в гомогенатах которых определяли содержание общего белка и белковых фракций.

Определение концентрации белков в тканях основано на образовании окрашенных продуктов ароматических аминокислот с реактивом Фолина в сочетании с биуретовой реакцией на пептидные связи [17]. Разделение белковых фракций проводили методом электрофореза [18].

Электрофоретическое фракционирование белков проводили в агарозном геле на аппарате «Beckman» с использованием диагностического набора «Corway Gel Protein 100».

Экстракт тканей перед нанесением разбавляли 2:1 раствором вероналивого буфера (tris-Barbital buffer). Разделение продолжалось 30 мин при напряжении 100 В. При фракционировании белков выделяли альбуминовую и глобулиновую фракции.

Полученные данные подвергали вариационно-статистической обработке методом малой выборки [19].

Результаты и их обсуждение. Полученные результаты по динамике содержания белков и белковых фракций в скелетных мышцах, печени и почках сеголеток карпа представлены в табл. 1, 2 и на рис. 1.

Полученные нами результаты свидетельствуют о зависимости содержания белков и их фракций в органах карповых рыб от специфики органа и длительности экспозиции рыб в токсической среде.

Из представленных данных видно, что на 5-е сутки воздействия смеси ионов Cd²⁺, Pb²⁺ и Mn²⁺ в печени, почках и белых скелетных мышцах сеголеток карпа отмечалось снижение содержания общего белка. При этом наиболее существенное уменьшение данного показателя было обнаружено в почках (на 49,1 %) и в печени (на 45,3 %). Разнонаправленные изменения отмечались в содержании белка в скелетных мышцах: если в белых мышцах его уровень оказался ниже на 20,6 %, то в красных мышцах – напротив, возрос на 17,8 % по сравнению с контролем.

Экспозиция годовиков в среде со смесью тяжелых металлов в течение 5 суток привела к снижению содержания общего белка в скелетных мышцах и печени карпа. Наиболее интенсивно этот процесс протекал в белых мышцах и в печени годовиков карпа, где уровень протеина на этом этапе экспозиции меньше контроля на 57,1 и 46,9 % соответственно. В почках, напротив, отмечено увеличение концентрации протеина на 55,1 %. Аналогичные изменения в содержании общего белка в тканях сеголеток и годовиков карпа отмечены нами и при действии смеси тяжелых металлов в течение 15 суток.

Отмеченные изменения в содержании белков при интоксикации тяжелыми металлами, очевидно, связаны с нарушением процессов биосинтеза белков, что указывает на то, что токсический эффект затрагивает молекулярный уровень.

Таблица 1. Содержание белков (мг/г ткани) и белковых фракций (%) в различных органах сеголеток карпа при комбинированном действии ионов Cd^{2+} , Pb^{2+} , Mn^{2+} ($M \pm m$, $n = 20$)

Дни экспозиции	Показатели	Белые скелетные мышцы	Красные скелетные мышцы	Печень	Почки
Контроль	Общий белок	16,0±1,6	16,3±1,6	16,1±1,2	11,6±1,1
	альбумины	32,0±3,1	24,0±2,1	46,0±3,3	39,0±2,8
	глобулины	68,1±2,2	75,0±3,1	59,7±2,7	61,9±2,9
	A/G	0,47±0,06	0,32±0,03	0,77±0,08	0,63±0,04
5-е сутки	Общий белок	12,7±0,9 [#]	19,2±2,0 [#]	8,8±0,7 [#]	5,9±0,7 [#]
	альбумины	40,7±3,7 [#]	38,5±3,3	33,0±2,8 [#]	49,0±2,7
	глобулины	58,9±3,1	62,1±4,2	66,0±2,7	51,0±2,8
	A/G	0,69±0,06	0,62±0,05	0,50±0,03	0,96±0,07
15-е сутки	Общий белок	7,4±0,6 ^{**}	26,3±2,1 [#]	11,7±1,0 ^{**}	8,3±0,8 [#]
	альбумины	46,6±3,9 [*]	24,0±2,4	38,0±3,1 ^{**}	46,2±2,8
	глобулины	62,9±2,6	75,0±3,1	59,4±	53,1±2,9
	A/G	0,74±0,06	0,32±0,07	0,64±0,05	0,87±0,01

Таблица 2. Содержание белков (мг/г ткани) и белковых фракций (%) в различных органах годовиков карпа при комбинированном действии ионов Cd^{2+} , Pb^{2+} , Mn^{2+} ($M \pm m$, $n = 20$)

Дни экспозиции	Показатели	Белые скелетные мышцы	Красные скелетные мышцы	Печень	Почки
Контроль	Общий белок	36,6±5,4	16,2±2,4	35,4±3,5	23,4±2,6
	альбумины	27,0±3,9	29,0±2,1	32,8±2,9	29,1±1,8
	глобулины	73,2±4,1	70,7±3,9	67,5±1,8	70,9±4,3
	A/G	0,36±0,02	0,41±0,05	0,49±0,06	0,41±0,06
5-е сутки	Общий белок	15,7±0,9 ^{**}	13,2±1,1	18,8±0,9 ^{**}	37,3±0,7 ^{**}
	альбумины	20,4±2,8	19,5±3,3	28,0±2,5	34,7±2,5
	глобулины	76,0±1,8	80,5±3,8	71,8±3,5	67,0±4,1
	A/G	0,27±0,06	0,22±0,05	0,39±0,07	0,51±0,07

15-е сутки	Общий белок	27,4±1,2	26,3±2,1*	20,4±1,1**	39,1±0,8**
	альбумины	37,3±3,9	34,0±1,9	40,1±3,1	22,6±2,2 [#]
	глобулины	67,5±3,6	65,4±1,9	59,9±2,6	77,9±5,3
	A/G	0,55±0,02	0,52±0,06	0,67±0,04	0,29±0,02

В содержании белковых фракций при комбинированном действии тяжелых металлов также наблюдались неоднозначные изменения. На 5-е сутки действия смеси ионов тяжелых металлов доля альбуминов возрастала в почках, белых и красных мышцах и снижалась в печени. При этом значительнее всего повышение уровня альбуминовой фракции имело место в красных (на 60,4 %), затем в белых мышцах (на 27,2 %) и почках (на 25,6 %). В печени доля альбуминовой фракции снижалась на 28,2 % по сравнению с контролем.

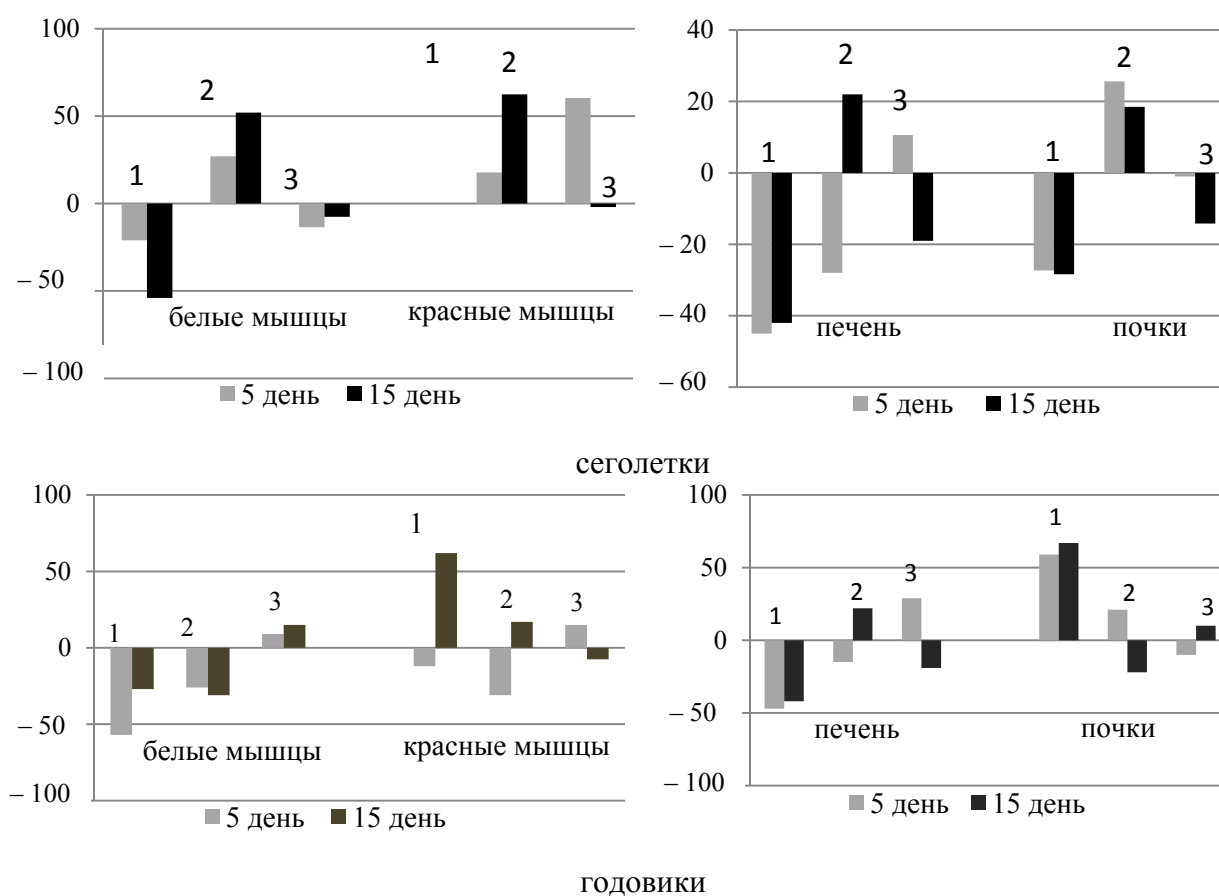


Рис. 1. Динамика содержания белков и их фракций в органах сеголеток и годовиков карпа при комбинированном воздействии солей тяжелых металлов (в % по отношению к контролю)

Примечание: 1 – общий белок, 2 – альбумины, 3 – глобулины.

На 5-е сутки комбинированного действия ионов тяжелых металлов в глобулиновой фракции разных тканей сеголеток карпа наблюдались также разнонаправленные изменения. При этом в белых и красных скелетных мышцах данный показатель сни-

жался на 40,2 и 17,2 % соответственно, в печени повышался на 10,6 %, тогда как в почках снижался на 17,3 % по сравнению с контролем.

Динамика содержания альбуминов и глобулинов сопровождалась изменением А/Г-индекса. На 5-е сутки воздействия смеси ионов Cd^{2+} , Pb^{2+} , Mn^{2+} данный показатель менялся в сторону преобладания содержания альбуминов над глобулинами во всех рассматриваемых органах (особенно в красных скелетных мышцах), за исключением печени.

Аналогичные изменения белковых фракций в исследованных органах сеголеток карпа наблюдались и на 15-е сутки комбинированного воздействия ионов тяжелых металлов (Cd^{2+} , Pb^{2+} , Mn^{2+}). При этом значительно выше всего уровень альбуминовой фракции возрастал в белых мышцах (на 45,6 %), затем в почках (на 18,5 %). В печени уровень альбуминовой фракции снижен на 17,4 %, в красных мышцах не отличается от контроля.

На 15-е сутки воздействия тяжелых металлов изменение соотношения А/Г носило сходный характер в белых мышцах и в почках как сеголеток, так и годовиков карпа, и было направлено на увеличение содержания альбуминов. Эта тенденция была более выражена в белых мышцах. Характер изменения А/Г в печени сеголеток и годовиков карпа был противоположен: если у сеголеток отмечалось увеличение глобулиновых фракций, то у годовиков – напротив, изменения были направлены в сторону повышения альбуминов. Что касается красных мышц, то в них это соотношение повышалось у годовиков и не отличалось от контроля у сеголеток (табл. 1, 2; рис. 1).

Таким образом, сравнительный анализ полученных данных показал, что при комбинированном воздействии ионов тяжелых металлов в динамике содержания белков и их фракций в тканях разновозрастных карповых рыб (сеголеток и годовиков) существенной разницы не наблюдалось, и эти изменения носили фазный характер.

Учитывая важность белкового обмена в поддержании нормальной жизнедеятельности организма рыб, можно представить себе последствия хронического действия ионов тяжелых металлов: нарушение коллоидно-осмотического давления, транспорта веществ, изменение аминокислотного состава и конфигурации белков, пептидгидролазной активности, снижение иммунных механизмов организма, что в конечном итоге может привести к патологическим изменениям, несовместимым с жизнью [1–4, 6, 9, 12, 13, 15].

На основании полученных нами результатов можно заключить, что наблюдаемые изменения в содержании общего белка и его фракционного состава в пределах заданной в эксперименте токсикологической нагрузки носят адаптивный характер, выше которого возможны необратимые патологические изменения в тканях и органах.

Литература

1. Пыхтеева Е.Г. и др. Токсикология тяжелых металлов – облигатных контаминантов природных вод. – 2002. – Режим доступа: <http://www.ecologylife.ru/voda-izdorovje-2002/toksikologiya-tyazhyolyih-metallov-%E2%80%9393.html>
2. Гераскин П.П., Металлов Г.Ф., Шелухин Г.К., Журавлев Г.Ф. и др. Физиологическое состояние осетровых и килек в условиях воздействия на них антропогенных факторов // Рыбохоз. исслед. на Каспии. Итоги НИР за 2003 год. – Астрахань, 2003. – 469 с.
3. Голованова И.Л. Влияние тяжелых металлов на физиолого-биохимический статус рыб и водных беспозвоночных // Биология внутренних вод. – 2008. – № 1 – С. 99–108. – Режим доступа: <http://www.maikonline.com/maik/showarticle.do?auid=vafcvu21du&lang>
4. Al-Asgah N.A., Abdel-Warith A.W.A., Younis E.S.M., Allam H.Y. Haematological and biochemical parameters and tissue accumulations of cadmium in *Oreochromis niloticus*

exposed to various concentrations of cadmium chloride // Saudi J. Biol. Sci. – 2015. – V. 22. – P. 543–550.

5. Donald D.B., Wissel B., Anas M.M. Species-specific mercury bioaccumulation in a diverse fish community // Environmental Toxicology and Chemistry. – 2015. – Vol. 34, iss. 12. – Pp. 2846–2855.

6. Thangam Y., Umavathi S., Vysakh V.B. Investigation of mercury toxicity in haematological parameters to fresh water fish "Cyprinus carpio" // International Journal of Science and Research. – 2016. – Vol. 5, iss. 2. – Pp. 1039–1043.

7. Артамонов Ю.В., Евлампиева Е.П., Артамонова Е.Н. Свинец в промысловых рыбах реки Иртыш // Молодой ученый. – 2017. – № 6. – С. 4–6. – Режим доступа: <http://mjluh.ru/archive/140/39364/>

8. Беляева А.А., Кутлин Н.Г. Тяжелые металлы в органах и тканях рыб реки Белой // Совр. проблемы науки и образования. – 2017. – № 6. – Режим доступа: <http://science-education.ru/article/view?id=27245>

9. Лапирова Т.Б. Реакция показателей белкового и углеводного обмена рыб на воздействие кадмия (обзор) // Труды ИБВВ РАН. – 2017. – Вып. 77(80), – С. 77–91. – Режим доступа: <https://cyberleninka.ru/article/n/reaktsiya-pokazateley-belkovogo-i-uglevodnogo-obmena-ryb-na-vozdeystvie-kadmiya-obzor/viewer>

10. Котелевцев С.В., Стволинский С.Л., Бейм А.М. Эколого-токсикологический анализ на основе биологических мембран. – М.: Изд-во МГУ, 1986. – 106 с.

11. Крамар К.В., Кыров Д.Н. Содержание ртути в органах и тканях рыб // Символ науки. – 2017. – № 04–3. – С. 18–21.

12. Moiseenko T.I. Bioavailability and ecotoxicity of metals in aquatic: critical levels of pollution // Vernadsky Institute of Geochemistry and Analytical Chemistry RAN. – 2019. – Vol. 64, № 7. – Pp. 675–688. – Режим доступа: <http://journals.eco-vector.com/0016-7525/article/view/15320>

13. Бурдина Н.Ф. Анализ особенностей накопления и распространения тяжелых металлов в организме рыб (обзор литературы) // Молодой ученый. – 2019. – Т. 40. – С. 183–185. – Режим доступа: <http://moluch.ku/archive/278/62745/>

14. Чемагин А.А., Волосников Г.И., Кыров Д.Н., Либерман Е.Л. Тяжелые металлы Hg, Cd, Pb в организме стерляди (*Acipenser ruthenus* L.), Нижний Иртыш // Вестник МГТУ. – 2019. – Т. 22, № 2. – С. 225–233.

15. Габибов М.М., Рабаданова А.И. Динамика содержания среднемoleкулярных пептидов и активности пептид-гидролаз тканей разновозрастных карповых рыб при комбинированном действии солей тяжелых металлов // Вестник Дагестанского государственного университета. Сер. 1: Естественные науки. – 2020. – Т. 35, вып. 2. – С. 94–103.

16. Немова Н.Н., Лысенко Л.А., Мецеракова О.В., Комов В.Т. Ртуть в рыбах: биохимическая индикация // Биосфера. – 2014. – Т. 6, № 2. – С. 176–186.

17. Lowry O., Rosebrough N., Farr A., Randall R. Protein measurement with folin phenol reagent // J. Biol. Chem. – 1951. – Vol. 193, № 1. – Pp. 265–275.

18. Пушкина В.С. Биохимические методы исследования. – М.: Наука, 1963. – 250 с.

19. Калинина В.Н., Панкин В.Ф. Математическая статистика. – М.: Дрофа, 2003. – 336 с.

Поступила в редакцию 2 февраля 2021 г.

UDC 577.1:597

DOI: 10.21779/2542-0321-2021-36-1-115–121

The Dynamics of the Protein Content in the Tissues of Different-Age Carp Fish Under the Combined Action of Heavy Metal Salts

M.M. Gabibov, A.I. Rabadanova

Dagestan State University; Russia, 367000, Makhachkala, M. Gadzhiev st., 43a; ashty06@mail.ru

The complex effect of salts of heavy metals (Pb^{2+} , Cd^{2+} , Mn^{2+}) on the parameters of protein metabolism in tissues of carp specimens (*Cyprinus carpio* L.) was studied. For this research, homogenates of liver, kidney, and skeletal muscle tissues of fish were taken. The degree of influence of a mixture of heavy metals on the intensity of protein metabolism was judged on the basis of a study of the content of total protein and its fractions (albumin, globulins) on the 5th and 15th days of their exposure.

The research has shown that on the 5th and 15th days of the combined effect of heavy metal ions, the phase changes in the content of proteins and their fractions in the organs of carp underyearlings and yearlings are observed. Ions Pb^{2+} , Cd^{2+} and Mn^{2+} with their combined action do not have a synergistic effect and do not have a cumulative effect.

Keywords: *carp, heavy metals, cadmium, lead, manganese, protein, albumin, globulin, underyearlings, yearlings.*

Received 2 February 2021