

УДК 577.125.38:597.554.3+639+3

А. А. Жиденко, В. В. Грубинко, А. С. Смольский,
А. Ф. Явоненко

**ВЛИЯНИЕ АБИОТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ СРЕДЫ НА
ОБРАЗОВАНИЕ КЕТОНОВЫХ ТЕЛ У РЫБ**

Антропогенное воздействие на природные экосистемы приводит к возникновению экстремальных условий жизни водных организмов, вызывая у них устойчивые стрессовые реакции. В связи с этим крайне необходимо изучение ответных реакций гидробионтов на неблагоприятные факторы внешней среды, и прежде всего компенсаторных механизмов их адаптации. В настоящее время продолжается поиск интегральных показателей ответа организма рыб на действие токсикантов [5, 9]. Нами, например, ранее установлено, что одной из характеристик энергетического обмена при влиянии неблагоприятных условий зимнего голодания может быть кетогенез [2]. Выявлена роль кетоновых тел в энергетическом обеспечении периферических тканей у молоди карпа в процессе зимовки. В настоящем исследовании изучена возможность их образования и участия в адаптации при воздействии токсикантов — аммиака, солей тяжелых металлов, совокупности токсических веществ сточных вод.

Материал и методика исследований. Объектом исследования служили двухлетки карпа (*Carpinus carpio* L.), выращенные по стандартной технологии в Черниговском рыбокомбинате. Изучено воздействие на содержание кетоновых тел трех факторов: аммиака с концентрацией 0,1 мг/л, созданной в лабораторных условиях внесением расчетных количеств буферной смеси NH_4Cl и NH_4OH с $\text{pH} = 7,6$; солей тяжелых металлов ZnCl_2 и CuSO_4 в концентрации соответственно 1 и 0,1 мг/л; сточных вод после биологической очистки и химического обеззараживания путем хлорирования. Гидрохимические показатели сточных вод были следующими: содержание кислорода — 7,12 мг/л, аммонийного азота — 7,71, нитритов — 2,02, нитратов — 32,5, хлоридов — 117,8, сульфатов — 43,2, фосфатов — 13,6, ПАВ — 0,15, хрома — 0,05, меди — 0,05, железа — 0,28, цинка — 0,09 мг/л; $\text{pH} = 7,6$.

Продолжительность выдерживания рыб в токсической среде 11 суток. В качестве контрольной среды использовали отстоянную водопроводную воду, объем которой на одну особь составлял 30 л. В опыте с использованием солей металлов водопроводную воду обрабатывали известью (для доведения показателя жесткости до 4,0—5,0 мг-экв/л). Содержание кислорода во всех случаях не ниже 6 мг/л. Температура воды 10—12°C, pH 7,2—7,9.

Содержание кетоновых тел определяли в белых мышцах, печени и мозге по методу [1] в нашей модификации [2]. Статистическую обработку проводили по И. А. Ойвину [8].

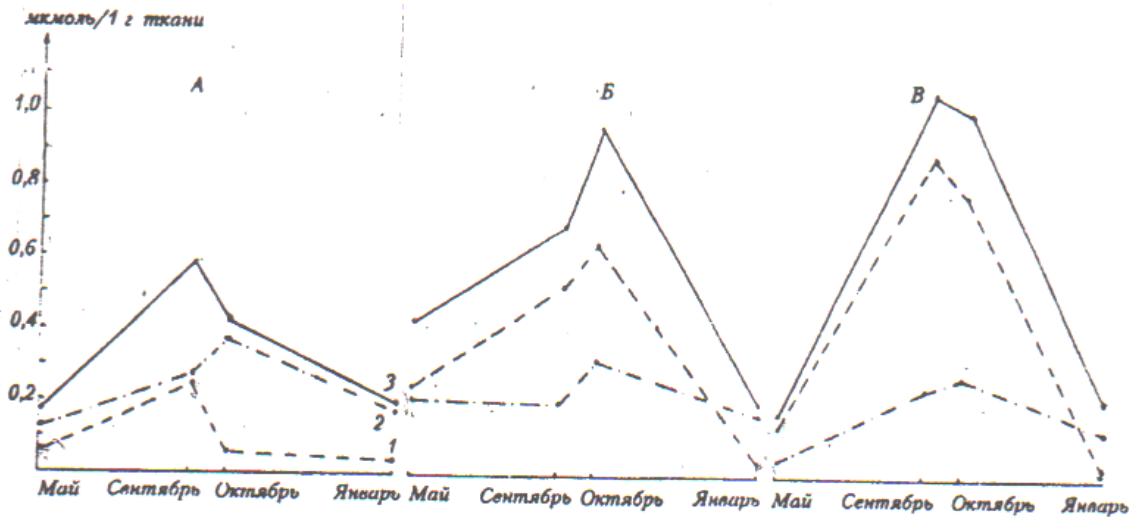
© Жиденко А.А., Грубинко В.В., Смольский А.С., Явоненко А.Ф.

Результаты исследований и их обсуждение

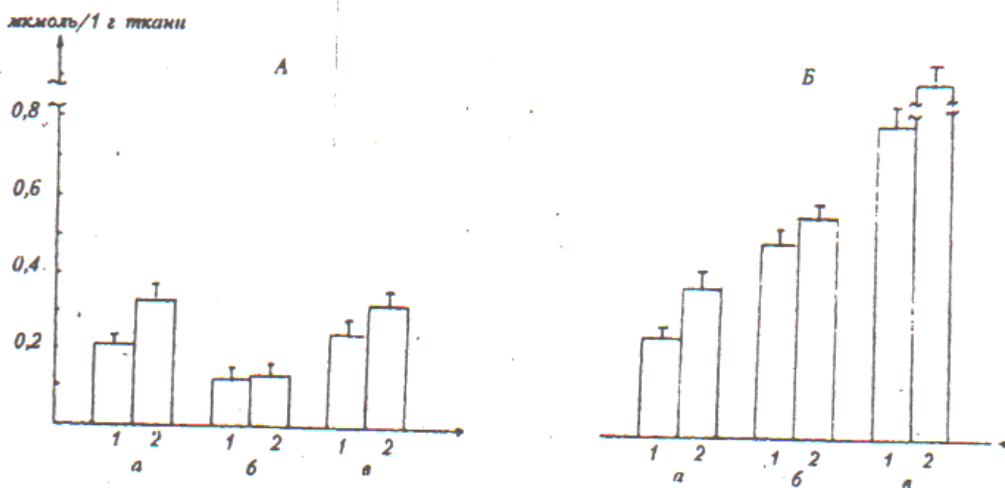
Установлено, что содержание кетоновых тел в тканях карпа подвержено сезонным изменениям (рис. 1). Полученные данные подтверждают естественность образования кетоновых тел у рыб и их определенную роль в обмене веществ в различные периоды годичного цикла. По окончании зимовки (май) в тканях мозга и белых мышцах обнаружено минимальное количество ацетоацетата и ацетона (соответственно $0,044 \pm 0,005$ и $0,108 \pm 0,007$ мкмоль/1 г сырой массы ткани соответственно). Известно, что в это время происходит истощение липидных резервов в периферических тканях, в связи с чем образование кетоновых тел, источником которых являются липиды, минимально. В сентябре концентрация кетоновых тел в этих тканях увеличивается, достигая максимального значения в октябре ($0,28 \pm 0,04$ и $0,37 \pm 0,03$ соответственно в мозге и белых мышцах). Это повышение, вероятно, связано также с сезонностью обмена липидов, накопленных в летний период [3,9]. Как известно, осенью происходит расходование запасных липидов, в связи с чем усиливается и кетогенез. В феврале содержание кетоновых тел во всех исследуемых тканях снижается. Как было показано ранее, в этот период кетоновые тела активно утилизируются, обеспечивая энергетические адаптации организма к зимовке [2]. Таким образом, сезонная динамика кетоновых тел подтверждает их участие в адаптации рыб к различным условиям обитания. На этом основании было выдвинуто предположение об участии кетоновых тел в адаптации к действию токсикантов.

Вследствие загрязнения водной среды промышленными и сточными водами, а также продуктами разложения органических веществ отмирающих растений и животных, наиболее часто возникает аммонийный токсикоз. Специфичность его заключается в том, что аммиак проникает во все клетки рыб беспрепятственно, без функционирования специальных систем транспорта. В связи с этим нами исследовано влияние этого соединения на образование кетоновых тел (рис. 2). Прежде всего следует отметить тканевую специфичность: по содержанию 2-оксибутирата выделяется мозг, по содержанию ацетоацетата и ацетона — мышцы и мозг. По данным литературы известно, что местом синтеза кетоновых тел служит печень [4]. Однако в этом органе существенных различий не обнаружили. Можно предположить быстрый отток образующихся кетоновых тел из печени в периферические ткани. Это подтверждается тем, что в мышечной ткани, в отличие от печени, количество ацетоацетата и ацетона на 20 %, а 2-оксибутирата на 32 % больше у рыб опытной группы, в мозге — соответственно на 30 и 39 %.

Другим существенным токсикологическим фактором среды являются соли тяжелых металлов. В связи с этим исследовали характер изменений образования кетоновых тел под воздействием катионов меди и цинка (рис. 3). Опыт проводили при совместном присутствии этих солей, поскольку они проявляют синергическое действие как токсиканты. Установлено, что у подопытных рыб содержание ацетоацетата и ацетона в печени в 2,4 и в 1,5 раза больше, чем в мышцах и в мозге, а 2-оксибутирата — соответственно в 3 и 6 раз. Различия в содержании кетоновых тел в печени у контрольных и подопытных рыб статистически достоверны. В мозге наблюдается тенденция к увеличению их уровня у подопытных рыб. Это можно объяснить тем, что при действии солей тяжелых металлов происходит сни-

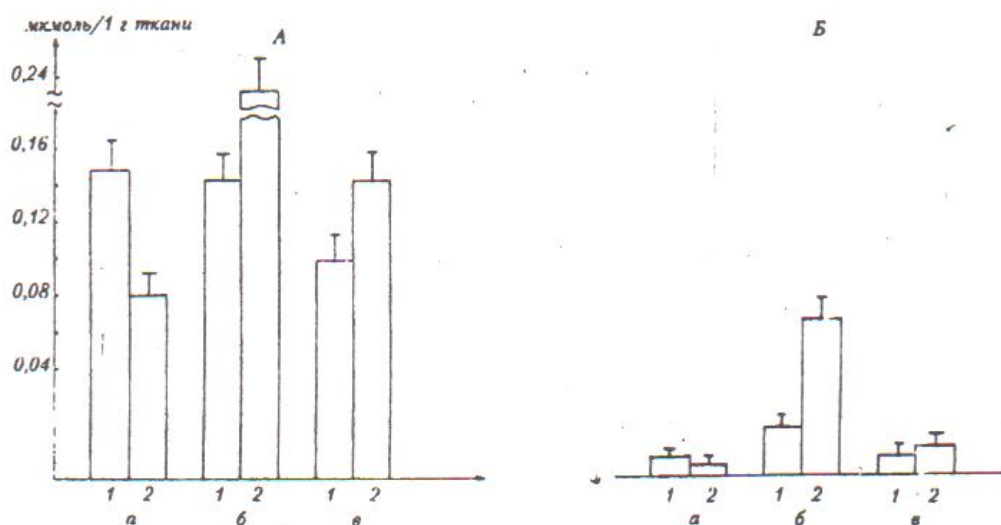


1. Сезонная динамика содержания кетоновых тел в мышцах (А), печени (Б) и мозге (В) двухлеток карпа: 2 — ацетон + ацетоацетат; 1 — 2-гидроксibuтират; 3 — сумма. Здесь и на рис. 2—4: $M \pm m; n = 6$.

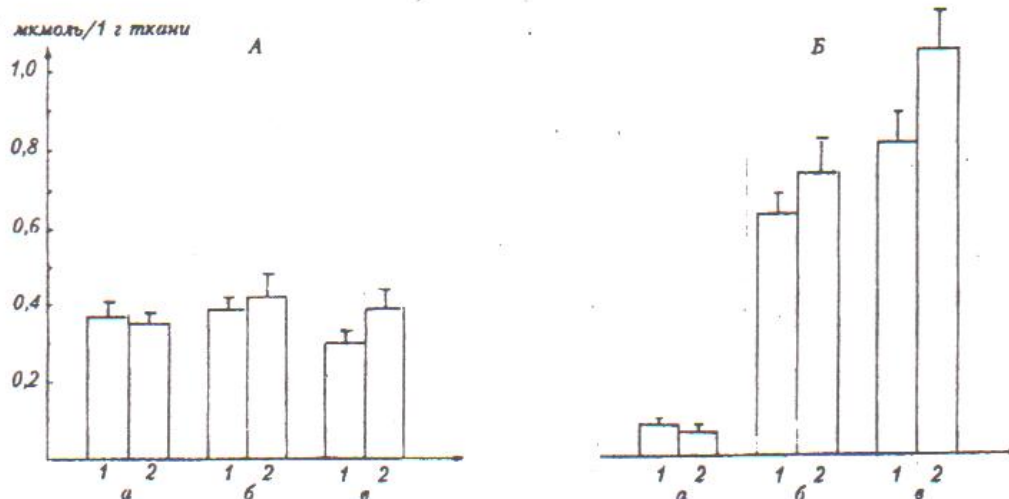


2. Динамика содержания кетоновых тел в тканях двухлеток карпа при действии аммиака. Здесь и на рис. 3, 4: А — ацетон + ацетоацетат; Б — 2-гидроксibuтират; 1 — контроль; 2 — опыт; а — мышцы; б — печень; в — мозг.

жение содержания АТФ [6]. Последнее, в свою очередь, стимулирует синтез ацетоацетата из двух молекул ацетил-СоА в качестве дополнительного энергетического субстрата. Кроме того, металлы, будучи кофакторами ферментов, могут вызывать снижение активности ферментов энергетического обмена, как модификаторы их молекул. Металлы также могут вступать в химическое взаимодействие с радикалами аминокислот белковой глобулы фермента [6, 10], что может привести к полной потере активности (денатурации) и сказаться на транспортных функциях белков. Поэтому отток кетоновых тел из печени в периферические ткани, особенно мышечную, может быть затруднен (см. рис. 3).



3. Динамика содержания кетоновых тел в тканях двухлеток карпа при действии солей цинка и меди.



4. Динамика содержания кетоновых тел в тканях двухлеток карпа при политоксикозе, вызванном сточными водами.

Таким образом, под влиянием катионов тяжелых металлов — меди и цинка — в печени усиливается синтез кетоновых тел, что можно рассматривать как адаптивный компенсаторный механизм энергообеспечения.

Для максимального приближения лабораторных исследований к условиям окружающей среды в третьем опыте изучали влияние токсических компонентов сточных вод очистных сооружений после стадии биологической очистки и хлорирования на кетогенез у карпа. Химическим анализом установлено, что важнейшими токсическими компонентами сточных вод являются следующие вещества: азот аммонийный — превышение ПДК в 2—3 раза, хлориды — в 2 раза, катионы железа — в 2 раза, катионы меди — в 5 раз [7].

По данным диаграммы (рис. 4) необходимо отметить отсутствие тране-

вой специфичности содержания ацетоацетата и ацетона в исследуемых тканях, у 2-оксибутирата она существует. Как у контрольных, так и у подопытных рыб максимальная концентрация 2-оксибутирата обнаружена в мозге ($p < 0,001$). Прослеживается общая тенденция к увеличению содержания кетоновых тел в тканях печени и мозга рыб, содержащихся в сточных водах в течение 11 суток. Известно, что под действием смеси двухвалентных катионов (Hg^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} , Cd^{2+}) происходит ускоренный распад запасных питательных веществ липидов и гликогена [13]. Уровень же АТФ в тканях не только не повышается, а наоборот, снижается при действии солей тяжелых металлов [6]. Для поддержания энергетического гомеостаза рыб необходимы дополнительные питательные субстраты, которыми могут быть кетоновые тела. Известно, что только последние могут служить дополнительным источником энергии для мозга [11]. Некоторое увеличение 2-оксибутирата в тканях мозга подопытных рыб (см. рис. 4) подтверждает наши предположения. Другим существенным компонентом сточных вод являются хлориды. Известно, что под влиянием хлорорганических пестицидов в тканях рыб происходит нарушение окислительно-восстановительных процессов [14], что также может привести к изменению энергетического гомеостаза у рыб, а при большой концентрации токсических веществ — к их гибели. Поэтому так важна для водных организмов возможность включения компенсаторного механизма синтеза кетоновых тел в качестве дополнительного энергетического субстрата.

Заключение

Образование и использование кетоновых тел у карпа носит адаптивный характер и регулируется рядом экологических факторов. Наряду с естественными сезонными колебаниями уровня кетоновых тел, особенно в мозге, происходит их интенсивное образование под влиянием токсикантов. Наиболее существенные изменения в содержании кетоновых тел наблюдаются при действии тяжелых металлов, а также комплекса токсикантов сточных вод. Кетоновые тела во всех случаях, очевидно, выполняют роль дополнительного энергетического субстрата, необходимого для сохранения энергетического гомеостаза рыб при действии неблагоприятных факторов внешней среды.

**

Досліджено сезонну (травень, вересень, жовтень, лютий) динаміку кетонових тіл (ацетоацетат, ацетон і 2-гідроксибутират) у м'язах, печінці та мозку двохрічок коропа, а також їх вміст у цих тканинах при сумісній дії аміаку (0,1 мг/л), міді (0,1 мг/л) і цинку (1 мг/л) та за умов політоксикозу, спричиненому стічними водами. Встановлено, що утворення і використання кетонових тіл у коропа має адаптивний характер і визначається такими екологічними факторами, як сезонність і токсиканти. Найбільш інтенсивне утворення кетонових тіл відбувається за умов дії важких металів і комплексу токсикантів стічних вод. Висловлюється припущення щодо участі кетонових тіл у підтриманні енергетичного гомеостазу у риб в несприятливих умовах.

**

Season changing (May, September, October, February) in ketone bodies content (acetoacetate, acetone, 2-hydroxybutyrate) in muscle, liver and brain of common carp, and its content both under combined action of ammonia (0,1 mg/l), copper (0,1 mg/l), zinc (1 mg/l) and under polytoxicosis caused by sewage has been investigated. It is established that ketone bodies formation and utilization in carp has adaptive character and are determined by environmental influences, such as season time and toxicants. Formation of ketone bodies occurs most heavily under trace metals and sewage toxicants complex influence. The assumption that ketone bodies take part in maintaining the energy homeostasis in fish under harmful conditions has been put forward.

**

1. Баев В.И., Булах Е.И. Способ определения кетоновых тел в тканях // Материалы IV конференции и выступлений по изобретению и рационализации в медицине. — Л.: Медицина, 1973. — С. 89—90.
2. Жигенко А.А., Грубинко В.В., Явоненко А.Ф. Роль кетоновых тел в энергообеспечении пойкилотермных организмов в условиях зимнего голодания // Укр. биохим. журн. — 1990. — 62, № 5. — С. 72—76.
3. Лав Р.М. Химическая биология рыб. — М.: Пищ. пром-сть, 1976. — 187 с.
4. Ленинджер А. Основы биохимии. — М.: Мир, 1985. — Т. 2. — 368 с.
5. Лукьяненко В.И. Физиолого-биохимические аспекты экологического мониторинга // II Всесоюз. конф. по рыбохоз. токсикологии, Санкт-Петербург, ноябрь 1991 г. Тез. докл. — Санкт-Петербург: Б. и., 1991. — С. 18—20.
6. Маляревская А.Я. Биохимические механизмы адаптации гидробионтов к токсическим веществам // Гидробиол. журн. — 1985. — 21, № 3. — С. 71—73.
7. Метелев В.В., Канаев А.И., Дзасохова Н.Г. Водная токсикология. — М.: Колос, 1971. — 247 с.
8. Ойвин И.А. Статистическая обработка результатов исследований // Патол. физиология и эксперим. терапия. — 1960. — № 4. — С. 76—85.
9. Сидоров В.С. К вопросу об эколого-биохимическом мониторинге // I Симпоз. по экол. биохимии рыб, Ярославль, окт. 1987 г.: Тез. докл. — Ярославль: Б. и., 1987. — С. 174—176.
10. Сорвачев К.Ф. Основы биохимии питания рыб. — М.: Лег. и пищ. пром-сть, 1982. — 247 с.
11. Хочачка П.В., Сомеро Д.Н. Биохимическая адаптация. — М.: Мир, 1988. — 568 с.
12. Шульман Г.Е. Физиолого-биохимические особенности годовых циклов рыб. — М.: Пищ. пром-сть, 1972. — 368 с.
13. Buhler D.R., Benville P. Effect of feeding of DDT on the activity of hepatic glucose-6-phosphate dehydrogenase in two salmonids / J. Fish Res. Board Can. — 1969. — 26, № 12. — P. 3209—3216.
14. Rosenthal H., Alderdice D.F. Sublethal effects of environmental stressors, natural and pollutional, on marine fish eggs and larvae // Ibid. — 1976. — 33, № 9. — P. 2047—2065.

Черниговский педагогический институт

Поступила 08.07.93

Рефераты депонированных рукописей

УДК 597.442-13+575

Влияние качества производителей и продуцируемых ими гамет на разнокачественность и жизнеспособность потомства у лучеперых рыб. Часть I. Влияние качества самок / Жукинский В.Н. Ред. Гидробиол. ж. АН Украины. — Киев, 1993. — 166 с.: ил. 19 — Библиогр. 239 назв. — Рус. — Деп. в ВИНТИ 07.06.93, № 1530-В93.

В работе обобщены литературные сведения, а также экспериментальные материалы по вопросу о влиянии возраста самок, их функционального состояния и условия содержания на разнокачественность и жизнеспособность потомства, преимущественно в раннем онтогенезе, у осетровых и костистых рыб (10 семейств). Дан теоретический анализ биологической природы материнского влияния на потомство у рыб. Сделан вывод, что возрастное влияние самок на потомство у костистых икрумечущих рыб с полициклическим типом воспроизводства популяций имеет закономерный характер и наиболее четко проявляется в раннем онтогенезе в отличие от такового у популяций с моноциклическим типом воспроизводства. Доказано, что ни один из показателей функционального состояния самок не имеет универсального значения в качестве единого критерия объективной оценки в связи с жизнеспособностью потомства у лучеперых рыб.