



УДК 632.954+597.551.2:591.481.1:577.12

Закономерности формирования адаптивных механизмов в мозге карпа под влиянием токсических веществ

Жиденко А.А., Кривопиша В.В., Бибчук Е.В., Мехед О.Б.

Черниговский государственный педагогический университет имени
Т.Г Шевченко, Чернигов, Украина,
chgpu@chgpu.cn.ua

Patterns of adaptive mechanisms' formation of in carp's brain under the influence of toxic substances

Zhidenko A.A., Krivopisha V.V., Bibchuk E.V., Mehed O.B.

T.G.Shevchenko state pedagogical university of Chernihiv, Ukraine

Abstract. The article demonstrates the negative influence of lead's cations on power parameters in carp's brain resulting from the impossibility of ADP-ATP systems' phosphorylation. Adaptation toward the impact of phenol leads to reduction of all

parameters of power exchange and their stabilization at a lower level. Adaptive mechanisms triggered by the influence of 2,4-DA comprise the activation of enzymes of power exchange and the further stabilization of both power resources and the brain segments that are kept intact. Adaptation caused by the impact of zenkore occurs at the structural level due to activization of pentosophosphate paths.

По данным международных природоохранных организаций количество синтезированных и выделенных из природных источников токсических веществ уже превысило 6 млн. и продолжает расти ежегодно приблизительно на 5% [1]. Токсиканты попадают в водоёмы с промышленными сточными водами и со стоками после массовых обработок сельскохозяйственных полей. Пестициды, ионы тяжелых металлов, имея кумулятивные свойства, способны в определенной мере накапливаться в рыбе. Это может привести к изменениям постэмбрионального развития, нарушению биохимических и физиологических процессов в организме рыб, и могут быть причиной снижения рыбопродуктивности внутренних водоёмов, отрицательно влияя на здоровье человека. В регуляции функций всего организма и биохимических процессов на клеточном уровне ведущую роль играет головной мозг. Цель настоящей работы - выявить механизмы адаптации к действию токсикантов различной природы, путем сравнения изменений активности энергообразующих и энергозатратных процессов в головном мозге *Cyprinus carpio* L.

Длительность эксперимента составила 14 суток, замену воды в 200-литровых аквариумах проводили каждые два-три дня; рыбу размещали из расчета 1 экземпляр 40л воды. Во всех случаях осуществляли контроль и поддерживали постоянный гидрохимический режим воды. Величина pH составила $7,80 \pm 0,28$; содержание кислорода - $5,8 \pm 0,5$ мг/л, температура воды отвечала естественной (от +5 до +19°C). Масса рыб колебалась в границах 150-300г. Для проведения эксперимента были взяты 2 гербицида разной химической природы: зенкор - метрибузин (4-амино-6-третбутил-3(метилтио)-1,2,4-триазин-5(4H)-он) и 2,4-Дихлорфеноксисукусной кислоты аминная соль (2,4-ДА). Концентрацию исследуемых гербицидов, которая отвечала 2 ПДК, (предельно допустимые концентрации), создавали путем внесения рассчитанных количеств 70%-ного порошка зенкора (0,2 мг/л) и 40% раствора 2,4-ДА (0,2 мг/л). Токсическое действие фенола исследовали путем добавления в воду 0,002 мг/л фенола (2 ПДК). Катионы свинца (0,2 мг/л Pb^{2+}), что также составило 2 ПДК, вносили в воду в виде нитратной соли $Pb(NO_3)_2$. Методики подготовки проб для определения аденилатов, лактатдегидрогеназной (КФ 1.1.1.27, ЛДГ), малатдегидрогеназной (1.1.1.37, МДГ) активностей и белка по Лоури подробно описаны в работе [2]. Для оценки участия АТФ, АДФ, АМФ в метаболической регуляции рассчитывали следующие коэффициенты состояния клетки: аденилатный энергетический заряд (АЭЗ); энергетический фосфатный потенциал; отношение действующих масс аденилаткиназной реакции (ДМАК) [3]. Активность глюкозо-6-фосфатазы (КФ.3.1.3.9, Г-6-Фаза) определяли в надосадочной фракции гомогената мозга [2]. Определение активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (КФ 1.1.1.49, Г-6-ФДГ) проводили спектрофотометрично при длине волны 340 нм [4]. Статистическую обработку данных проводили с помощью Microsoft Excel.

Любой биологический процесс в организме должен обеспечиваться энергией, аккумулированной в макроэргических соединениях, особенно это важно при формировании адаптивного ответа организма на действие стрессора. Поэтому при исследовании состояния внутренних энергетических ресурсов организма



рыб существенным является вопрос о содержании производных аденилата, уровень которых зависит от активности ферментов основных направлений углеводного обмена. Сравнительный анализ данных (табл. 1) показывает усиление функционирования цикла Кребса (высокие значения активности митохондриальной МДГ). Под действием 2,4-ДА также увеличивается на 12% уровень активности ЛДГ. Всё это, в свою очередь, приводит к возрастанию уровня АТФ в мозге карпа на 10%, отношения АТФ/АДР на 52%, АЭЗ на 33%. Зенкор приводит к снижению активности ЛДГ на 20% по отношению к контролю и на 35% в сравнении с действием 2,4-ДА, но к повышению - Г-6-ФДГ в 3,8 раза (табл. 1).

Таблица 1.

Мозг	ЛДГ, мкмоль NADH/мг белка за мин.	Г-6-ФДГ, мкмоль NADP ⁺ /мг белка за мин.	Г-6-Фаза мкмоль Р _i /мг белка за мин.	МДГ, мкмоль NAD ⁺ /мг белка за мин.
Контроль	0,065±0,005	0,032±0,002	0,046±0,009	0,832±0,066
Зенкор	0,054±0,008	0,068±0,010*	0,020±0,004*	0,980±0,108
2,4-Д	0,073±0,012	0,018±0,002*	0,120±0,024*	0,918±0,183

Изменения ферментативной активности реакций обмена углеводов в мозге двухлеток карпа под действием гербицидов, $M \pm m$, $n=6$.

Известно [3, 5], что высокая активность Г-6-ФДГ в тканях сопровождается низкой активностью ЛДГ и наоборот. Гликолиз и пентозофосфатный путь (ПФП) часто рассматривают как альтернативные системы реакций обмена углеводов, поскольку они конкурируют за общий субстрат - глюкозо-6-фосфат и продуцируют общие метаболиты: фруктозо-6-фосфат и глицеральдегид-3-фосфат. ПФП обеспечивает процессы липогенеза восстановительными эквивалентами NADH. Мозг отличается высоким содержанием липидов, метаболизм которых должен поддерживаться на определенном уровне. Возможно, обновление структуры нервной ткани, приводит к снижению уровня АТФ на 37%, АЭЗ на 23%, отношения действующих масс аденилаткиназной реакции на 38%, при увеличении уровней АДР на 13%, АМР на 25% (Рис. 1).

Если визуальную структуру мозга мало отличалась у экспериментальных и контрольных рыб, то в гистопрепаратах мозга двухлеток карпа, находившегося под влиянием 2,4-ДА, было отмечено: териваскулярный и перичелюлярный отеки, очаги инфильтрации в мягкой мозговой оболочке, более выраженные дистрофические изменения нейронов, некробиотические изменения нервной ткани [6]. Негативные структурные изменения в мозге, возможно, приводит к выигрышу в сохранении энергетического статуса. Соотношение активности протекания энергообразующих и энергозатратных реакций влияет на возможность формирования срочной и долговременной адаптации. Катионы свинца, ингибируя необратимые реакции глюконеогенеза, активируют ферменты гликолиза (ЛДГ) и цикла Кребса (рис. 2), активность МДГ увеличивается в 3 раза. Нервная ткань, как у млекопитающих, так и у рыб в качестве основного питательного субстрата использует глюкозу.

При ее недостатке резко снижается уровень производных аденилатов: содержание АТФ в 2 раза, отношение АТФ/АДР в 2,2 раза, отношение действующих масс АТФ системы в 3,2 раза в головном мозге исследуемых рыб по сравнению с контролем. Увеличивается концентрация АДР, АМР, которая приводит к возрастанию активности ферментов дихотомического пути и цикла трикарбоновых кислот, так как АДР является модулятором катаболизма углеводов [3]. Снижение уровня аденилатного энергетического заряда (АЭЗ), отношения действующих масс АТФ-системы в мозге двухлеток карпа (Рис. 3) еще раз подтверждает незаполненность адениннуклеотидной системы и поэтому усиление катаболического направления метаболизма. Действие фенола аналогично действию катионов свинца: уменьшение содержания АТФ в 2,9 раза, суммы аденилатов в 1,7 раза, АТФ/АДР в 3 раза, за исключением снижения концентрации АМР в 1,4 раза и стабильном показателе аденилатного энергетического заряда в мозге исследуемых рыб по отношению к контрольным (Рис. 3). Это можно объяснить функционированием АМР-дезаминазной системы благодаря которой снижение АЭЗ компенсируется дезаминированием АМР. Кроме того, под действие фенола уровень активности глюкозо-6-фосфатазы возрастает в 4,3 раза, что приводит к постоянному исполнению мозга рыб глюкозой.

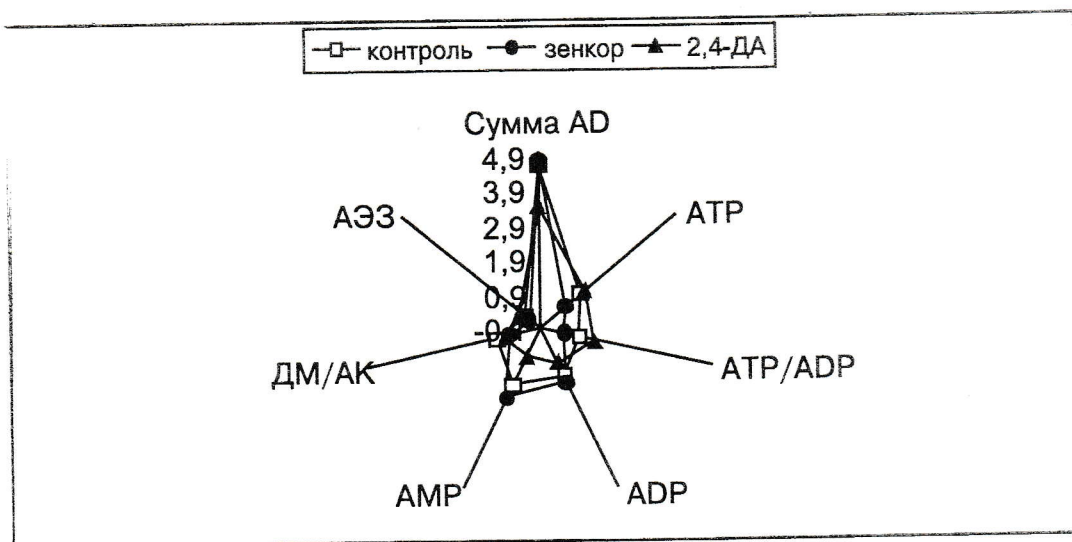


Рис.1. Показатели энергетического обмена в мозге карпа в норме и под действием гербицидами, M+m, n=6.

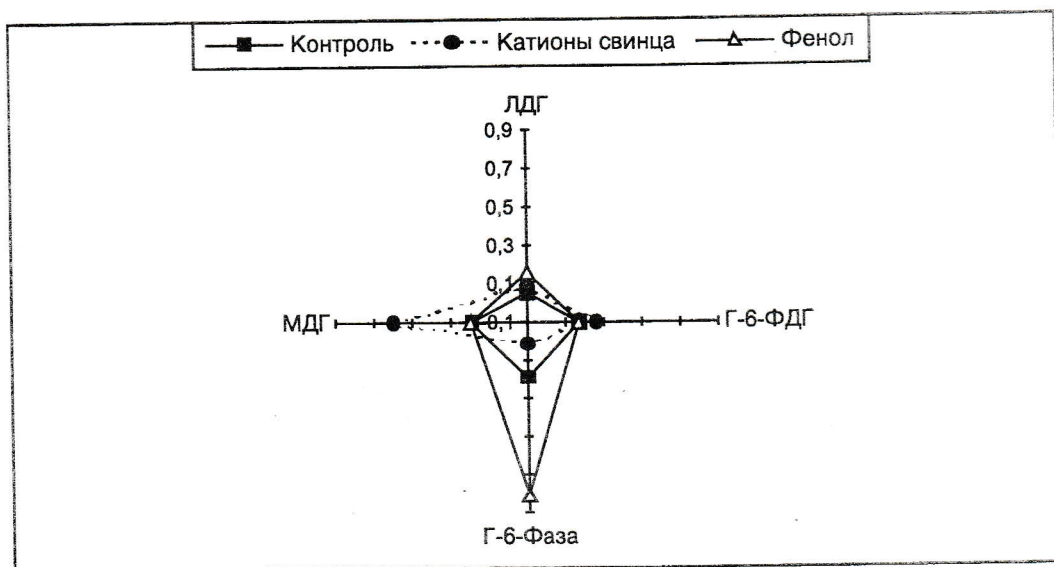


Рис.2. Изменения ферментативной активности реакций обмена углеводов в мозге двухлеток карпа под действием гербицидов, M±m, n=6.

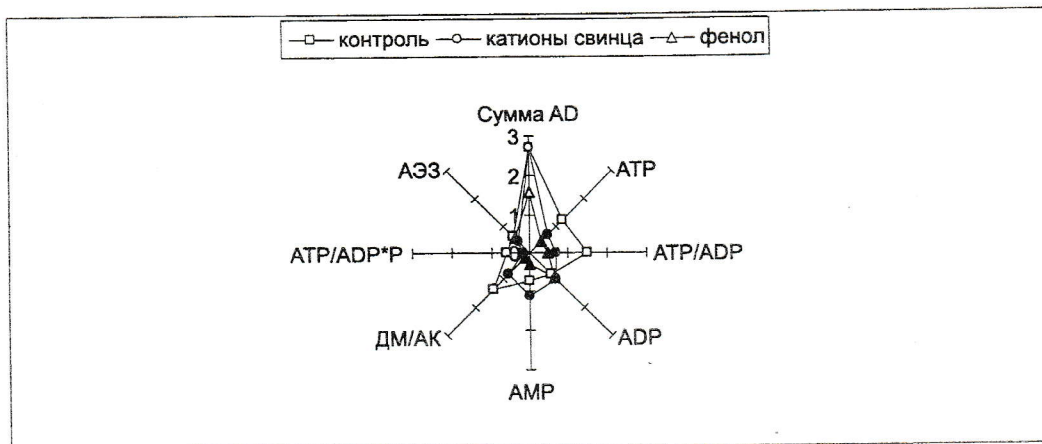


Рис. 3. Показатели энергетического обмена в мозге карпа в норме и при интоксикации M+m, n=6; мкмоль/г ткани.



Таким образом, наиболее негативное влияние на энергетические показатели в мозге карпа оказывают катионы свинца, вследствие невозможности фосфорилирования системы ADP - АТФ. Адаптация мозга карпа под действием фенола проявляется в снижении всех показателей энергетического обмена и их стабилизации на более низком уровне. Под действием 2,4-ДА адаптивные механизмы состоят в активации ферментов энергетического обмена и дальнейшей стабилизации энергетических ресурсов, оставшихся неповрежденными участков мозга карпа. Адаптация к действию зенкора осуществляется на структурном уровне, благодаря активизации пентозофосфатного пути.

Список использованных источников

1. Романенко В.Д. Основы гидрoэкологии. - К.: Генеза, 2004. - 664 с.
2. Жиденко А.А., Яковенко Б.В., Явоненко А.Ф. Состояние энергогенерирующей системы в тканях у зимующей молодежи карпа // Гидробиол. журн.-1990.- №61-В 90 Деп.- 26 с.
3. Ленинджер А.Л. Основы биохимии. - М.: Мир, 1985. - 368 с
4. Эмеретли И.В., Русинова О.С. Активность ферментов основных путей окисления углеводов в тканях рыб // Гидробиол. журн. - 2001. - 37, №1. - С. 79-87.
5. Biochemica information. - W. - Germany: BoehringerMannheim GmbH, Biochemica, 1975. - Bd.1. - P. 99-100
6. Коваленко О.М., Жиденко А.О. Гістологічні зміни в органах риб під впливом пестицидів // Наукові записки Тернопільського національного педагогічного університету імені Володимира Гнатюка, Серія: Біологія. Спеціальний випуск "Гідро екологія".-2005.-№ 3(26).- С. 208-210.