

УДК 577.1: 597

## ДИНАМИКА СОДЕРЖАНИЯ БЕЛКОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ СЕГОЛЕТОК КАРПА ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ВОЗДЕЙСТВИИ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ

Мурадова Г.Р., Рабаданова А.И.

*Дагестанский государственный университет, Махачкала, e-mail: ashty06@mail.ru*

Изучено влияние солей кадмия, свинца и марганца на содержание белков в сыворотке крови сеголеток карпа. Показаны разнонаправленные изменения белкового состава сыворотки крови рыб при воздействии солей тяжелых металлов, о чем можно судить на основании изменения А/Г индекса. При хроническом действии ионов кадмия отмечено значительное преобладание суммарного содержания альбуминов над глобулинами на протяжении всего эксперимента, пребывание рыб в среде с ионами свинца сопровождалось более значительным ростом содержания глобулинов, тогда как при действии ионов марганца не выявлен однонаправленный характер изменения соотношения альбуминов и глобулинов.

**Ключевые слова:** общий белок, альбумины, глобулины, сеголетки, карп, свинец, кадмий, марганец

## THE DYNAMICS THE CONTENT OF THE PROTEINS IN THE BLOOD OF THIS YEAR BROAD CARPS AT CHRONIC EXPOSURE OF THE HEAVY METALS

Muradova G.R., Rabadanova A.I.

*Dagestan State University, Makhachkala, e-mail: ashty06@mail.ru*

The influence of the salts of cadmium, lead and manganese on the content of proteins in the blood of this year broad carps are study. The opposite changes of the protein composition of blood of fish under the influence of various heavy metals, which can be judged on the basis of changes in A / G index are shown. In chronic action of cadmium ions showed a significant predominance of the total content of the albumin globulin throughout the experiment, the fish stay in the environment with lead ions was accompanied by a considerably increased content of globulins, while under the influence of manganese ions are not detected unidirectional nature of changing the ratio of albumin and globulins.

**Keywords:** total protein, albumin, globulins, this year broad carps, carp, lead, cadmium, manganese

За последние годы вследствие антропогенной нагрузки уровень концентрации токсических веществ в природе постоянно повышается.

Из широкого спектра загрязнителей особую опасность для гидробионтов представляют тяжелые металлы [1, 2]. Важную роль в метаболизме, росте и развитии, а также адаптации гидробионтов к различным видам токсической нагрузки играют белки [3, 7].

Свинец и кадмий относятся к 1 классу токсичности. Из всех водных обитателей наибольшее токсическое действие кадмий и свинец оказывают на рыб [1]. К таким воздействиям относится образование комплекса «белок-металл» с накоплением металлотионеинов, нарушение процессов образования и транспорта белков и другие реакции, показателями которых могут являться изменения в содержании различных белков в организме.

Однако, все еще мало сведений, касающихся влияния металлов, которые выступают в низких концентрациях как микроэлементы, а при высоких – проявляют свойства тяжелых металлов. К таким металлам относится марганец, который как микроэлемент препятствует развитию свободно – ради-

кального окисления, обеспечивая стабильность структуры клеточных мембран, нормальное функционирование мышечной ткани, а также повышает интенсивность утилизации жиров, снижая уровень липидов в организме, необходимый для нормального роста и развития организма. При хроническом отравлении соединения марганца выступают как цитоплазматические яды, способные вызывать серьезные нарушения в нервной системе, почках и органах кровообращения [2].

Целью данной работы явилось изучение влияния хронической интоксикации водной среды ионами свинца, кадмия и марганца на белковый состав крови сеголеток карпа.

### Материалы и методы исследования

Работа выполнена на базе лаборатории анатомии, физиологии, гистологии Дагестанского государственного университета. В эксперименте использованы сеголетки карпа (*Cyprinus carpio L.*) массой 100-150 г, выращенные в прудах Широкольского рыбноводного комбината Республики Дагестан. Рыбы отлавливались перед их переброской в пруды для зимовки и переносились в аквариумы объемом 250-300 литров с содержанием ацетата свинца 0,5 мг/дм<sup>3</sup> (ПДК 0,1 мг/дм<sup>3</sup>), хлорида кадмия 0,25 мг/дм<sup>3</sup> (ПДК 0,005 мг/дм<sup>3</sup>) и сульфата марганца 0,1 мг/дм<sup>3</sup> (ПДК 0,01 мг/дм<sup>3</sup>). Контролем служили рыбы, содержащиеся в чистой воде. В аквариумах создавались условия постоянного температурного (19-23 °С) и газового

режима. Кормили рыб живым трубочником *Tubifex tubifex*. Изучали динамику содержания общего белка [8] и белковых фракций [5] в крови сеголеток карпа в разные сроки экспозиции рыб в водной среде с ионами тяжелых металлов (5, 15, 30 и 40 дни эксперимента).

Полученные результаты подвержены вариационно – статистической обработке методом малой выборки [6].

### Результаты исследования и их обсуждение

Результаты исследования представлены в табл. 1-3 и на рис. 1-3.

Из полученных данных видно, что содержание белков в крови сеголеток карпа находится в зависимости от вида и времени действия токсиканта.

У контрольных рыб содержание белков в крови составляет  $24,0 \pm 1,30$  г/л. Большая их часть (40,0%) приходится на долю альбуминовой фракции. Остальные белки представлены  $\alpha_1$  – (24,0%),  $\alpha_2$  – (18,0%),  $\beta$  – (6,0%) и  $\gamma$  – (7,0%) глобулинами. A/G-индекс контрольных рыб равен 0,67, что сви-

детельствует о преобладании суммы глобулинов над альбуминами в 1,5 раза.

При действии ионов кадмия в течение 40 суток наблюдается значительное повышение содержания белков всех фракций, кроме  $\beta$ -глобулинов, уровень которых меняется незначительно на протяжении эксперимента. Так, наиболее значительное повышение содержания общего белка, альбуминов и  $\alpha_1$ -глобулинов (~ в 2,0 раза) отмечено на 15 день эксперимента. В дальнейшем происходит снижение концентрации протеинов, однако, значение их не достигает уровня контроля (за исключением содержания  $\alpha_1$ -глобулинов). Наибольшие концентрации  $\alpha_2$ - и  $\gamma$ -глобулинов обнаружены на 30 и 40 сутки соответственно. Изменения в соотношении белковых фракций сопровождаются ростом A/G – индекса, наибольшее значение которого (1,58) отмечено на 30 сутки, что свидетельствует о значительном преобладании альбуминовой фракции над глобулиновой на данном этапе экспозиции (табл. 1; рис. 1).

Таблица 1

Содержание общего белка и белковых фракций в периферической крови сеголеток карпа при хронической интоксикации ионами кадмия ( $M \pm m, n = 10$ )

Условия опыта		Контроль	5-й день	15-й день	30-й день	40-й день
Белок и белковые фракции						
Общий белок (г/л)		$24,0 \pm 1,30$	$46,0 \pm 0,09^{**}$	$48,0 \pm 0,19^{**}$	$38,0 \pm 0,19^{**}$	$30,0 \pm 0,31^{**}$
Альбумины	г/л	$9,6 \pm 0,80$	$19,3 \pm 0,20^{**}$	$19,9 \pm 0,18^{**}$	$9,1 \pm 0,12$	$9,0 \pm 0,09$
	%	40,0	42,0	41,5	24,0	30,0
Глобулины						
$\alpha_1$ -глобулины	г/л	$5,8 \pm 0,60$	$12,9 \pm 0,29^{**}$	$14,4 \pm 0,17^{**}$	$13,3 \pm 0,09^{**}$	$9,0 \pm 0,07^*$
	%	24,0	28,0	30,0	35,0	30,0
$\alpha_2$ -глобулины	г/л	$4,3 \pm 0,30$	$8,7 \pm 0,13^{**}$	$9,6 \pm 0,17^{**}$	$11,4 \pm 0,09^{**}$	$7,5 \pm 0,16^{**}$
	%	18,0	19,0	20,0	30,0	25,0
$\beta$ – глобулины	г/л	$2,6 \pm 0,20$	$2,8 \pm 0,03^*$	$2,4 \pm 0,14^*$	$3,0 \pm 0,18$	$2,4 \pm 0,03$
	%	11,0	6,0	5,0	8,0	8,0
$\gamma$ – глобулины	г/л	$1,7 \pm 0,20$	$2,3 \pm 0,09^*$	$1,9 \pm 0,02$	$1,1 \pm 0,02^*$	$2,1 \pm 0,09$
	%	7,0	5,0	4,0	3,0	7,0
A/G		$0,67 \pm 0,05$	$0,86 \pm 0,14$	$0,97 \pm 0,04^*$	$1,58 \pm 0,02^{**}$	$0,41 \pm 0,02^*$

Здесь и далее: \* –  $P < 0,01$ ; \*\* –  $P < 0,001$ .

Очевидно, повышение содержания общего белка при воздействии ионов кадмия связано с тем, что данный токсикант, накапливаясь преимущественно в печени и почках гидробионтов [1], индуцирует синтез металлоионеинов, которые связывают ионы металла и действуют как ловушка для свободных радикалов, являясь, таким образом, естественной защитой организма.

Активация синтеза  $\alpha_2$  – глобулинов при воздействии хлорида кадмия, вероятно, вызвана необходимостью связывания ионов кадмия, в таком виде они менее токсичны, хотя далеко не безвредны [4]. Кроме того, повышение содержания белковых фракций в крови сеголеток карпа может служить показателем функционального состояния печени в условиях интоксикации ионами кадмия.

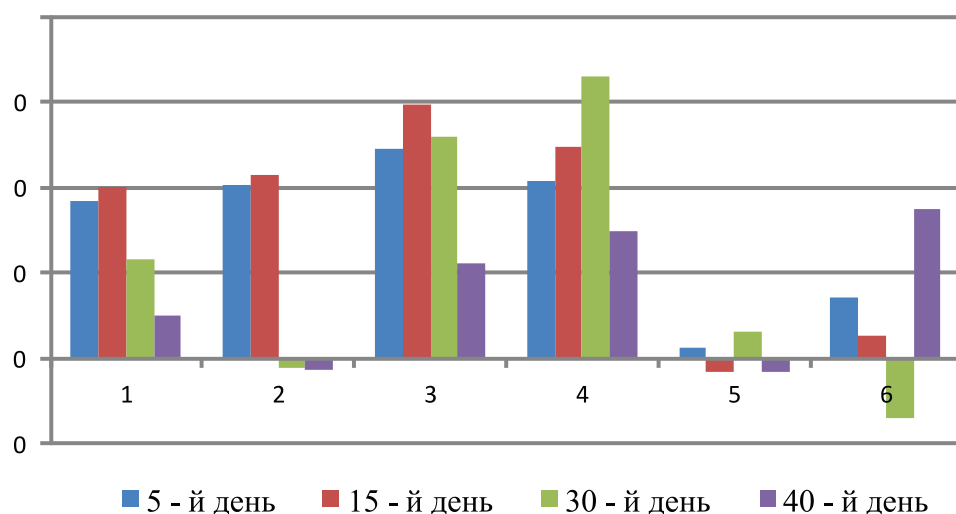


Рис. 1. Динамика содержания белков и их фракций (в % по отношению к контролю) в периферической крови сеголеток карпа при хроническом воздействии ионами кадмия: 1 – общий белок; 2 – альбумины; 3 –  $\alpha_1$ -; 4 –  $\alpha_2$ -; 5 –  $\beta$ -; 6 –  $\gamma$ -глобулины

При воздействии ионов свинца содержание общего белка в сыворотке крови сеголеток карпа повышается на 5 сутки на 30,4%, снижается на 15 и 30 сутки на 14,2 и 16,3% соответственно и стабилизируется в пределах контрольных величин к 40 дню. Уровень альбуминов ниже контроля на 15; 30 и 40 сутки на 47,9; 54,2 и 55,2% соответственно, тогда как на 5 день их содержание повышено на 23,9%. Относительно фракций глобулина можно отметить повышен-

ное содержание всех его компонентов на протяжении всего эксперимента. При этом, максимальные значения  $\alpha_1$  – ( $11,1 \pm 1,50$ ) и  $\beta$  – глобулинов ( $6,1 \pm 1,20$ ) отмечены на 5 сутки;  $\alpha_2$ -глобулинов ( $8,4 \pm 1,50$ ) – на 40 сутки и  $\gamma$  – глобулинов ( $4,5 \pm 1,11$ ) – на 15 день. К концу эксперимента процентное содержание  $\alpha_1$ -,  $\alpha_2$ -,  $\beta$ - и  $\gamma$ -глобулинов сохраняется на уровне выше контроля на 33,9, 65,0 и 106,0% соответственно (табл. 2; рис. 2).

Таблица 2

Содержание общего белка и белковых фракций в периферической крови сеголеток карпа при хронической интоксикации ионами свинца ( $M \pm m, n = 10$ )

Условия опыта		Контроль	5-й день	15-й день	30-й день	40-й день
Белок и белковые фракции						
Общий белок (г/л)		24,0 ± 1,30	31,3 ± 1,10*	20,6 ± 1,40	20,1 ± 3,50	24,0 ± 1 = 0,17
Альбумины	г/л	9,6 ± 0,80	11,9 ± 0,38*	5,0 ± 1,20*	4,4 ± 0,90*	4,3 ± 1,50*
	%	40,0	38,5	24,0	22,0	18,0
Глобулины						
$\alpha_1$ -глобулины	г/л	5,8 ± 0,60	11,1 ± 1,50	8,4 ± 3,50	6,3 ± 2,40	7,9 ± 1,80
	%	24,0	35,8	40,1	31,3	33,0
$\alpha_2$ -глобулины	г/л	4,3 ± 0,31	7,9 ± 1,10*	4,6 ± 0,79	7,1 ± 1,29*	8,4 ± 1,50*
	%	18,0	25,8	21,9	35,3	35,0
$\beta$ -глобулины	г/л	2,6 ± 0,20	6,1 ± 1,20*	3,6 ± 0,89	4,0 ± 0,68	4,3 ± 1,28
	%	11,0	19,5	17,2	20,0	18,0
$\gamma$ -глобулины	г/л	1,7 ± 0,22	2,3 ± 0,51	4,5 ± 1,11*	2,8 ± 0,76	3,5 ± 0,87
	%	7,0	19,2	21,4	14,0	14,4
A/G		0,67 ± 0,05	0,61 ± 0,06	0,32 ± 0,01*	0,28 ± 0,03*	0,22 ± 0,01*

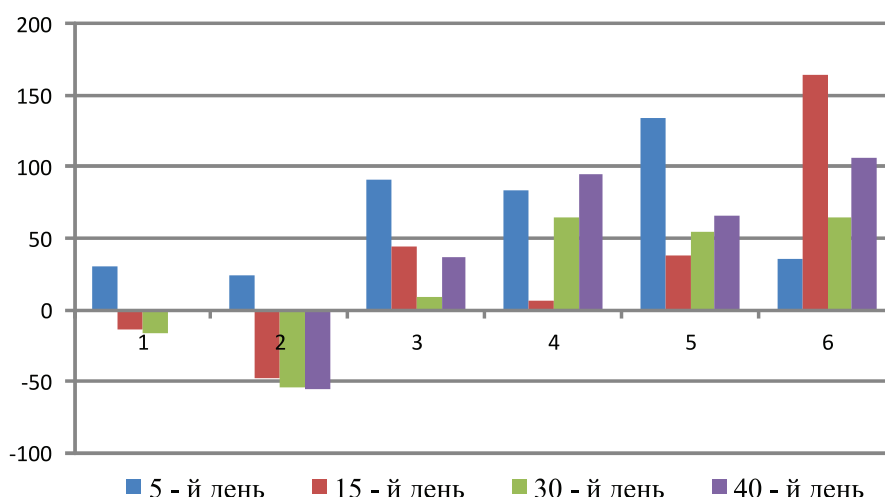


Рис. 2. Динамика содержания белков и их фракций (в % по отношению к контролю) в периферической крови сеголеток карпа при хроническом воздействии ионами свинца: 1 – общий белок; 2 – альбумины; 3 –  $\alpha_1$ -; 4 –  $\alpha_2$ -; 5 –  $\beta$ -; 6 –  $\gamma$ -глобулины

Изменения в соотношении белковых фракций сопровождается (в отличие от интоксикации ионами кадмия) падением A/G-индекса, наименьшее значение которого (0,22) отмечено на 40 сутки, что свидетельствует о значительном преобладании суммарного содержания глобулинов над альбуминами.

Полученные данные об изменениях соотношения белковых фракций в крови сеголеток карпа при интоксикации ацетатом свинца являются показателем функционального состояния печени, где осуществляется синтез альбуминов и глобулинов. Подобного рода изменения в сыворотке крови можно рассматривать как защитную

реакцию организма при воздействии ионов свинца, поскольку известно, что глобулины являются белками, участвующими в иммунных реакциях организма.

При хроническом воздействии сульфата марганца происходит снижение содержания общего белка на 5; 15 и 40 сутки на 33,8; 14,6 и 16,3% соответственно и стабилизация в пределах нормы к 30 дню. Интоксикация ионами марганца сопровождается однотипными изменениями в сторону повышения уровня альбуминовой фракции на 5; 15; 30 и 40 сутки на 57,3; 72,9; 34,4 и 57,3% соответственно по сравнению с контролем (табл. 3; рис. 3).

Таблица 3

Содержание общего белка и белковых фракций в периферической крови сеголеток карпа при хронической интоксикации ионами марганца (M ± m, n = 10)

Условия опыта		Контроль	5-й день	15-й день	30-й день	40-й день
Показатели						
Общий белок (г/л)		24,0 ± 1,30	15,9 ± 0,10**	20,5 ± 0,12*	25,2 ± 0,41	20,1 ± 0,12*
Альбумины	г/л	9,6 ± 0,79	15,1 ± 1,29*	16,6 ± 2,10**	12,9 ± 1,70*	15,1 ± 0,18**
	%	40,0	42,0	41,5	33,9	42,0
Глобулины						
$\alpha_1$ -глобулины	г/л	5,8 ± 0,56	10,8 ± 1,10**	11,2 ± 1,21**	12,4 ± 1,40**	8,1 ± 0,09*
	%	24,0	30,0	28,0	33,0	28,0
$\alpha_2$ -глобулины	г/л	4,3 ± 0,29	6,4 ± 0,57**	8,4 ± 0,68**	7,6 ± 0,59**	6,4 ± 0,04*
	%	18,0	19,0	21,0	20,0	22,0
$\beta$ -глобулины	г/л	2,6 ± 0,20	1,8 ± 0,30	2,4 ± 0,41	3,9 ± 0,48*	2,3 ± 0,13*
	%	11,0	5,0	6,0	10,0	8,0
$\gamma$ -глобулины	г/л	1,7 ± 0,18	1,4 ± 0,10	1,2 ± 0,12*	1,1 ± 0,20*	0,9 ± 0,02*
	%	7,0	4,0	3,0	2,9	3,0
A/G		0,67 ± 0,05	0,74 ± 0,09	0,72 ± 0,10	0,32 ± 0,06*	0,84 ± 0,02

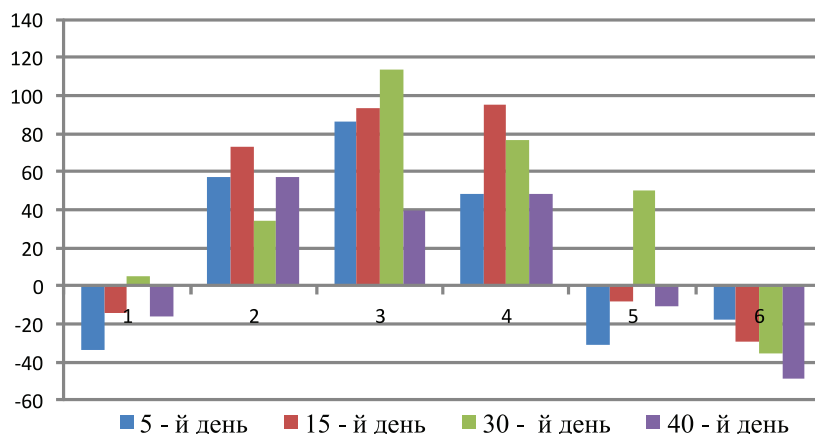


Рис. 3. Динамика содержания белков и их фракций (в % по отношению к контролю) в периферической крови сеголеток карпа при хроническом воздействии ионами марганца: 1 – общий белок; 2 – альбумины; 3 –  $\alpha_1$ -; 4 –  $\alpha_2$ -; 5 –  $\beta$ -; 6 –  $\gamma$ -глобулины

Характерным для ионов марганца является значительное повышение содержание фракций  $\alpha_1$  – и  $\alpha_2$ -глобулинов. Максимальные значения  $\alpha_1$ -глобулинов ( $12,4 \pm 1,40$ ) отмечены на 30 сутки,  $\alpha_2$ -глобулинов ( $8,4 \pm 0,68$ ) – на 15 день. На 5, 15 и 40 сутки воздействия ионов марганца уровень  $\beta$ -глобулинов снижен на 30,8; 7,7 и 10,8% соответственно и повышен на 50,0% на 30 сутки по сравнению с контролем. Воздействие сульфата марганца сопровождается снижением  $\gamma$ -глобулиновой фракции на протяжении всего эксперимента, особенно выраженном на 40 сутки (на 48,8% по сравнению с контролем).

Таким образом, при марганцевой интоксикации отмечаются разнонаправленные изменения в содержании белковых фракций в периферической крови сеголеток карпа, что нашло отражение в изменении A/G-индекса. На 5, 15 и 40 сутки соотношение A/G возрастает, тогда как на 30 сутки в 2,0 раза ниже, по сравнению с контролем.

Механизм воздействия марганца как тяжелого металла на белковый обмен рыб можно связать с его вступлением в тесную связь со многими белками и ферментами. В растворах воздействие ионов марганца проявляется в ярко выраженном каталитическом действии, то есть способности в сотни тысяч и миллионы раз ускорять течение химических реакций. Кроме того, показано действие ионов марганца на синтез белков и нуклеиновых кислот.

Исходя из полученных данных можно заключить, что состав белков сыворотки крови сеголеток карпа подвержен изменениям, как при действии токсичных металлов, так и эссенциальных. Особенности действия тяжелых металлов проявляются в характере

их влияния на соотношение альбуминов и глобулинов: при действии ионов кадмия обнаруживается четко выраженная тенденция преобладания содержания альбуминов над глобулинами на протяжении всего эксперимента, тогда как при действии ионов свинца, напротив, характер соотношения меняется в сторону преобладания доли глобулиновой фракции.

Таким образом, полученные данные служат важным информативным показателем оценки изменений, наблюдаемых на организменном или видовом уровнях гидробионтов и основанием для использования показателей белкового обмена рыб в качестве биотеста, экологического мониторинга и экологических экспертиз водных экосистем.

#### Список литературы

- Амосова А.А. Оценка токсического воздействия соединений кадмия на водные организмы // IX Съезд Гидробиологического общества РАН. Т.1. – Тольятти, 18–22 сентября, 2006. – С. 16.
- Давыдова С.Л. О токсичности ионов металлов // Химия. – 1991. – № 3. – С. 121–123.
- Ерохина И.А. К вопросу об изменчивости белкового состава плазмы крови морских млекопитающих // Актуальные проблемы экологической физиологии, биохимии и генетики: материалы II Междунар. научн. конф. – Саранск: Типография ООО «Мордовия-ЭКСПО». – 2009. – С. 46–49.
- Иванова В.П. К вопросу о механизме токсического действия кадмия на живые организмы // Актуальные проблемы экологической физиологии, биохимии и генетики животных: материалы II Междунар. научн. конф. – Саранск. – 2009. – С.58–60.
- Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике. – М.: МЕДпресс-информ, 2004. – 910 с.
- Лакин Г.Ф. Биометрия. – М.: Высшая школа, 1990. – 352 с.
- Синюк Ю.В. Обмен аминокислот и фракционный состав белков в организме карпа под действием ионов марганца, цинка, меди и свинца: автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Л., 2003. – 16 с.
- Lowry O.R. Protein measurement with folin phenol reagent / O.R. Lowry, N.P. Rosebrough, A.N. Farr, R.K. Randall // J. Biol. Chem. – 1951. – V. 193, №1. – P. 265–275.