

УДК 577.1: 597

ИЗМЕНЕНИЕ АКТИВНОСТИ КАТЕПСИНА D В ТКАНЯХ СЕГОЛЕТОК КАРПА ПОД ВЛИЯНИЕМ СОЛЕЙ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ

Курбанова С.И., Нурмагомедова П.М., Рабазанов Н.И.

Дагестанский государственный университет, Махачкала, e-mail: sabyat2011@yandex.ru

Статья посвящена исследованию влияния хлорида кадмия (0,25 мг/л) и ацетата свинца (0,5 мг/л) на активность катепсина D в тканях сеголеток карпа. Результаты наших исследований свидетельствуют о наличии тканеспецифичности в изменении активности катепсина D в ответ на действие ионов тяжелых металлов. Предлагается использовать показатели протеолитических ферментов в тканях рыб в качестве чувствительного теста на загрязнение водной среды ионами тяжелых металлов.

Ключевые слова: катепсин D, кадмий, свинец, карп, сеголетки

THE CHANGES IN THE ACTIVITY OF CATHEPSIN D IN THE TISSUES UNDER THE INFLUENCE OF CARP FINGERLINGS OF HEAVY METALS

Kurbanov S.I., Nurmagomedov P.M., Rabazanov N.I.

Dagestan State University, Makhachkala, e-mail: sabyat2011@yandex.ru

The paper is devoted to the influence of cadmium chloride (0,25 mg/l) and lead acetate (0,5 mg/l) on the activity of cathepsin D in tissues of the carp fingerlings. Our results indicate a change in the tissue specificity of cathepsin D activity in response to ions of cadmium and lead. Suggests using proteolytic enzymes in fish as a sensitive test for water pollution with heavy metal ions.

Keywords: cathepsin D, cadmium, lead, carp, fingerlings

В последние десятилетия загрязнение водных экосистем тяжелыми металлами приобретает значительные масштабы. К числу наиболее токсичных металлов относятся: марганец, свинец, кадмий, ртуть, медь, кобальт и др.

Тяжелые металлы аккумулируясь в тканях и включаясь в пищевые цепи гидробионтов оказывают существенное влияние на физиолого-биохимические показатели рыб, обладают канцерогенными, гонадо- и эмбриотоксичными свойствами [6].

Изучение влияния тяжелых металлов на метаболизм тканей обмен рыб актуально для выявления механизмов патогенеза и поиска чувствительных маркеров для мониторинга водных экосистем. В основе патологии лежат нарушения ферментативных процессов.

Весьма чувствительными индикаторами на изменение экологической обстановки являются ферменты лизосом. Система лизосомальных ферментов на 90% представлена катепсинами, что имеет наиболее важное значение для адаптации белкового состава клеток к изменяющимся условиям окружающей среды [5].

Маркером состояния лизосомальных структур в клетке, является катепсин D. Поэтому изучение динамики активности катепсина D в тканях рыб в условиях хронической интоксикации ионами кадмия и свинца, представляется актуальным. На базе этих исследований могут быть разработаны дополнительные высокочувствительные тестовые системы для биохимического мониторинга водных экосистем.

Материал и методы исследования

В качестве объекта исследования использованы сеголетки карпа (*Cyprinus carpio* L.) в возрасте 6 месяцев, массой 100–150 г, полученные и выращенные в прудах Широкольского комбината Тарумовского района республики Дагестан, перед их переброской в пруды для зимовки, отлавливались и переносились в аквариумы объемом 300 литров по 15–20 штук.

Для адаптации к аквариальным условиям рыб выдерживали в течение 7–10 суток в аквариумах, где создавались условия постоянного температурного (19–22°C) и газового режима.

В хронических лабораторных опытах были испытаны:

– хлорид кадмия ($CdCl_2$) с содержанием в водной среде 0,25 мг/дм³ (ПДК – 0,005 мг/дм³)

– ацетат свинца ($Pb(CH_3COO)_2$) с содержанием в водной среде 0,5 мг/л (ПДК – 0,1 мг/дм³) [1, 4].

Биохимические анализы проводили на 5, 15, 30 и 40 сутки экспозиции рыб в токсической среде параллельно с контрольной группой. В опыт брали ткани из следующих органов: печень, кишечник, головной мозг, белая и красная мышца. Активность катепсина D определяли методом Ансона с некоторыми модификациями [7].

Полученные результаты подвержены вариационно – статистической обработке методом малой выборки [3].

Результаты исследования и их обсуждение

Как показывают наши результаты динамика активности катепсина D в исследованных тканях сеголеток карпа при хроническом воздействии хлорида кадмия и ацетата свинца подвержена значительным отклонениям от нормы (рис. 1, 2).

Они свидетельствуют о наличии тканеспецифичности в изменении активности

лизосомальных протеаз в ответ на действие повреждающего агента.

Содержание в водной среде с хлоридом кадмия (0,25 мг/л) и ацетата свинца

(0,5 мг/л) в течение 5 суток приводит к повышению активности катепсина Д в печени по сравнению с контролем почти вдвое (рис. 1, 2).

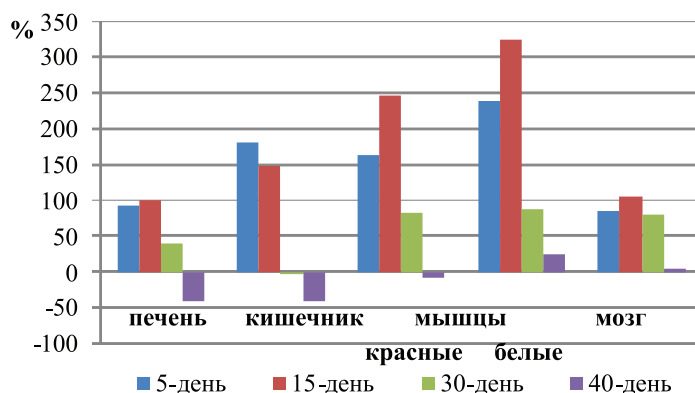


Рис. 1. Изменение активности катепсина Д в тканях сеголеток карпа при хроническом воздействии хлорида кадмия (в % к контролю)

Печень один из самых важных органов живого организма поддерживающих его гомеостаз. Она подвергается наиболее сильному воздействию загрязняющих веществ, которые в нем и обезвреживаются [2].

Активность катепсина Д в кишечнике сеголеток карпа под воздействием ионов кадмия повышается в 2,9 раза и на 51,6% в среде с ионами свинца. Экспозиция сеголеток карпа в течение 5 дней в токсической среде с хлоридом кадмия приводит

к повышению активности катепсина Д по сравнению с контролем в красных мышцах в 2,6 раза, в белых мышцах в 3,4 раза, в то время как ацетат свинца не оказал существенного влияния на активность данного фермента в этих тканях. Многие исследователи указывают, что мышцы рыб благодаря большой массе играют значительную роль в накоплении тяжелых металлов, хотя и занимают среднее место по их содержанию [10].

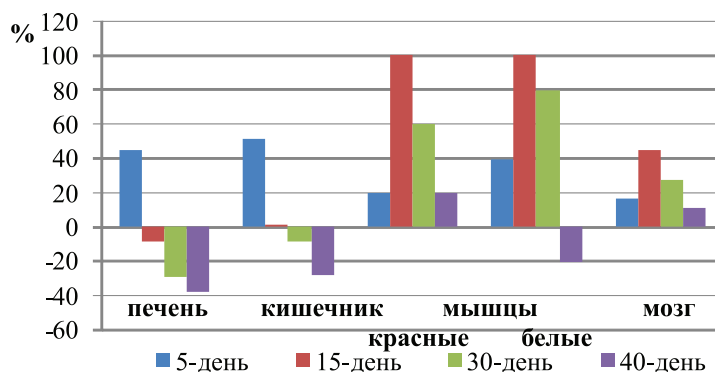


Рис. 2. Изменение активности катепсина Д в тканях сеголеток карпа при хроническом воздействии ацетата свинца (в % к контролю)

Активность катепсина Д в мозге сеголеток карпа повышается под воздействием ионов кадмия в 1,8 раза, а под воздействием ионов свинца повышается незначительно по сравнению с контролем. Из числа различных систем организма большое значение имеют регуляторные, к которым относятся ЦНС, эндокринная, иммунная. Первоначальные нарушения мышечной, сердечно-сосудистой, дыхательной, пищеварительной систем

в процессе интоксикации могут существенно повлиять на функцию регуляторных систем. Например, известны факты, свидетельствующие о расстройстве ЦНС в результате накопления вредных метаболитов, которые при определенном уровне с кровью проникают через ГЭБ в головной мозг [8].

По нашим данным на 15 день интоксикации рыб в токсической среде с хлоридом кадмия и ацетатом свинца наблюдаются, раз-

нонаправленные изменения в динамике активности катепсина Д. В печени карпа активность катепсина Д под воздействием ионов кадмия продолжает повышаться (100,8%), в то время как под воздействием ионов свинца наметилась тенденция к снижению. На данном этапе интоксикации ионами кадмия активность катепсина Д в кишечнике сеголеток карпа все еще выше контроля в 2,5 раза, а под воздействием ионов свинца она возвращается к норме. Активность катепсина Д в красных и белых мышцах сеголеток карпа под воздействием ионов кадмия выше контроля в 3,4 и 4,2 раза соответственно, а свинца – в 2 раза соответственно. Ионы кадмия и свинца повышает активность катепсина Д в головном мозге сеголеток карпа по сравнению с контролем почти в 2 раза.

Таким образом, результаты начальных этапов экспозиции (5,15 дни) показывают более выраженную активацию катепсина Д во всех тканях сеголеток карпа под воздействием ионов кадмия по сравнению с ионами свинца.

Продление сроков пребывания сеголеток карпа в среде с ионами кадмия и свинца до 30 дней приводит к снижению активности катепсина Д в печени на 39,5 и 29,2%, соответственно, по отношению к контролю. Тенденция к снижению сохраняется и на 40 день интоксикации.

В кишечнике карпа к 30 дню интоксикации ионами кадмия и свинца активность катепсина Д не отличается от нормы. А уже к 40 дню эксперимента активность фермента в кишечнике сеголеток карпа ниже контроля как под воздействием ионов кадмия (на 41,9%), так и свинца (на 27,5%).

Пребывание сеголеток карпа до 30 дней в среде с ионами кадмия повышает активность катепсина Д в красных мышцах на 45,4%, а с ионами свинца 60%, в белых мышцах активность в обоих случаях повышена одинаково в 1,8 раза.

При пролонгировании интоксикации до 40 дней активность катепсина Д в красных и белых мышцах снижается.

В мозговой ткани сеголеток карпа активность катепсина Д на 30 день интоксикации ионами кадмия и свинца все еще выше контроля на 78,9 и 27,8%. При продлении сроков интоксикации до 40 дней ионами кадмия активность катепсина Д в мозге карпа возвращается к норме, а ионами свинца остается выше контрольного уровня.

Из полученных результатов видно, что максимальная активность катепсина Д под воздействием ионов кадмия во всех тканях карпа

приходится на 5 и 15 дни эксперимента, а уже к 30 дню она начинает снижаться и к 40 дню практически не отличается от нормы.

Первая реакция на интоксикацию проявляется неспецифической реакцией лизосом и активация лизосомальных ферментов, а степень и временная динамика изменений ферментативной активности зависят от специфики действующего фактора. В данном случае уже на 5 день повышение активности катепсина Д карпа при интоксикации ионами, как кадмия, так и свинца свидетельствуют об этом.

Первоначальное повышение активности катепсина Д в исследуемых тканях и органах, видимо связано с лабильностью мембран лизосом. К веществам, оказывающим лабильзирующий эффект на мембраны лизосом, относятся ионы кальция и магния, железа, неорганическая ртуть, хлорид кадмия, ацетат свинца, лизолецитин и другие продукты гидролиза липидов кислыми липазами, гормоны, соли желчных кислот и др. [9]. Последующее снижение активности катепсина Д при длительном влиянии ионов кадмия и свинца может быть результатом стабилизации мембран лизосом, однако нельзя исключить и возможность ингибирования активности катепсина Д ионами металлов [11].

Список литературы

1. Волошина Г.В. Экологическая оценка состояния поверхностных вод реки Понура // Эколог. вест. Север. Кавказа. – 2006. – Т.2. – № 1. – С. 118–122.
2. Крючков В.Н., Фомин И.В. Изучение адаптации печени карпа к токсическому воздействию кадмия и ее регенерация // Вест. Рос. унвер. Дружбы народов, Серия «Экология и безопасность жизнедеятельности». – 2005. – Т. 12, № 2.
3. Лакин Г.Ф. Биметрия. – М.: Высшая школа, 1990. – 352 с.
4. Минина Л.И. Методические указания к практикуму «Анализ объектов окружающей среды». Определение массовой концентрации меди, свинца, кадмия в поверхностных водах суши инверсионным вольтамперметрическим методом / под ред. Е.М. Цыганков. – Ростов-на-Дону, 2003. – 26 с.
5. Немова Н.Н., Высоцкая Р.У. Биохимическая индикация состояния рыб. – М.: Наука, 2004. – 216 с.
6. Нефедова З.А., Руоколайнен Т.Р., Васильева О.Б., Немова Н.Н., Шарова Ю.Н. Особенности состава тканевых липидов сига *Coregonus Lavaretus*, обитающего в водоемах с разной антропогенной нагрузкой // Вопр. ихтиологии. – 2007. – Т. 47. – № 1. – С. 107–112.
7. Нурмагомедова П.М., Березин В.А., Эмирбеков Э.З., Рева А.Д. Влияние гипотермии на субклеточное распределение и некоторые физико-химические свойства катепсина Д в головном мозгу крыс // Укр. биох. журн. – 1983. – Т. 55, № 2. – С. 175–178.
8. Обухов Д.К., Крючков В.И. Исследование влияния нефтяного загрязнения на морфофункциональное развитие молоди осетровых рыб // Вопр. рыболовства. – 2000. – Т. 1. – Вып.4. – С. 98–117.
9. Трахтенберг И.М., Шафран Л.М. Травяные яды // Общая токсикология; под ред. Б.А. Курдянского, В.А. Филова. – М.: Медицина, 2002. – С. 111–175.
10. Шулькин В.М. Металлы в экосистемах морских мелководий. – Владивосток, 2004. – 279 с.
11. Giri S.N., Hollinger M.A. Effect of cadmium on lung lysosomal enzymes in vitro // Arch. Toxicol. – 1995. – Vol. 69. – № 5. – P. 341–345.