

The mediated influence of allochthonous nitrogen is related to functioning of all biotope, in particular with the increase of food capacity of reservoirs. Thus experimental fishes, for which is marked at high level of metabolic processes, being in more advantageous forage conditions, is characterized by the promoted rates of linear and weight growth, that in the turn is related to the increase of the contents RNA in tissues and organs.

The contents RNA of and the RNA/DNA ratio in tissues adequately characterize activity of metabolism of fishes at action of high concentrations of mineral nitrogen.

АКТИВНОСТЬ ПРОЦЕССОВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ У КАРПА ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ МИНЕРАЛЬНОГО АЗОТА

А.С. Потрохов, О.Г. Зиньковский, Н.А. Могилевич

Институт гидробиологии НАН Украины, г. Киев

e-mail: alport@bigmir.net

Образование перекисей, свободных радикалов, гидроперекисей и других продуктов перекисного окисления имеет место относительно всех веществ-восстановителей, однако, в первую очередь, эти процессы наиболее активно протекают по отношению к липидам. Липиды активно связывают свободные радикалы и другие перекиси в антиоксидантной системе организма. Поскольку липиды являются основой всех внутриклеточных мембран, а также играют существенную роль в метаболизме клетки, то равновесие протекания перекисных и антиоксидантных процессов является одним из необходимых условий нормального функционирования организма. Нарушение этого равновесия всегда свидетельствует о наличии патологии или стресса.

В норме у животных существует равновесие прооксидантных и антиоксидантных процессов. Вследствие этого перекисное окисление протекает на определенном стационарном уровне. Активация перекисного окисления липидов (ПОЛ) может рассматриваться как компонент неспецифической реакции организма на экстремальные влияния, то есть как звено стресс-реакции [Барабой и др., 1991].

Процесс ПОЛ в интактной клетке поддерживается на стационарном уровне с помощью системы, которая организована по принципу негативной обратной связи. В этой системе количество естественных антиоксидантов, состав и окисляемость липидов взаимозависимы таким образом, что возможно осуществление эффективной регуляции процессов ПОЛ. Показано, что при направленной модификации липидного субстрата взаимосвязь между параметрами сохраняется также при развитии патологических состояний [Паранич и др., 1990].

Образование избыточного количества перекисных продуктов, которое имеет место при развитии патологии, приводит к нарушению структурной и функциональной организации клеточных мембран, изменению их проницаемости и ионного баланса в клетках, разъединению окислительно-фосфорилирования, окислению тиольных групп белков и дезактивации ферментов [Козлов и др., 1972].

Из рассмотренных примеров вытекает, что активность протекания ПОЛ и активность антиоксидантных систем и соотношения этих разнонаправленных процессов могут служить интегральными показателями состояния организма.

Сдвиг равновесия активности антиоксидантной системы и протекания свободно-радикальных процессов, в частности в системе ПОЛ, со значительной степенью достоверности отображает именно активность и уровень действия факторов окружающей среды на организм в основном вне зависимости от того, какой конкретный фактор есть стрессором. Изменение показателей ПОЛ имеет выраженную тканевую специфичность, то есть для различных клеток и тканей характерен разный тип реагирования системы ПОЛ и антиоксидантной системы на действие стрессоров.

При действии на рыб ряда экстремальных факторов отмечено снижение антиокислительной активности (АОА) тканей, что приводит к активации ПОЛ и накоплению токсичных гидроперекисей липидов [Аверьянов и др., 2000]. У рыб изменения свободнорадикального окис-

ления под действием стресса является эффективным механизмом перестройки внутриклеточных мембран в ходе их адаптации к новым условиям жизни. При действии аммиака в предельной концентрации функционирования специфических систем ПОЛ обеспечивает определенный гомеостатичный уровень свободнорадикальных процессов, необходимый для нормального функционирования клеток. При этом накопления токсичных продуктов ПОЛ не происходит [Грубинко и др., 1996].

Таким образом, изменение содержания промежуточных продуктов ПОЛ (гидроперекисей липидов, диеновых конъюгатов) или конечного продукта ПОЛ (малонового диальдегида) могут быть тест-показателями при оценке токсичности среды, радиационной нагрузки и других патологиях.

Целью данной работы было оценить степень воздействия повышенных концентраций аллохтонного азота на протекание процессов перекисного окисления липидов в тканях и органах карпа. Также нами рассматривалась возможность использования основных показателей ПОЛ у рыб для оценки экологического состояния водоемов.

Материал и методы

Условия проведения пятилетнего эксперимента описаны в статье, опубликованной в данном издании (Потрохов А.С. Изменение содержания нуклеиновых кислот в тканях карпа в зависимости от концентрации аллохтонного азота в воде и темпа роста рыб).

Влияние факторов среды на свободнорадикальные процессы в организме рыб изучалось на основе регистрации содержания диеновых конъюгатов [Стальная, 1977], гидроперекисей липидов [Романова, Стальная, 1977], малонового диальдегида [Стальная, Гаришвили, 1977].

Полученные данные обработаны статистически с помощью программы Statistica 5.5.

Результаты и обсуждение

Содержание продуктов ПОЛ в органах рыб свидетельствует об активности протекания метаболических процессов в организме или же их дисбалансе и напряжении, вызванном действием стрессовых факторов разной природы. Как показали наши исследования, наиболее адекватно влияние избыточного поступления аллохтонного азота отображается на начальных стадиях ПОЛ изменением содержания гидроперекисей липидов в печени и жабрах. Если весной наибольшее количество гидроперекисей в печени наблюдается у контрольных особей, которые раньше вступили в период активизации физиологических процессов, то летом и осенью повышенный обмен веществ наблюдается у подопытных рыб, что связано как с высокими темпами роста этих карпов, так и токсической нагрузкой среды (рис.1). Однако, в жабрах рыб, которые подвергались действию высоких концентраций соединений минерального азота, в течение всего года накопление гидроперекисей липидов было максимальным. Причем осенью наблюдается прямая зависимость между концентрацией аллохтонного азота и количеством гидроперекисей в жабрах подопытных рыб, что свидетельствует об активном противодействии токсичному влиянию ионов аммония и нитритов на функционирование организма в этот период года.

В мышцах и печени контрольных рыб весной отмечено более высокое содержание диеновых конъюгатов и малонового диальдегида (рис. 2, 3). Данный факт также свидетельствует о высоком уровне метаболизма контрольных карпов в начале вегетационного периода.

Для рыб, находившихся под воздействием аллохтонного азота, при благоприятном температурном режиме характерны более низкие значения содержания диеновых конъюгатов по сравнению с контрольными показателями. У этих рыб, благодаря активизации компенсаторных механизмов, противодействующих негативным факторам, несколько снижается образование промежуточных продуктов ПОЛ (гидроперекисей липидов) или же они достаточно быстро окисляются до малонового диальдегида. Данный факт также свидетельствует об активизации антиоксидантной системы рыб. В тоже время при падении температуры воды и на фоне снижения активности всех ферментативных процессов, в частности детоксикации эндогенного азота, отмечается дозозависимое увеличение количества диеновых конъюгатов как в мышцах, так и печени рыб. Экто указывает на то, что основные негативные проявления токсического действия аллохтонного азота на рыб наблюдаются в холодное время года.

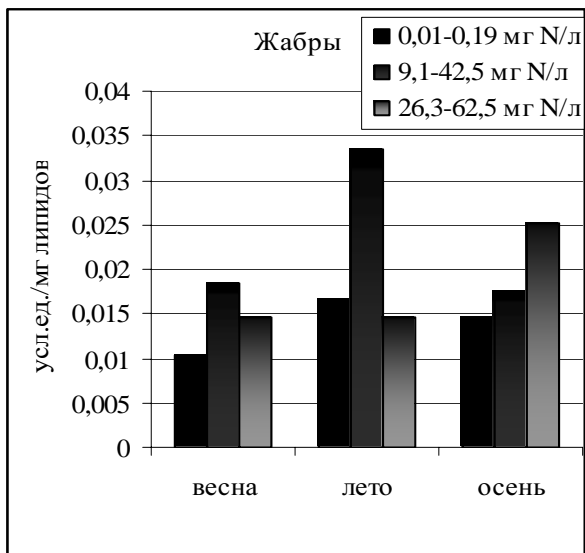
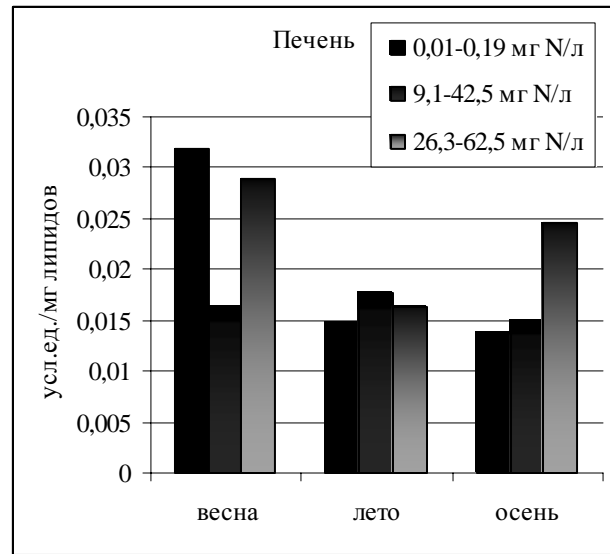
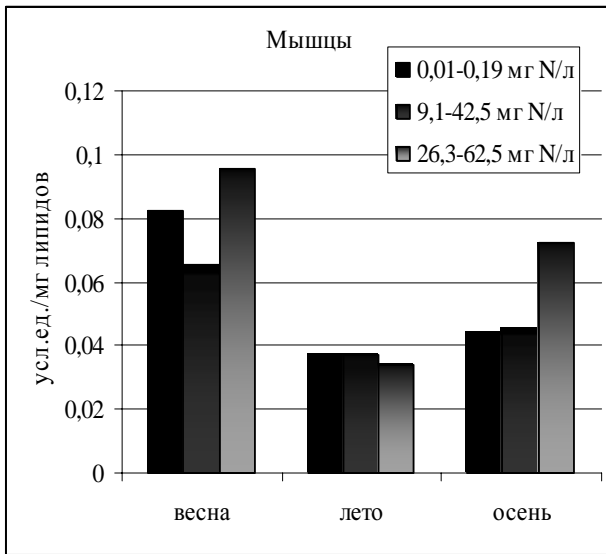


Рис. 1. Изменение содержания гидроперекисей липидов в органах и тканях карпа под действием высоких концентраций минеральных форм азота, по аммонийному азоту

Летом под воздействием высоких концентраций минерального азота существенно растет количество малонового диальдегида (конечного продукта ПОЛ) в печени опытных рыб в прямой зависимости от силы действующего фактора. Осенью же содержание продуктов ПОЛ в органах подопытных рыб превышало контрольные значения в 1,4–2,2 раза.

Результаты исследований, проведенных на животных [Барабой и др., 1991; Козлов и др., 1972; Winston, Di Giulio., 1991] и на рыбах [Аверьянов и др., 2000; Грубинко и др., 1996; Потрохов и др., 2003], позволяют утверждать, что исходя из нарушения равновесия между перекисным окислением липидов и активностью антиоксидантных систем можно судить о характере и степени изменений активности метаболизма в целом и о преобладании в нем биосинтетических процессов или процессов катаболизма. Изменение содержания продуктов ПОЛ (диеновых конъюгатов, гидроперекисей липидов и малонового диальдегида) свидетельствуют об активности протекания обмена веществ у рыб и степени его дисбаланса под действием неблагоприятных факторов [Грубинко и др., 1996; Потрохов и др., 2003]. Вероятно, динамика изменения содержания продуктов ПОЛ в тканях карпа отображает активность метаболизма, баланс процессов синтеза и распада веществ в тканях рыб.

Нашими исследованиями установлено, что в период активного роста при достаточном питании метаболизм рыб усиливался. Соответственно в мае отмечено наибольшее количество малонового диальдегида и диеновых конъюгатов в мышцах и печени рыб.

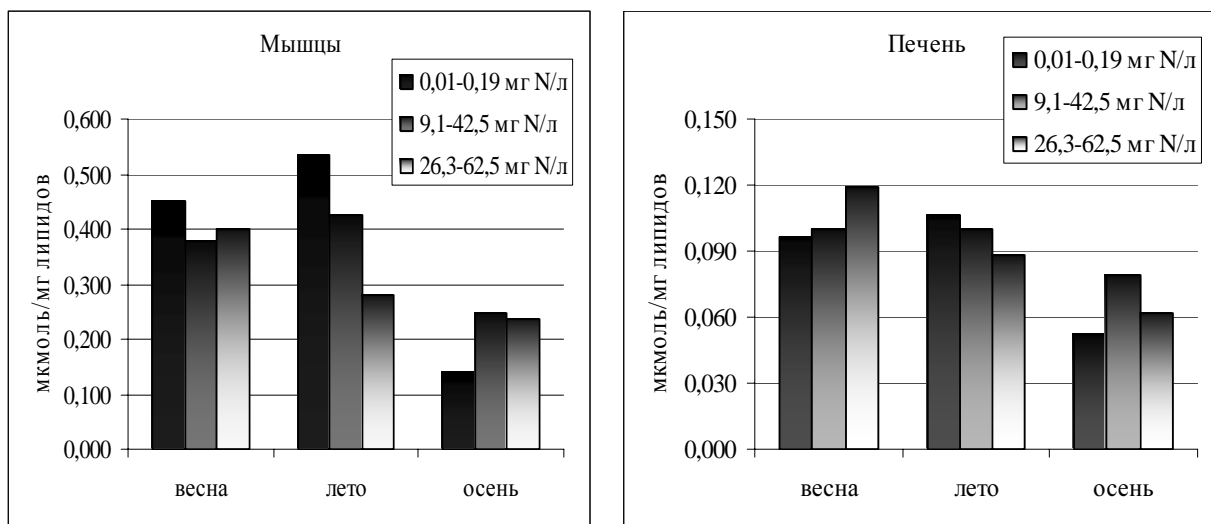


Рис. 2. Среднесезонные значения содержания диеновых конъюгатов в тканях карпа под действием аллохтонного азота.

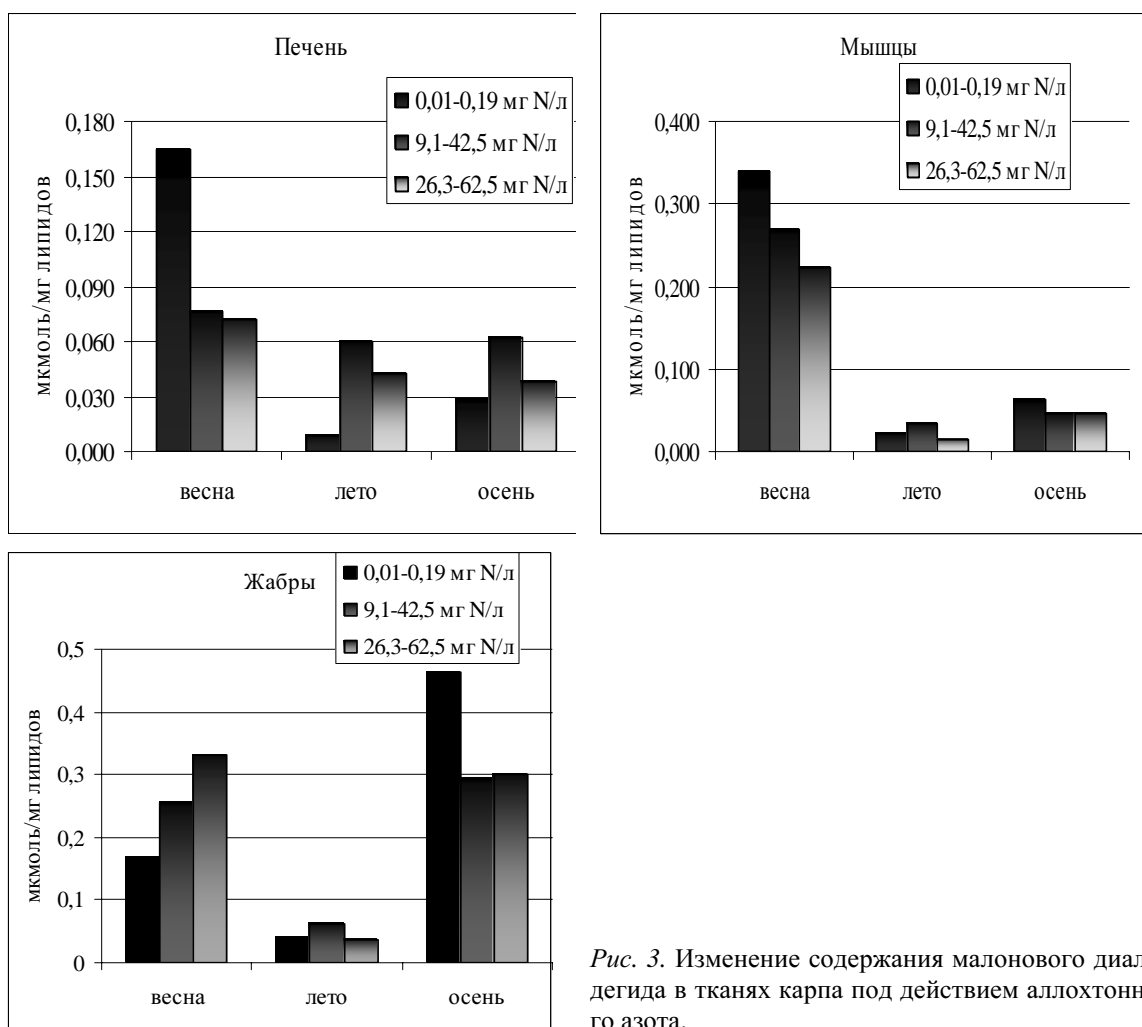


Рис. 3. Изменение содержания малонового диальдегида в тканях карпа под действием аллохтонного азота.

Летом содержание малонового диальдегида существенно снижалось (в 3,4–6,3 раз в зависимости от ткани, за исключением печени), содержание диеновых конъюгатов в печени и мышцах несколько повышалось. Заслуживает внимания то, что летом показатели количества

диеновых конъюгатов и малонового диальдегида в мышцах, жабрах, селезенке в трех группах рыб существенно не отличались. Вероятно, в условиях высокой температуры воды поступающий аллохтонный азот поддается активному превращению в трофической цепи экосистемы водоема и токсичное влияние разных форм его на рыб сводится к минимуму. Лишь в печени наблюдалось значительное превышение уровня содержания малонового диальдегида у подопытных рыб по сравнению с контрольными, что, вероятно, свидетельствует об активных процессах в системах эндогенной детоксикации и экскреции избыточного аммиака. Отсутствие существенных отличий в содержании промежуточных продуктов ПОЛ в тканях опытных и контрольных рыб позволяет заключить, что летом метаболические процессы протекали на достаточно высоком уровне без значительной патологии или дисбаланса, и у подопытных рыб токсическое действие соединений минерального азота было компенсировано.

Однако, противоположная ситуация отмечается осенью. Содержание продуктов ПОЛ в органах опытных рыб превышает контрольные значения в 2–3 раза. Вероятнее всего это может быть проявлением нескольких, связанных между собой процессов, вызванных поступлением соединений азота в водоемы. Во-первых, с понижением температуры воды усиливается токсичное действие аллохтонного азота на карпа, что приводит к нарушению равновесия и сбалансированности между активностью антиоксидантной системой и процессом перекисного окисления липидов. Так, активный обмен веществ, обусловленный действием токсикантов, требует дополнительных энергетических затрат, в результате чего не происходит достаточного накопления запасных веществ в печени и мышцах подопытных рыб. Во-вторых, высокий уровень активности метаболизма, который сохраняется у подопытных рыб, и высокие энергозатраты изменяют пищевое поведение рыб, они продолжают активно питаться, линейный рост преобладает над весовым, в результате чего коэффициенты упитанности карпа недостаточны.

Выводы

Таким образом, проведенные исследования подтверждают наши предположения, что в ответ на действие соединений аллохтонного азота и в зависимости от температурных условий среды рыбы продуцируют два разных способа приспособления их обмена веществ в ответ на действие токсиканта. В частности, на уровне изменений физиолого-биохимических показателей происходит активация метаболических процессов в вегетационный период и их максимальное угнетение при действии низких температур в зимний период.

Литература

- Аверьянов О.В., Дудник Л.В., Пушкарь В.Я., 2000. Перекисное окисление липидов у карпа и белого толстолобика с различными темпами роста // Экологическая физиология и биохимия рыб. Тез. докладов IX Всерос. конф. Ярославль, май 2000 г. Т. 1. Ярославль. С. 3–4.
- Барабой В.А., Орел В.Э., Карнаух И.М., 1991. Перекисное окисление и радиация / Киев: Наукова думка. 256 с.
- Грубинко В.В., Леус Ю.В., Арсан О.М., 1996. Перекисное окисление липидов в тканях карпа при действии аммиака // Гидробиол. журнал. Т. 32. № 4. С. 52–57.
- Козлов Ю.П., Данилов В.С., Каган В.Е. и др., 1972. Свободнорадикальное окисление липидов в биологических мембранах / М.: Изд-во моск. ун-та. 88 с.
- Паранич А.В., Чайкина Л.А., Жарков С.В., 1990. Радиационно-индуцированное перекисное окисление липидов, рыбная диета и модуляция эффектов витамином Е // Радиобиология. Т. 30. Вып. 6. С. 808–813.
- Потрохов А.С., Волкова Е.Н., Беляев В.В., Зиньковский О.Г., 2003. Влияние перорального введения ¹³⁷Cs на росте и физиолого-биохимические показатели двухлеток карпа // Збірник наукових праць Інституту ядерних досліджень. № 2 (10). С. 109–116.
- Романова Л.А., Стальная И.Д., 1977. Метод определения гидроперекисей липидов с помощью тиоцианата аммония // Современные методы в биохимии. М.: Медицина. С. 65–66.
- Стальная И.Д., 1977. Метод определения диеновой конъюгации ненасыщенных высших жирных кислот // Современные методы в биохимии. М.: Медицина. С. 63–64.
- Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г., 1977. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты // Современные методы в биохимии. М.: Медицина. С. 66–68.
- Winston G.W., Di Giulio R.T., 1991. Prooxidant and antioxidant mechanism in aquatic organisms // Aquatic Toxicol. Vol. 19. P. 137–161.

ACTIVITY OF PROCESSES OF PEROXIDE OXIDATION OF LIPIDS AT CARP UNDER ACT OF MINERAL NITROGEN

A.S. Potrokhov, O.G. Zinkovskiy, N.A. Mogylevych

Institute of hydrobiology of NAofSci of Ukraine, Kiev

e-mail: alport@bigmir.net

It determined that in the term of active growth at sufficient nutrition metabolism of fishes increased. Accordingly in May are marked the greatest amount of malonic dialdehyde and diene conjugates in muscles and a liver of experimental and control fishes.

With decreasing temperature of water in the autumn on a background of the general decrease of the content of products the POL in organs and tissues of all fishes, under action allochthonous nitrogen their higher values are observed (in 2–3 time in comparison with the control). It is exhibiting of several processes connected among themselves which are caused by entering of compounds of nitrogen in water reservoirs. First, with decrease temperature of water action mineral nitrogen on a carp is intensified that results in unbalance and equilibrium between activity antioxidasing system and process of peroxide oxidation of lipids. Second, a high level of activity of metabolism which is preserved at experimental fishes, and high power inputs are changed a feeding behavior of fishes. They continue to eat actively, the linear growth prevails above weight growth therefore the fatness of a carp is insufficient.

ЛИПИДНЫЙ СОСТАВ ТКАНЕЙ АТЛАНТИЧЕСКОГО ЛОСОСЯ *SALMO SALAR* L. КОЛЬСКОГО ПОЛУОСТРОВА

Л.А. Похольченко

Мурманский государственный технический университет, г. Мурманск, Россия

e-mail: ludapoh@yandex.ru

Из всех групп веществ, входящих в состав животных организмов, липиды наиболее быстро реагируют на изменения многих экологических факторов. В течение первых лет жизненного цикла липидный обмен существенно меняется, обеспечивая адаптацию рыб к изменениям окружающей среды. К настоящему времени изучению липидов рыб посвящено много работ, но закономерности и амплитуда изменчивости их состава на ранних этапах развития под влиянием внешних факторов изучены недостаточно.

Анализируются сведения по липидному составу тканей речной молоди атлантического лосося разного возраста из рек Западная Лица, Печа и Пак Кольского полуострова.

Материал и методика

Отбор биологических проб и их фиксация

Для исследования липидного состава брали мышечную ткань и печень молоди атлантического лосося *Salmo salar* L. Сбор материала осуществляли в августе 2008 г. на реках Печа, Пак (притоки реки Тулома) и Западная Лица Кольского полуострова. Пробы мышц и печени массой 1,0 и 0,5 г, соответственно, фиксировали в 5 мл бинарного растворителя с ионолом и хранили при температуре -18 °С без доступа воздуха и света до начала анализа не более 1 месяца. Общее количество исследуемых биологических проб лосося составило 56 штук.

Методика фракционирования липидов

Липиды из тканей экстрагировали по методу Блайя-Дайера (Кейтс, 1975). Фракционный состав липидов определяли методом одномерной ТСХ. Для анализа использовали пластинки с силикагелем на алюминиевой подложке фирмы «Merck» (Германия). Соотношение отдельных классов общих липидов изучали в системе н-гексан-серный эфир-ледяная уксусная кислота (90:20:1 (v/v/v)); фосфолипидов – хлороформ-метанол-вода (65:25:4 (v/v/v)). Идентификацию фракций липидов проводили при длине волны 540 нм на приборе CS-9000 фирмы «Shimadzu» (Япония) с помощью стандартов фирмы «Sigma» и «ISN» (США) (Кейтс, 1975). Статистическую обработку полученных результатов проводили стандартными биометрическими методами с помощью стандартного пакета прикладных программ Microsoft Excel и специальных программ (Лакин Г.Ф., 1990).