



Рис. 2. Доля ДНК в хвосте комет (%DNAт) формируемых клетками жабр корбикулы, обитающей в (a) эстуария реки Артемовка ($P < 0.05$); (b) лагуна Лебяжья ($P < 0.05$); (c) эстуария реки Раздольная ($P < 0.05$)

На диаграмме (рис.2) приведен один из параметров полученных комет (доля ДНК в хвосте кометы – %DNAт), отражающий степень повреждения жаберной ДНК *S. japonica*, обитающей в разных районах залива Петра Великого. Анализ этих данных показывает, что в клетках жабр моллюсков отобранных с мест с повышенной антропогенной нагрузкой (эстуария реки Раздольная), доля ДНК в хвосте кометы существенно выше, чем у животных собранных в относительно чистых местах.

APPLICATION OF GENOTOXIC ANALYSIS FOR MONITORING OF COASTAL ZONE OF PETER THE GREAT BAY

Slobodskova V.V., Solodova E. E., Chelomin V.P.

V.I. Il'ichev Pacific Oceanological Institute,
of the Far Eastern Branch of Russian Academy of Sciences, Vladivostok, Russia
slobodskova@poi.dvo.ru

The coastal zones of seas and oceans, where the center of the main stocks of biological resources that may be susceptible to a variety of anthropogenic factors, which have various effects on marine organisms and affects all levels of the organization of living systems – from the molecular to the ecosystem. In connection with, the actual problem is reliable and operational ecotoxicological assessment of the relevant sea areas.

АКТИВНОСТЬ АМФ-ДЕЗАМИНАЗЫ В ТКАНЯХ ЧЕРНОМОРСКИХ РЫБ, ИМЕЮЩИХ РАЗНУЮ СКОРОСТЬ ПЛАВАНИЯ

Ю. Д. Смирнова

Карадагский природный заповедник НАН Украины, Феодосия, Крым, Украина
karadag@ukrpost.ua

АМФ-дезаминаза (АМФДА, АМФ-аминогидролаза, КФ 3.5.4.6) – интегральный фермент цикла пуриновых нуклеотидов (в результате его оборота происходит циклическое дезаминирование

АМФ). Как известно, именно дезаминирование АМФ является главным источником аммония при активации мышечных сокращений. АМФДА катализирует гидролитическое дезаминирование АМФ до ИМФ (инозинмонофосфата) и аммония. В мышечной клетке существует равновесие между разными формами адениловых нуклеотидов. Реакция, катализируемая АМФ-деаминазой, имеет важное значение, так как сдвигает это равновесие. Изменение соотношения между содержанием разных форм аденилатов и его восстановление регулирует многие клеточные процессы, в том числе и мышечные сокращения (Лушак В.И., 1996).

В мышцах животных значительная часть АМФ-деаминазы связана с миофибриллами. Японскими биохимиками (Shiraki et al., 1979) на кроликах и крысах было показано перераспределение свободной и связанной форм АМФДА в мышцах при увеличении двигательной нагрузки, что трактуется ими, как участие перераспределения вышеназванных форм в регуляции активности АМФДА. При неизменном уровне общей активности, в результате стимуляции мышечных сокращений доля связанного фермента возрастала, а после отдыха возвращалась к исходному уровню. Одновременно зарегистрировали убыль содержания АМФ и рост уровня ИМФ и аммония. Авторы сделали вывод о возможной корреляции между связыванием АМФДА и скоростью аммонийногенеза, причем рассматривали связанную форму фермента как активную. Аналогичные результаты были получены П. Туллсоном с соавторами (Rundell et al., 1993) на мышцах крыс при беговой нагрузке.

В.И. Лушак также нашел увеличение связывания АМФДА в белых мышцах лосося при плавательной нагрузке в условиях эксперимента, описанных в упомянутой работе (Rundell et al., 1993), когда ткани сразу замораживали в жидком азоте, а позднее анализировали. Однако, если изучали свежие ткани, такое перераспределение свободной и связанной фракций АМФДА обнаружить не удалось (Lushchak, Storey, 1994).

Результаты, полученные нами при исследовании активности АМФ-деаминазы и соотношения ее свободной и связанной форм в тканях рыб, отличающихся скоростью плавания, позволяют взглянуть иначе на роль свободной фракции фермента. Были изучены ткани скорпены (*Scorpaena porcus* L.), темного горбыля (*Sciaenops ocellatus* L.), султанки (*Myxus barbatus ponticus* E.), ставриды (*Trachurus mediterraneus* Staindachner).

Оказалось, что активность фермента в мозге, жабрах, печени и сердце этих рыб не велика: 0,3–3,3 усл.ед. (условных единиц) на 1 г ткани и не взаимосвязана, кроме жабр, с физиологической скоростью плавания. У морского ерша, преимущественно находящегося в покое и совершающего короткие рывки лишь за добычей и при перемене укрытия, активность фермента максимальна в печени, не велика и почти одинакова в жабрах, сердце и клетках мозга. У самого крупного по массе тела темного горбыля активность АМФДА нарастает в ряду: мозг – жабры – печень – сердце, причем в клетках сердца она в три раза выше, чем у ерша и достоверно выше, чем у ставриды и султанки. В белых мышцах уровень активности АМФДА намного выше, чем в тканях других органов рыб, и возрастает от 10 усл.ед. /г ткани у ерша до 66–78 усл.ед./г у более подвижных султанки и ставриды. Процент свободной АМФДА, регистрируемый в белых мышцах, также изменяется в сторону увеличения у рыб, обладающих большей скоростью плавания, т.е. большей интенсивностью метаболических процессов, от 21% у ерша до 66% у ставриды.

Логично предположить, что свободная, слабее связанная с мембраной, фракция АМФДА в тканях рыб – это активированная форма фермента, а связанная фракция – это «депо», откуда фермент переходит в активную форму при нарастающей мышечной нагрузке, что подтверждается данными о степени высвобождения АМФДА при изменении рН экстрагирующего раствора (Смирнова, Лушак, 1996). Максимальный выход АМФДА наблюдался при отклонении рН от физиологических значений, при сдвиге в кислую или щелочную области, то есть накопление щелочных или кислотных остатков может стимулировать процесс перехода фермента в «свободную», форму. Это согласуется с интерпретацией Т.Моммсена и П.Хачачки (Mommensen, Hochachka, 1988) об участии АМФДА в стабилизации кислотно-щелочного баланса через образование иона аммония, нейтрализующего кислотные эквиваленты, накапливающиеся при интенсивном метаболизме.

Если считать высвобождение АМФДА – ее активацией, можно было бы рассматривать процесс «связывание-освобождение» как механизм регуляции активности фермента. Такая трактовка роли свободной АМФДА не противоречит данным, по увеличению процента связанной фракции при длительной мышечной нагрузке (Shiraki et al. 1979; Rundell et al., 1993; Lushchak, Storey, 1994). Исследователи фиксировали ткани в жидком азоте и при практически мгновенном торможении ме-

таболизма регистрировали истощение активной, свободной фракции АМФДА, поступающей из «депо» и тут же расходуемой, поэтому получали увеличение доли связанного фермента. Когда же ткани помещали в среду при +4 °С, то за время охлаждения их до остановки метаболизма накапливался пул свободной – активной АМФДА, выход которой из «депо» был стимулирован мышечной нагрузкой, и перераспределение фракций не наблюдалось (Lushchak, Storey, 1994).

Установлено, что, так называемая, связанная форма ферментов (экстрагируемая из гомогената ткани 0,5 М раствором КСl), более устойчива к воздействию инактивирующих факторов: связанная лактатдегидрогеназа из белых мышц ската, в отличие от свободной, не ингибировалась избытком пирувата и в 2–3 раза медленнее инактивировалась под действием протеазы трипсина, чем свободная; связанная форма гексокиназы из мозга скорпены инактивировалась при нагревании в несколько раз медленнее свободной, а связанная пируваткиназа из мозга султанки даже активировалась при 45 °С (Лушчак, 1997; Lushchak, 1998). Связанная (неактивная, по нашей версии) форма фермента менее повреждается под влиянием инактивирующих факторов, так как, вероятно, ее активные центры закрыты и не доступны для воздействия. Данные, полученные на тканях млекопитающих, также подтверждают нашу интерпретацию роли свободной фракции ферментов, как активной формы. Так, общая активность глицеральдегидфосфатдегидрогеназы в эритроцитах крови человека возрастает при увеличении количества свободного, несвязанного с мембранами фермента (Антонович, Слобожанина, 2002).

THE ACTIVITY OF THE AMP-DEAMINASE IN THE TISSUES OF THE BLACK SEA FISH WHICH HAVE DIFFERENT PHYSIOLOGICAL SWIMMING SPEEDS

Yu.D. Smirnova

Karadag Nature Reserve of the National academy of sciences of Ukraine, Feodosiya, Crimea, Ukraine
karadag@ukrpost.ua

The activity of the AMP-deaminase in the tissues of the Black Sea fish, which have different physiological swimming speeds was investigated. The activity of the enzyme in red muscles is 5–10 times and in white muscles 8–15 times was higher than its activity in other fish tissues. The level of AMPDA activity in gills and muscles is higher in those fish that have a higher speed of swimming. The portion of free, easily extractable fraction of AMPDA of the white muscles is also connected with the swimming speed, and it is minimal in the scorpion-fish (20%) and it is maximal in the horse-mackerel (66%). It is supposed the free fraction is an activated form of enzyme and the bound fraction is depot of AMPDA from which this enzyme could be turned into an active form if necessary.

МЕХАНИЗМЫ РАЗВИТИЯ И КОМПЕНСАЦИИ ТКАНЕВОЙ ГИПОКСИИ У МОРСКИХ РЫБ

А.А. Солдатов

Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского НАН Украины, Севастополь, Украина
alekssoldatov@yandex.ru

Кислород, выполняя функцию акцептора электронов в дыхательной цепи митохондрий, в конечном итоге определяет энергетический статус тканей и организма в целом. В условиях водной среды, где диффузия его протекает в 10000 раз менее эффективно в сравнении с воздухом, возникновение гипоксических состояний у гидробионтов становится более вероятным событием. Особенно это актуально для рыб, у которых энергетические траты на обмен существенно превалируют над конструктивными процессами.

Сравнительные исследования показали, что диффузионная способность тканей костистых рыб (скелетные мышцы) была в 2–21 раз ниже, чем у рептилий, амфибий и птиц. При этом величина гемодинамического эквивалента у них, напротив, оказалась в 2–8 раз выше (Солдатов, 2007). Столь существенные различия диффузионных характеристик предполагают высокую чувствительность кислородного гомеостаза тканей рыб к различным факторам среды. Исследуя характер рас-