

О. Н. Ершова, к.б.н., старший научный сотрудник,
В. Н. Тоцкий, д.б.н., профессор,
В. А. Топтиков, к.б.н., старший научный сотрудник,
Т. И. Лавренюк, младший научный сотрудник,
О. А. Ковтун, к.б.н., доцент

Одесский национальный университет имени И. И. Мечникова,
кафедра генетики и молекулярной биологии,
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65082, Украина, e-mail: ershova_ok@mail.ru

АНТИОКСИДАНТНЫЙ СТАТУС ТКАНЕЙ РАПАНЫ В УСЛОВИЯХ СТРЕССА, ВЫЗВАННОГО ИОНАМИ МЕДИ

Изучали состояние антиоксидантной системы в ктенидии, гепатопанкреасе и нефридии брюхоногого моллюска *Rapana venosa* в условиях стресса, вызванного ионами меди. Экспериментальных животных содержали 3, 24 и 72 часа в аквариумах с морской водой с добавлением CuSO_4 в концентрации 5 и 10 предельно-допустимых концентраций (ПДК). Определяли общую антиоксидантную активность (ОАА) и содержание восстановленного глутатиона (GSH). Степень окислительного повреждения биополимеров оценивали по уровню малонового диальдегида (МДА). Показано, что ионы меди приводили к увеличению количества МДА, а также к снижению содержания GSH в ктенидии и гепатопанкреасе моллюска. В нефридии подобных изменений не выявлено. В присутствии меди ОАА ослабевала в ктенидии. В нефридии и гепатопанкреасе данный показатель не менялся. Изменения антиоксидантного статуса тканей рапаны отмечались, главным образом, в первые часы (3 и 24) воздействия меди. К 3 суткам исследуемые показатели антиоксидантной системы большей частью не отличались от контрольных значений. Сделан вывод, что антиоксидантная система рапаны устойчива к действию меди и обладает большим адаптационным потенциалом.

Ключевые слова: *Rapana venosa*; медь; антиоксидантная система.

Тяжелые металлы – это важный природный и антропогенный фактор морских экосистем, поэтому процессам их накопления-выведения и действию на гидробионты посвящено значительное количество исследований [4, 6, 10, 19, 25, 26]. Считается, что основными источниками поступления тяжелых металлов в Чёрное море являются сток рек, сточные воды, коррозия металлоконструкций и лакокрасочных покрытий в портовых акваториях [11, 12, 24], атмосферные осадки [16]. Все эти факторы приводят не только к ухудшению экологической ситуации, но и к сокращению биологического разнообразия. Известно, что тяжелые металлы необходимы гидробионтам для нормальной физиологической деятельности как микроэлементы. Например, цинк, как катализатор, принимает участие в ферментативных процессах [1]. Медь входит в со-

став энзимов, регулирующих клеточный метаболизм, обладает способностью стабилизировать серосодержащие радикалы [14]. Однако многие из них, обладая биологической активностью, не подвергаются трансформации и, попадая в организм гидробионтов в избыточном количестве, накапливаются в нем [11]. В результате такого процесса в организме морских обитателей происходит нарушение клеточного метаболизма, структуры и проницаемости клеточных мембран, усиление перекисного окисления липидов и ингибирование окислительного фосфорилирования [2]. Из десяти элементов (Pb, Cu, Hg, Cd, As, Te, Zn, Sn, Mn, Ni), действие которых проверялось на выживаемости эмбрионов мидий и устриц, медь занимает второе место по токсичности после ртути. По литературным данным, при концентрациях меди в морской среде 5,3 мкг/л и выше наблюдается аномальное развитие эмбрионов [18]. Избыточная концентрация ионов меди в морской воде оказывает значительное влияние на содержание этого металла в тканях морских животных [21], в частности, тихоокеанской мидии *Mytilus trossulus*, вызывая угнетение роста ее личинок [23]. В лаборатории исследовалась активность антиоксидантной системы *Rapana venosa* из акваторий Черного моря с разным уровнем загрязнения, так как известно, что основная нагрузка при действии ксенобиотиков ложится на ферменты антиоксидантной системы [20]. Однако, неизвестно действие конкретных загрязнителей Черного моря, в частности, ионов меди на данную адаптационную систему моллюска. В связи с этим, целью данного исследования было изучение адаптационных возможностей рапаны к действию ионов Cu^{2+} и состояние антиоксидантной системы моллюска в присутствии данного токсического агента.

Материалы и методы исследования

Исследовали половозрелых особей рапан, выловленных в прибрежной акватории Одесского залива. Моллюсков собирали в летний период 2015 года. Площадь сбора составляла около 100 м² данной акватории. Высота раковин собранных моллюсков колебалась в пределах 50–70 мм, возраст особей составлял от 4 до 5 лет.

Животных помещали в три аэрируемых аквариума объемом 200 литров по 20–22 особи в каждый. При определении пределов ПДК для ионов меди и выборе концентраций в эксперименте опирались на данные, представленные в работе [5]. В первом аквариуме была чистая морская вода, во второй добавляли CuSO_4 до концентрации 5 ПДК (25 мкг/л, в пересчете на ион меди), в третьем – концентрация CuSO_4 составляла 10 ПДК (50 мкг/л). Известно, что в водной среде катионы меди, связываясь с продуктами жизнедеятельности организмов, быстро уходят в нерастворимое, связанное состояние [15]. В связи с этим, на вторые сутки эксперимента в среду повторно вводили сульфат меди до необходимого значения ПДК. Перед началом эксперимента моллюски адаптировались к условиям аквариума в течение 3–5 суток. Через 3, 24 и 72 часа из каждого аквариума отбирали для анализа 6–7 особей. По окончании эксперимента рапаны хранились в морозильной камере при $-18\text{ }^\circ\text{C}$.

Для биохимического анализа использовали ктенидии, гепатопанкреас и нефридии моллюска. Гомогенаты готовили согласно общепринятой методики [9]. Для определения биохимических параметров в эксперименте объединяли несколько особей обоих полов, взятых в равных соотношениях. Определяли общую антиоксидантную активность (ОАА), содержание малонового диальдегида (МДА) и восстановленного глутатиона (GSH) в гомогенатах исследуемых тканей моллюска.

Содержание МДА в гомогенатах определяли с помощью тиобарбитуровой кислоты [17]. Общую антиоксидантную активность – по степени ингибирования аскорбат- и ферроиндуцированного окисления твин-85 до МДА [3]. Содержание GSH – по реакции с реактивом Элмана и образованию окрашенного продукта – 2-нитро-6-меркаптобензойной кислоты, который имеет максимум поглощения при 412 нм [3]. Полученные данные рассчитывали на грамм сырой массы ткани. Достоверность различий исследуемых параметров определяли, используя t-тест Стьюдента для несопряженных совокупностей. Значения показателей антиоксидантной системы особей, находившихся в среде с ионами меди, представлены в процентах относительно значений для контрольных особей. Контроль принимали за 100 %. В качестве контроля для каждого исследуемого срока отбора проб использовали моллюсков, находившихся в аквариумах с чистой морской водой такое же время, что и опытные животные.

Результаты исследования и их обсуждение

Ионы меди в количестве 5 и 10 ПДК за весь исследуемый период не приводили к изменению активности моллюсков и не оказывали летального действия. Это дало возможность предположить, что обнаруженные изменения в антиоксидантной системе будут отражать, в первую очередь, процесс адаптации моллюсков к неблагоприятным условиям.

Выбор органов для исследования обусловлен их основными физиологическими функциями. Ктенидий, как орган, первым «сталкивается» с загрязненной средой, и от его работы зависит обеспечение всего организма таким важным для жизнедеятельности элементом как кислород. Роль нефридия определяется его экскреторной функцией, а одной из важных задач гепатопанкреаса является обезвреживание попадающих и образующихся в процессе метаболизма в организме токсических соединений [22].

Содержание МДА отражает состояние динамического равновесия между оксидантами и антиоксидантами и дает представление об активности системы антиоксидантной защиты организма. На рис. 1–3 представлены данные об уровне малонового диальдегида в исследуемых органах. У контрольных особей содержание диальдегида в ктенидии колебалось от $16,7 \pm 1,7$ до $22,8 \pm 1,0$ нмоль/г ткани, в гепатопанкреасе от $21,8 \pm 2,6$ до $30,8 \pm 2,6$ нмоль/г ткани, в нефридии – от $15,4 \pm 2,9$ до $23,3 \pm 4,8$ нмоль/г ткани.

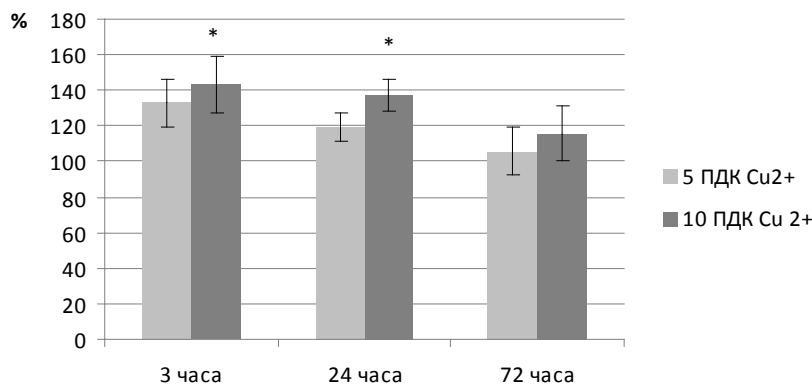


Рис. 1. Влияние ионов меди на содержание МДА в ктенидии *R. venosa*: * – достоверное отличие от контроля при $P < 0,05$; контрольные значения принимали за 100 %.

Присутствие в среде ионов меди в концентрации, составляющей 5 ПДК, не приводило к достоверному увеличению содержания МДА у опытных животных по сравнению с контрольными во всех исследуемых органах в продолжении всего периода наблюдений (рис. 1–3).

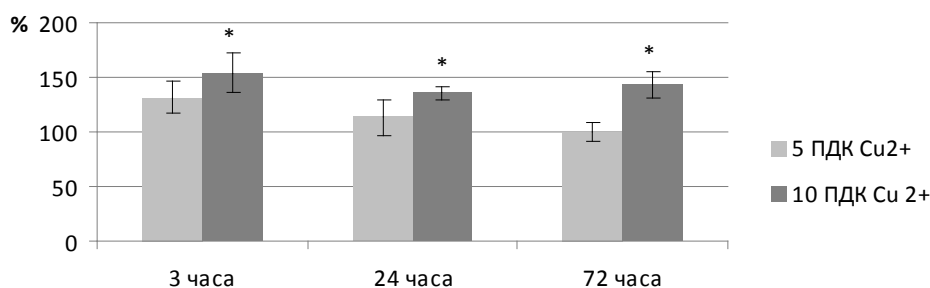


Рис. 2. Влияние ионов меди на содержание МДА в гепатопанкреасе *R. venosa*: * – достоверное отличие от контроля при $P < 0,05$; контрольные значения принимали за 100 %.

При концентрации меди в 10 ПДК уровень МДА в ктенидии и гепатопанкреасе превышал контрольные значения. Причем, в ктенидии повышенная концентрация диальдегида наблюдалась только в первое время (3 и 24 часа) нахождения рапаны в воде, содержащей сульфат меди. На третьи сутки концентрация МДА в ктенидии моллюска не отличалась от контроля (рис. 1). Вероятно, временное повышение количества диальдегида связано не с деструктивными процессами, а с перестройкой мембран, необходимой для адаптации органов к новым условиям [8, 13].

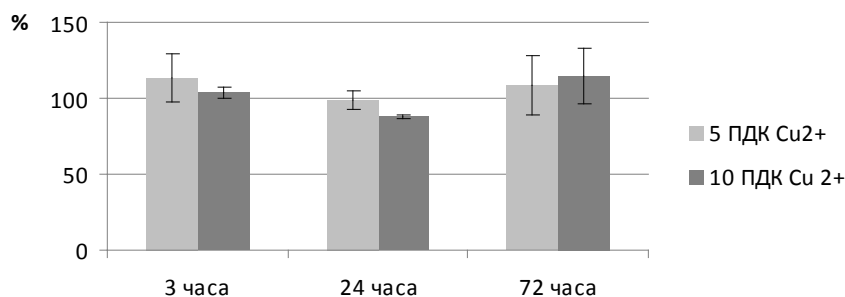


Рис. 3. Влияние ионов меди на содержание МДА в нефридии *R. venosa*: контрольные значения принимали за 100 %

В нефридии моллюсков, находившихся в среде с добавлением ионов меди, усиления перекисного окисления не выявлено: содержание МДА у особей опытных вариантов весь период наблюдений и при разных концентрациях Cu^{2+} достоверно не отличались от контроля (рис. 3).

Восстановленный глутатион, определяемый в качестве маркера состояния АОС, является одним из важнейших неферментативных компонентов антиоксидантной системы. GSH имеет как собственную антиоксидантную активность, так и функционирует в качестве донора водорода для ферментов антиоксидантной системы и поддерживает сульфгидрильные группы функционально важных белков в восстановленном состоянии [7].

Содержание GSH в ктении контрольных групп колебалось от $0,56 \pm 0,04$ до $0,62 \pm 0,06$ нмоль/г ткани, в гепатопанкреасе от $1,05 \pm 0,25$ до $1,20 \pm 0,35$ нмоль/г ткани, в нефридии от $0,22 \pm 0,03$ до $0,24 \pm 0,01$ нмоль/г ткани.

Присутствие в среде 5 ПДК ионов меди приводило к уменьшению содержания GSH в ктении рапан во все сроки экспозиции (рис. 4).

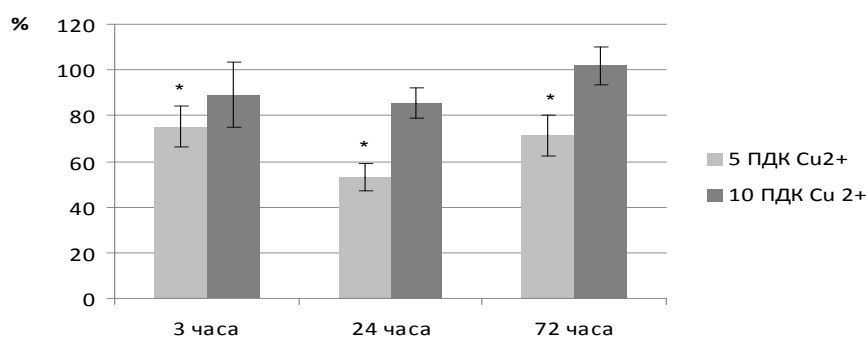


Рис. 4. Влияние ионов меди на содержание восстановленного глутатиона в ктении *R. venosa*: * – достоверное отличие от контроля $P < 0,01$ – $P < 0,05$; контрольные значения принимали за 100 %

Максимальное снижение (в 1,9 раза) отмечается спустя сутки. К 72 часам экспозиции моллюсков в этих условиях уровень данного антиоксиданта в ктенидии стал возрастать, но оставался ниже контроля. В среде с 10 ПДК меди наблюдалась парадоксальная реакция: содержание GSH достоверно не снижалось и находилось на уровне контрольных значений. Это может быть связано или с активацией глутатионредуктазы, восстанавливающей окисленный глутатион, или/и с усилением синтеза данного антиоксиданта за счет других механизмов адаптации.

Влияние меди на содержание восстановленного глутатиона в гепатопанкреасе рапаны наблюдалось только в начале экспозиции моллюсков в среде с токсикантами (рис. 5).

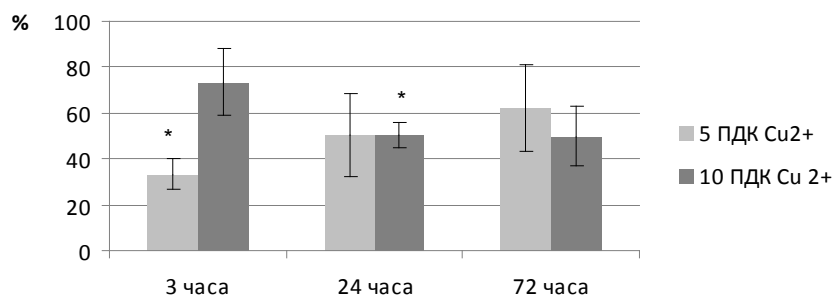


Рис. 5. Влияние ионов меди на содержание восстановленного глутатиона в гепатопанкреасе *R. venosa*: * – достоверное отличие от контроля $P < 0,01 - < 0,05$; контрольные значения принимали за 100 %.

При 5 ПДК ионов меди уровень GSH достоверно снижался только к трем часам, а при концентрации этого тяжелого металла в 10 ПДК – к 24 часам экспозиции. В гепатопанкреасе, как и в ктенидии, отмечалась аналогичная парадоксальная ответная реакция моллюсков на воздействие меди. При более высоких ее дозах изменение происходило позже и в меньшей степени: 5 ПДК меди вызывало понижение уровня GSH в три раза, 10 ПДК – в два. К концу наблюдений медь не оказывала достоверного влияния на содержание восстановленного глутатиона в гепатопанкреасе рапаны.

Влияние ионов меди на содержание восстановленного глутатиона в нефридии отличалось от их влияния на ктенидий и гепатопанкреас (рис. 6). Если в последних наблюдалось снижение содержания GSH, то в нефридии уровень данного антиоксиданта оставался в пределах контроля. Более того, через 24 часа экспозиции в среде с медью количество восстановленного глутатиона в нефридии рапан становилось больше, чем в контрольных условиях. К третьим суткам уровень GSH снижался до контрольных значений, что может свидетельствовать об активном использовании организмом данного антиоксиданта и его истощении.

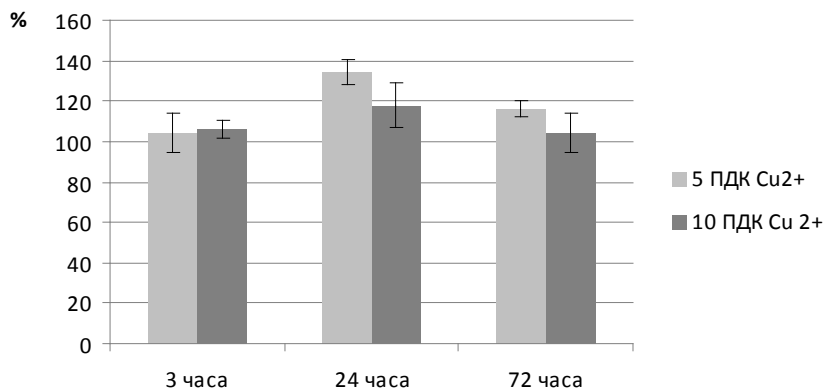


Рис. 6. Влияние ионов меди на содержание восстановленного глутатиона в нефридии *R. venosa*: * – достоверное отличие от контроля $P < 0,05$; контрольные значения принимали за 100 %.

Для контроля над состоянием антиоксидантной системы использовали еще один интегральный показатель – ОАА, который отражает способность организма противодействовать развитию свободнорадикальных реакций. В ктенидии моллюска действие меди на ОАА проявилось только первые 3 часа эксперимента и только при 10 ПДК исследуемого токсического агента. ОАА снижалась в данном случае в 1,36 раза (рис. 7). Через 24 и 72 часа уровень ОАА не отличался от контрольных значений, что может свидетельствовать об адаптации рапаны к присутствию ионов меди в среде обитания.

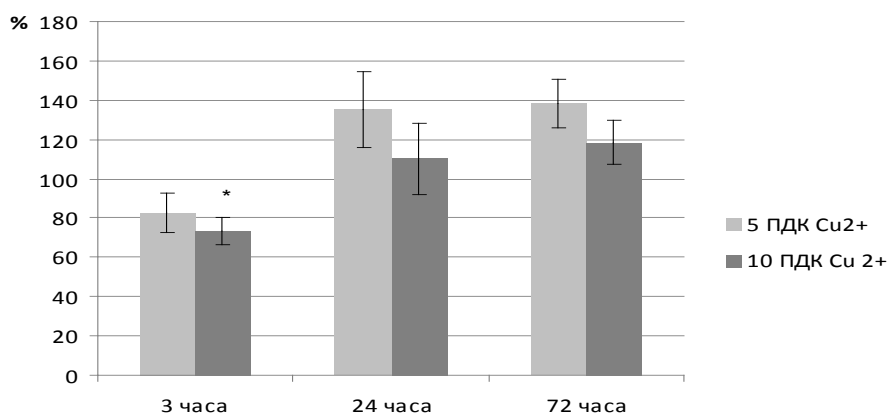


Рис. 7. Влияние ионов меди на общую антиоксидантную активность в ктенидии *R. venosa*: * – достоверное отличие от контроля $P < 0,05$; контрольные значения принимали за 100%.

На рис. 8, 9 представленны данные об уровне ОАА в гепатопанкреасе и нефридие рапаны. Исследования действия меди на ОАА данных органов показали, что они довольно устойчивы к влиянию данного токсического агента. Так, при всех концентрациях (5 и 10 ПДК меди) и различной продолжительности экспозиции (3, 24 и 72 часа) ОАА в этих органах оставалась на уровне контроля.

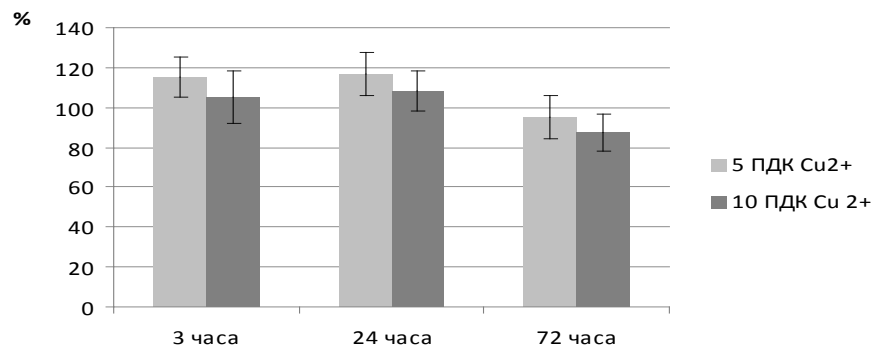


Рис. 8. Влияние ионов меди на общую антиоксидантную активность в гепатопанкреасе *R. vepoza*; контрольные значения принимали за 100 %.

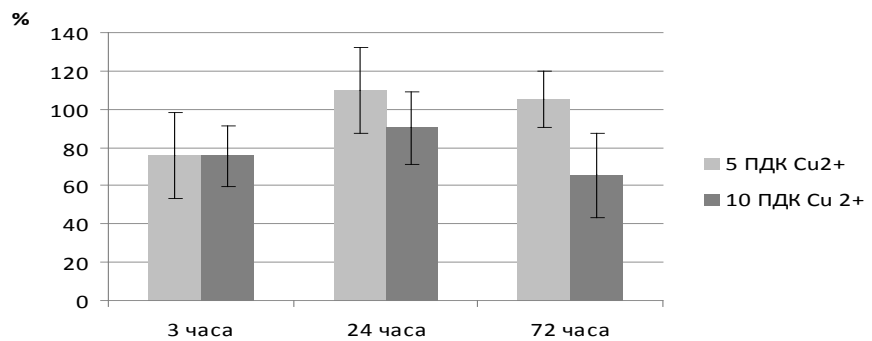


Рис. 9. Влияние ионов меди на состояние общей антиоксидантной активности в нефридии *R. vepoza*; контрольные значения принимали за 100 %.

Суммируя полученные результаты в целом, можно заключить, что антиоксидантная система рапаны довольно устойчива к действию ионов меди. Так, при незначительном увеличении МДА в ктенидии и гепатопанкреасе моллюска под действием 10 ПДК ионов меди, в нефридии подобных изменений не наблюдалось. Содержание GSH под действием меди также изменялось в большей степени в ктенидии, меньше в гепатопанкреасе и совсем незначительно в нефридии. ОАА снижалась под действием ионов меди при 10 ПДК только в ктенидии. В гепатопанкреасе и нефридии данный показатель оставался без изменений. Вероятно, обнаруженные изменения отражают трансформирование

антиоксидантної системи рапаны, которое необходимо для перестройки біохімічних і фізіологічних процесів при адаптації рапаны к условиям среды, содержащей повышенные дозы меди. Об успешности адаптационных изменений свидетельствует то, что уже на третьи сутки параметры антиоксидантної системи не отличались от контрольных значений. Таким образом, можно резюмировать, что антиоксидантная система моллюска довольно устойчива к действию тяжелых металлов и обладает большим адаптационным потенциалом. Полученные результаты являются дополнительным подтверждением многочисленных наблюдений о значительной пластичности и приспособляемости *R. venosa*.

Авторы благодарны заведующему отделом качества водной среды с.н.с. Института морской биологии НАНУ, к.б.н. Дятлову С. Е. за консультацию при планировании эксперимента.

Выводы

1. Медь в концентрации 10 ПДК вызывала временное (в промежутке от 3 до 24 часов) повышение уровня МДА в ктенидии и гепатопанкреасе рапан. Концентрация катионов Cu^{2+} , соответствующая 5 ПДК, не оказывала достоверного влияния на содержание диальдегида в исследуемых органах моллюска. В нефридии уровень МДА оставался стабильным весь период при исследуемых концентрациях меди.

2. Содержание GSH в ктенидии рапан, находившихся в среде с 5 ПДК Cu^{2+} , снижалось в течение всего периода наблюдений. В гепатопанкреасе уровень GSH снижался под действием ионов меди только первые сутки. В нефридии моллюсков достоверных значимых изменений концентрации GSH не наблюдалось.

3. Присутствие в среде ионов меди не оказывало существенного влияния на ОАА во всех исследуемых органах. Только в ктенидии при 10 ПДК меди отмечено временное (к 3 часам) снижение ОАА, которая восстанавливалась уже через сутки нахождения моллюсков в среде с добавлением меди.

4. Антиоксидантная система рапан устойчива к действию меди, характеризуется лабильностью и обладает большим адаптационным потенциалом.

Список использованной литературы

1. Авцын А. П. Микроэлементозы человека / А. П. Авцын // Клиническая медицина. – 1987. – Т. 65, № 6 – С. 36–44.
2. Головина И. Л. Влияние тяжелых металлов на физиолого-биохимический статус рыб и водных беспозвоночных / И. Л. Головина // Биология внутренних вод. – 2008. – № 1. – С. 99–108.
3. Горячковский А. М. Клиническая биохимия. 2-е изд. / А. М. Горячковский. – О.: Астропринт, 1998. – 608 с.
4. Доценко И. В. Оценка осаждения тяжелых металлов черноморской мидией (*Mytilus galloprovincialis* Lam.) в морских акваториях : автореф. дисс. на соискание учен. степени канд. географ. наук : спец. 25.00.23 «Физическая география и биогеография, география почв и геохимия ландшафтов» / И. В. Доценко. – Ростов-на-Дону, 2005. – 25 с.

5. Дятлов С.С. Міжрічна мінливість вмісту важких металів у воді та донних відкладах полігону «Одеський регіон ПЗЧМ» / С. С. Дятлов, О. В. Чепіжко, В. О. Урдя // Екологічна безпека прибережної та шельфової зон та комплексне використання ресурсів шельфу. – 2012. – Т. 1, Вип. 26. – С. 257–268.
6. Звездина Т. Ф. Мутагенное и токсическое действие тяжелых металлов на личинки мидий *Mytilus galloprovincialis* Lam / Т. Ф. Звездина // IV Всесоюз. конф. по промышленным беспозвоночным: Севастополь, апр. 1986. тез. докл. – М., 1986. – С. 222–224.
7. Кения М. В. Роль низкомолекулярных антиоксидантов при окислительном стрессе / М. В. Кения, А. И. Лукаш, Е. П. Гуськов // Успехи соврем. биологии. – 1993. – Т. 113, вып. 4. – С. 456–470.
8. Лось Д. А. Структура, регуляция эксперимента и функционирования десатураз жирных кислот / Д. А. Лось // Успехи биол. химии. – 2001. – Т. 41. – С. 163–198.
9. Методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен) / Учеб. пособие под ред. М. И. Прохоровой. – Л.: Изд-во Ленинградского ун-та, 1982. – 271 с.
10. Миронов О. Г. К вопросу о содержании металлов в черноморских мидиях / О. Г. Миронов, Ю. Л. Ковальчук, Г. И. Крючков // Морская санитарная гидробиология. – Севастополь, 1995. – С. 83–85.
11. Митропольський О. Ю. Екогеохімія Чорного моря / О. Ю. Митропольський, Е. І. Наседкіна, Н. П. Осокіна – К.: Академперіодика, 2006. – 278 с.
12. Нахшина Е. П. Микроэлементы в водохранилищах Днепра / Е. П. Нахшина – К.: Наук. думка, 1983. – 156 с.
13. Озернюк Н. Д. Феноменология и механизмы адаптационных процесов / Н. Д. Озернюк // М.: узд-во МГУ, 2003. – 215 с.
14. Саенко Г. Н. Металлы и галогены в морских организмах / Г. Н. Саенко – М.: Наука, 1993. – 252 с.
15. Северо-западная часть Чорного моря: біологія і екологія / Под ред. Ю. П. Зайцева, Б. Г. Александрова, Г. Г. Миничевой. – К.: Наукова думка, 2006. – 701 с.
16. Смирнова Л. Л. Микроэлементный состав и микрофлора атмосферной взвеси морского побережья г. Севастополя (Черное море) / Л. Л. Смирнова, Н. А. Андреева, Л. В. Салтыкова // Экологія міст та рекреаційних зон: Матеріали всеукр. наук.-практ. конф. 17–18 квітня 2008. – Одеса, 2008. – С. 208–211.
17. Стальная Д. И. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / Д. И. Стальная, Т. Г. Гаришвили // Сб. Современные методы в биохимии. – М.: Медицина, 1977. – С. 66–68.
18. Таможня В. А. Биохимические показатели метаболизма мидий при действии на них токсинов / В. А. Таможня, С. А. Горомосова // Экологія моря. – 1985. – Вып. 16. – С. 64–68.
19. Танеева А. И. Влияние меди на черноморских мидий в лабораторных условиях / А. И. Танеева, Ю. В. Манько // Биология моря, Киев. – 1979. – вып. 48. – С. 92–96.
20. Тоцкий В. Н. Состояние антиоксидантной системы у представителей *Rapana venosa* (VALENCIENNES, 1846), обитающих в разных акваториях одесского залива (Чёрное море) / В. Н. Тоцкий, О. Н. Ершова, В. А. Топтиков, О. А. Ковтун, А. Г. Драгоева, Т. И. Лавренюк // Вестник ОНУ. Біологія – 2013. – Т. 18, Вип. 1(30) – С. 7–19.
21. Христофорова Н. К. Биоиндикация и мониторинг загрязнения морских вод тяжелыми металлами / Н. К. Христофорова // ДВО АН СССР. – Л.: Наука, 1989. – 192 с.
22. Чухрин В. Д. Функциональная морфология рапаны / В. Д. Чухрин. – К.: Наукова думка, 1970. – 138 с.
23. Ярославцева Л. М. Влияние ионов меди на ранние стадии развития тихоокеанской мидии *Mytilus trossulus* (Bivalvia) / Л. М. Ярославцева, Э. П. Сергеева // Биология моря. – 2005. – Т. 31, № 4. – С. 267–273.
24. Grousset F. E. Anthropogenic vs. lithogenic origins of trace elements (As, Cd, Pb, Rb, Sb, Sn, Zn) in water column particles: Northwestern Mediterranean Sea / F. E. Grousset, C. R. Quétel, B. Thomas et al // Mar. Chem. – 1995. – Vol. 48, № 3–4. – P. 291–310.
25. Kozelka P. B. Chemical speciation of dissolved Cu, Zn, Cd, Pb in Narragansett Bay Rhode Island / P. B. Kozelka, K. W. Bruland // Mar. Chem. – 1973. – Vol. 60. – P. 267–82.
26. Unsal M. A preliminary study on the metal content of mussels, *Mytilus galloprovincialis* Lam. in eastern Black Sea / M. Unsal, S. Besiktepe // Zoology. – 1994. – Vol. 18. – P. 265–271.

Стаття поступила в редакцію 28.08.16

**О. Н. Єршова, В. М. Тоцький, В. А. Топтіков, Т. І. Лавренюк,
О. А. Ковтун**

Одеський національний університет імені І. І. Мечникова,
кафедра генетики та молекулярної біології,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65082, Україна, e-mail: ershova_ok@mail.ru

АНТИОКСИДАНТНИЙ СТАТУС ТКАНИН РАПАНИ В УМОВАХ СТРЕСУ, ВИКЛИКАНОГО ІОНАМИ МІДІ

Вивчали стан антиоксидантної системи в ктенідії, гепатопанкреасі і нефридії червоногого молюска *Rapana venosa*, в умовах стресу, викликаного іонами міді. Експериментальних тварин містили 3, 24 і 72 години в акваріумах з морською водою з додаванням CuSO_4 у концентрації 5 і 10 ГДК. Визначали загальну антиоксидантну активність (ЗАА) і вміст відновленого глутатіону (GSH). Ступінь окиснювального пошкодження біополімерів оцінювали за рівнем малонового діальдегіду (МДА). Показано, що іони міді приводили до збільшення кількості МДА, а також до зниження вмісту GSH в ктенідії і гепатопанкреасі молюска. У нефридіях подібних змін не виявлено. У присутності міді ЗАА слабшала в ктенідії. У нефридії і гепатопанкреасі даний показник залишався без змін. Зміни антиоксидантного статусу тканин рапани відзначалися головним чином в перші години (3 і 24) впливу міді. До 3 діб досліджувані показники антиоксидантної системи здебільшого не відрізнялися від контрольних значень. Зроблено висновок, що антиоксидантна система рапани стійка до дії міді та має великий адаптаційний потенціал.

Ключові слова: *Rapana venosa*, мідь, антиоксидантна система.

О. М. Ershova, V. M. Totskyi, V. A. Topnikov, T. I. Lavreniuk, O. A. Kovtun

Odesa National Mechnykov University, Department of Genetics
and Molecular Biology,
2, Dvoryanska str., Odesa 65082, Ukraine, e-mail: ershova_ok@mail.ru

ANTIOXIDANT STATUS OF RAPANA TISSUES UNDER STRESS CAUSED BY COPPER IONS

Abstract

Rapana venosa is widely spread in the world's oceans and has adapted well to the conditions of different pollution. The study of adaptation options of *Rapana* was the purpose of this work. We studied the antioxidant system in ctenidium, hepatopancreas and Nephridia gastropod under stress caused by copper ions. The experimental animals were kept for 3, 24 and 72 hours in aquariums with sea water with addition of CuSO_4 at 5 and 10 maximum permissible concentrations (MPC). We determined the total antioxidant activity (TAA) and the content of reduced glutathione (GSH). The degree of oxidative damage to biopolymers was evaluated by the level of malondialdehyde (MDA). It was shown that copper ions lead to an increase in MDA and a decrease in the GSH content in ctenidium and hepatopancreas of mollusks. No

similar changes were identified in Nephridia. Presence of copper reduced the TAA in ctenidium only the first 3 hours of exposure. TAA in Nephridia hepatopancreas remained at the control level. Changes of tissue antioxidant status of rapana were observed mainly the first few hours (3 and 24) of exposure to copper. For 3 days the studied parameters of antioxidant system mostly did not differ from the control values. It is concluded that the antioxidant system of rapana is resistant to copper and has a great adaptive capacity.

Keywords: *Rapana venosa*, copper, antioxidant system.

References

1. Автсун АР (1987) "Microelementoses man" ["Mikroelementozy heloveka"], Clinical medicine, T. 65, № 6, pp 36–44.
2. Golovina IL (2008) "Influence of heavy metals on the physiological and biochemical status of fish and aquatic invertebrates" ["Vliyaniye tiazholih metallov na fiziologo-biohimiheckiy status ryb i vodnih bespozvonochnih"], Biology of inland waters, № 1, pp 99–108.
3. Goryachkovsky AM (1998) Clinical Biochemistry [Klinicheskaya biohimiya 2nd ed.], Astroprint, 608 p.
4. Dotsenko IV (2005) Assessment of heavy metal deposition of the Black Sea mussel (*Mytilus galloprovincialis* Lam.) in marine waters: abstract. diss. on scientific. PhD degree. geographic sciences: spec. 25.00.23 [Otsenka osazhdeniya tyazholih metallov chernomorskoy midii (*Mytilus galloprovincialis* Lam.) v morskikh akvatoriyah : avtoreferat disertatsii na soiskanie uchonoj stepeni kand. geograf. nauk : spec. 25.00.23], Rostov-on-Donu, 25 p.
5. Dyatlov SE, Chepizhko OV, Urdia VO (2012) "The interannual variability of heavy metals in water and sediments landfill «Odessa region NWBS»" ["Mizhrichna minlivist vmistu vazhkih metaliv u vodi ta donnih vidkladah poligonu "Odessa region NWBS"], Ecological safety of coastal and shelf zones and complex use of shelf resources. Issue 26, Vol. 1, pp 257-268.
6. Zvezdina TF (1986) «Mutagenic and toxic effects of heavy metals on the larvae of mussels *Mytilus galloprovincialis* Lam» IV All-Union. Conf. for commercial invertebrates ["Mutagennoe i toksicheskoe deystvie tiazholih metallov na lichinky midiy *Mytilus galloprovincialis* Lam» IV Vsesoiuznaya konf. po promislomim bespozvonochnim], Sevastopol, abstracts, Moscow, p 222-224.
7. Kenya MV, Lukash AI, Gussykov EP (1993) "The role of low molecular weight antioxidants in oxidative stress" ["Rol nizkomolekulyarnyh antioksidantov pri oksislitel'nom stresse"], Successes of modern biology, T. 113, ed. 4, pp 456-470.
8. Losy DA (2001) "The structure, the experiment regulation and functioning of the fatty acid desaturase" ["Struktura, regulyaciya ecsperimenta i funkcionirovaniya desaturaz zhirnih kislot"], Successes biologist. Chemistry, T. 41, pp 163–198.
9. Prohorova MI (1982) Methods of biochemical research (lipid and energy metabolism) [Metody biohimicheskikh issledovaniy (lipidniy i energeticheskij obmen)], L.: Publishing House of Leningrad University Press, 271 p.
10. Mironov OG, Kovalchuk YuL, Kryuchkov GI (1995) "On the question of the content of metals in the Black Sea mussels" ["K voprosu o sodержanii metallov v chernomorskikh midiyah"], Marine Sanitary Hydrobiology: Sevastopol, pp 83–85.
11. Mitropolsky OYu, Nasedkina EI, Osokina NP (2006) Ekogeohimiya Black Sea [Ekogeohimiya Chornogo morya], K: Akadempriodika, 278 p.
12. Nahshina EP (1983) Trace elements in the reservoirs of the Dnieper [Mikroelementy v vodohranilishchah Dnepra], K.: Scientific thought, 156 p.
13. Ozernyuk ND (2003) Phenomenology and mechanisms of adaptation processes owls [Fenomenologiya i mehanizmy adaptatsionnyh processov], M.: reins of Moscow State University, 215 p.
14. Saenko GN (1993) Metals and halogens in marine organisms [Metalli i galogeni v morskikh organizmah], M.: Nauka, 252 p.
15. Zaytsev YuP, Aleksandrov BG, Minicheva GG (2006) North-western part of the Black Sea: biologiya and ekologiya [Severo-zapadnaya chasty Chornogo morya: biologiya i ekologiya], K.: Naukova dumka, 701 p.
16. Smirnova LL, Andreeva NA, Saltikova LV (2008) «Trace element composition of the microflora and atmospheric suspension seaside city of Sevastopol (Black Sea)» Urban ecology and recreational areas: Materials vseukr. nauk.-Pract. Conf. 17 – 18 kvitnya [«Mikroelementniy sostav i mikroflora atmosfernoy vzvesi morsk-

- ogo poberezhniya g. Sevastopolya (Chornoe more)», Ekologiya mist ta rekreaciynih zon: Materialy vseuk.-prakt. konf. 17-18 kvitnya], Odessa, pp 208-211.
17. Stalynaya DI, Garishvili TG (1977) «Method for determination of malondialdehyde via thiobarbituric acid» [«Metod opredeleniya malonovogo dialdegida s pomoshchyu tiobarbiturovoy kisloti»] Sat. Modern methods in biochemistry, M.: Medicine, pp 66-68.
 18. Tamozhnyaya VA, Goromosova SA (1985) «Biochemical indicators of metabolic mussels under the action of toxins» [«Biohimicheskie pokazateli metabolizma midiy pri deystvii na nih toksinov»], Ecology of the sea, Vol. 16, pp 64-68.
 19. Taneeva A.I., Manko YU.V. (1979) «Effect of copper on the Black Sea mussels in laboratory conditions» [«Vliyaniye medi na chernomorskih midiy v laboratornih usloviyah»] Marine Biology, Kiev, Vol. 48, pp 92-96.
 20. Totkiy VN, Ershova ON, Toptikov VA, Kovtun OA, Dragoeva AG, Lavrenyuk TI (2013) «Status of the antioxidant system in representatives of *Rapana venosa* (VALENCIENNES, 1846) living in different waters of the Odessa Bay (Black Sea)» [«Sostoyaniye antioksidantnoy sistemy u predstaviteley *Rapana venosa* (VALENCIENNES, 1846), obitayushchih v raznih akvatoriyah Odesskogo zaliva (Chornoe more)»] Vestnik ONU, Biologiya, T. 18, № 1 (30), pp 7–19.
 21. Hristoforova NK (1989) Bioindication and monitoring of marine pollution by heavy metals [Bioindikatsiya i monitoring zagryazneniya morskikh vod tyazholimi metalami], FEB USSR Academy of Sciences, L.: Nauka, 192 p.
 22. Chuhryn VD (1970) Functional morphology of brine [Funktsionalnaya morfologiya rapani], K.: Naukova dumka, 138 p.
 23. Yaroslavtseva LM, Sergeeva EP (2005) «Influence of copper ions in the early stages of the development of the Pacific mussel *Mytilus trossulus* (Bivalvia)» [«Vliyaniye ionov medi na rannie stadii razvitiya tihookeanskoj midii *Mytilus trossulus* (Bivalvia)»], Marine Biology, Vol 31, № 4, pp 267–273.
 24. Grousset FE, Quétel CR, Thomas B (1995) «Anthropogenic vs. lithogenic origins of trace elements (As, Cd, Pb, Rb, Sb, Sn, Zn) in water column particles: Northwestern Mediterranean Sea», Mar. Chem, Vol. 48, № 3-4, pp 291–310.
 25. Kozelka PB, Bruland KW (1973) «Chemical speciation of dissolved Cu, Zn, Cd, Pb in Narragansett Bay Rhode Island» Mar. Chem., Vol. 60, pp 267–82.
 26. Unsal M, Besiktepe S (1994) A preliminary study on the metal content of mussels, *Mytilus galloprovincialis* Lam. in eastern Black Sea, Zoology, Vol. 18, pp 265–271.