

91
МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ УКРАИНЫ
ХАРЬКОВСКИЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

На правах рукописи

РУДНЕВА-ТИТОВА ИРИНА ИВАНОВА

**АНТИОКСИДАНТНЫЕ СИСТЕМЫ МОРСКИХ ЖИВОТНЫХ В ПРОЦЕССЕ ИХ
ЭВОЛЮЦИИ, ОНТОГЕНЕЗА И ПРИ ДЕЙСТВИИ АНТРОПОГЕННЫХ ФАКТОРОВ**

03.00.04 - биохимия

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
доктора биологических наук

Харьков 1994 г.

Диссертация является рукописью

Работа выполнена в Институте биологии южных морей им. А. О. Ковалевского НАН Украины

Официальные оппоненты:

Доктор медицинских наук, академик Российской Академии Медицинских наук, профессор Васильев Николай Владимирович
Доктор биологических наук, профессор Калиман Павел Александрович

Доктор медицинских наук, профессор Жуков Виктор Иванович

Ведущая организация - Институт биохимии им. А. В. Палладина
Национальный университет имени Шевченко

Защита диссертации состоялась 12 мая 1996 г.
в 14 час. в заседании Совета по биохимии Днепропетровского университета
по адресу: Днепропетровск, ул. Гоголя, 10

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Харьковского медицинского университета

Автор

ученый
ученый
кандидат

А. Жубрикова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

АКТУАЛЬНОСТЬ ПРОБЛЕМЫ. Значение исследования прооксидантно-антиоксидантной системы живых объектов основано на ее важной роли в регуляции биологических процессов, связанных с поддержанием структурно-функционального состояния мембран, активности ферментов, участием в пролиферации, синтезе различных биологически активных соединений и, в конечном итоге, в обеспечении нормального метаболизма клеток в различных, в том числе стрессовых ситуациях (Эмануэль Н. М., 1961, Тарусов В. Н., 1954, Бурлакова Е. Б., 1988). В настоящее время изучению антиоксидантных систем морских организмов уделяется особое внимание, так как полученная информация позволяет решить ряд проблем, связанных с зарождением и развитием аэробной жизни на Земле, а также понять общие механизмы неспецифической адаптации организмов к изменяющимся условиям среды обитания. Баланс между интенсивностью процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и антиокислительной активностью (АОА) отражает адаптационные возможности и, следовательно, приспособленность живых существ к различным неблагоприятным факторам среды (Барабой В. А., 1991; Winston G., 1991). Последнее обстоятельство имеет наибольшее значение, так как антропогенное воздействие на окружающую среду достигло глобальных размеров и в ряде случаев носит катастрофический характер. Выживание организмов, их нормальное функционирование и устойчивость к последствиям антропогенного стресса в этой ситуации во многом зависит от состояния неспецифической системы защиты и, прежде всего, антиоксидантной. Нарушение баланса $АОА \rightleftharpoons ПОЛ$ приводит к патологическим отклонениям в развитии, деструкции молекулярных и клеточных систем, мутагенезу, канцерогенезу и к гибели организмов (Тинсли И., 1982; Тиунов Л. А., 1991; Parke D. V., 1991).

Все сказанное дает основание считать, что компоненты прооксидантно-антиоксидантной системы, характеризующие адаптаци-

онный потенциал морских животных, эволюционировали как единое целое, отражающее становление механизмов регуляции отношений организм-среда.

Исследования, проведенные ранее, имеют ряд существенных недостатков:

- отсутствие единого методического подхода не позволяет представить целостную картину формирования системы АОА \rightleftharpoons ПОЛ у морских животных;

- отсутствуют данные о становлении системы АОА \rightleftharpoons ПОЛ в эмбриогенезе гидробионтов, ограничены сведения об эволюции этой системы в филогенезе морских животных;

- изучение ответной реакции системы АОА \rightleftharpoons ПОЛ на действие неблагоприятных факторов проводилось без учета экологических и биологических особенностей исследуемых видов, что не позволяло сравнить степень устойчивости гидробионтов к внешним воздействиям.

Не умаляя значения этих работ (Winston G., 1991; Winston G., Di Giulio R.T., 1991), следует отметить, что они не отражают полной картины становления прооксидантно-антиоксидантной системы у морских организмов, а также общей и специфической реакции их в ответ на все усиливающееся действие антропогенных факторов.

Кроме того, анализ состава и содержания антиоксидантов у различных групп морских организмов представляет самостоятельный интерес, так как они обладают ценнейшими компонентами, которые могут быть использованы в качестве сырья для получения фармакологических препаратов, применяемых для лечения патологий человека и животных (Ажгихин И.С. и др., 1982).

Оценка устойчивости видов, их пластичности по основным показателям ПОЛ и АОА позволяет получить ценную информацию для решения аквакультурных проблем, связанных с возможностью искусственного выращивания гидробионтов с целью получения как биомассы, богатой белком, так и биологически активных соединений.

ЦЕЛИ И ЗАДАЧИ РАБОТЫ. Целью настоящей работы явилось изучение формирования прооксидантно-антиоксидантной системы в процессе фило- и онтогенеза морских животных, а также ответной реакции этой системы на действие различных неблагоприятных факторов. Для выполнения поставленной цели необходимо было решить следующие задачи:

- определить единый методический подход и выбрать параметры, наиболее полно характеризующие состояние прооксидантно-антиоксидантной системы гидробионтов;

- с помощью этих параметров изучить становление прооксидантно-антиоксидантной системы в эмбриогенезе различных таксономических групп морских животных;

- с помощью выбранных параметров охарактеризовать состояние прооксидантно-антиоксидантной системы в органах и тканях различных видов гидробионтов, принадлежащих как к разным таксонам, так и отличающихся своей биологией;

- изучить изменение показателей прооксидантно-антиоксидантной системы гидробионтов, относящихся к различным таксонам и находящихся на разных стадиях онтогенеза, при действии на них неблагоприятных факторов, моделирующих антропогенное воздействие.

Решение поставленных задач позволит оценить физиолого-биохимические механизмы адаптаций и устойчивости морских организмов к усиливающемуся антропогенному влиянию.

НАУЧНАЯ НОВИЗНА. Впервые с помощью комплексных методов физико-химического анализа изучены процессы формирования прооксидантно-антиоксидантной системы в ходе раннего онтогенеза представителей различных систематических групп морских организмов: моллюсков, ракообразных и рыб (костистых и хрящевых). Выявлены общие тенденции и специфические черты становления защитной антиоксидантной системы в эмбриогенезе исследуемых видов морских беспозвоночных и рыб, а также зависимость этого процесса от морфологических и экологических особенностей икры.

На основании проведенных исследований установлены физиолого-биохимические механизмы, лежащие в основе адаптации икры гидробионтов к условиям существования. Рассчитаны коэффициенты корреляции между всеми исследованными параметрами антиоксидательной активности и перекисного окисления липидов в развивающейся икре моллюсков, ракообразных и рыб.

Впервые проведен сравнительный анализ соотношения системы $AOA \rightleftharpoons ПОЛ$ в органах и тканях морских организмов, включающих два вида моллюсков, три вида ракообразных и восемнадцать видов рыб (один представитель хрящевых и семнадцать представителей костистых). Установлены особенности соотношения антиоксидательной активности и перекисного окисления липидов в тканях и органах исследуемых видов, зависящие от липидного состава ткани, физиологического состояния организма, его филогенетического положения и экологических особенностей. Обнаружены компенсаторные механизмы антиоксидантной защиты у морских организмов, обладающих недостаточно развитой антиоксидантной ферментной системой.

Исследованы неспецифические реакции прооксидантно-антиоксидантной системы морских организмов, находящихся на разных стадиях онтогенеза, в ответ на действие антропогенных факторов (тяжелых металлов, нефтепродуктов, полихлорированных бифенилов и ионизирующих излучений). Показана универсальность ответной реакции антиоксидантной системы на любое воздействие, выражающаяся в увеличении содержания металлопротеидов и снижении концентрации тиоловых соединений, изменении активности антиоксидантных ферментов и содержания продуктов ПОЛ, истощении запасов низкомолекулярных антиоксидантов, нарушении соотношений липидных компонентов в тканях и органах гидробионтов. Характер ответной реакции со стороны прооксидантно-антиоксидантной системы морских организмов на антропогенное воздействие зависит от вида и концентрации фактора, тестируемой ткани, видовой принадлежности организма. Установлено, что при усилении

неблагоприятных воздействий происходит увеличение значений коэффициентов корреляций между всеми исследованными показателями прооксидантно-антиоксидантной системы, что является следствием мобилизации защитных механизмов для повышения устойчивости гидробионтов в экстремальных условиях среды.

ОСНОВНЫЕ ПОЛОЖЕНИЯ, ВЫНОСИМЫЕ НА ЗАЩИТУ. На основании проведенных экспериментальных исследований и их анализа на защиту выносятся следующие положения:

- формирование прооксидантно-антиоксидантной системы морских животных происходит на ранних стадиях эмбриогенеза и зависит от филогенетических, морфологических и экологических особенностей таксона;

- ответная реакция прооксидантно-антиоксидантной системы морских животных на любое неблагоприятное воздействие носит универсальный неспецифический характер и направлена на поддержание баланса $AOA \rightleftharpoons ПОЛ$, присущего данному таксону.

ТЕОРЕТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ РАБОТЫ. Результаты проведенных исследований позволили получить существенную информацию, способствующую раскрытию основных направлений формирования в процессе онто- и филогенеза морских организмов универсальной защитной системы - антиоксидантной, что вносит вклад в решение одной из фундаментальных проблем эволюции, связанной с становлением и развитием аэробной жизни на Земле. Обнаруженные реакции прооксидантно-антиоксидантной системы различных систематических групп морских организмов, находящихся на разных стадиях онтогенеза, на действие биотических, абиотических и антропогенных факторов может внести вклад в развитие и обоснование теории устойчивости организмов к изменяющимся условиям окружающей среды.

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ РАБОТЫ. Полученные данные могут быть использованы для оценки устойчивости гидробионтов с помощью параметров прооксидантно-антиоксидантной системы в условиях постоянно усиливающегося загрязнения водоемов в результа-

те хозяйственной деятельности человека. Это может способствовать решению практических задач, направленных на разработку экологически допустимых норм антропогенного воздействия на акватории, экологического нормирования содержания ксенобиотиков в биосфере. Применяемые параметры оценки состояния организма по показателям системы $AOA \rightleftharpoons ПОЛ$ могут быть применены в качестве маркеров в мониторинговых исследованиях морских водоемов. Информация о качественном и количественном составе антиоксидантов, содержащихся в органах и тканях различных гидробионтов, может быть полезна для разработки критериев использования морских организмов в качестве сырья для получения фармакологических препаратов, обладающих антиокислительными свойствами и применяемых для лечения патологий человека и животных. Учитывая современное состояние аквакультуры, поиск видов, содержащих значительные концентрации антиоксидантов и являющихся при этом достаточно пластичными (артемия, мидии), что позволяет выращивать их на морских плантациях и в искусственных условиях, полученные результаты могут быть использованы для разработки принципов технологии культивирования и переработки продукции аквакультурных предприятий.

ВНЕДРЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЙ. Параметры оценки состояния прооксидантно-антиоксидантной системы гидробионтов (фракционный состав металлопротеидов, содержание тиоловых соединений, активность каталазы, супероксиддисмутазы и липоксигеназы) используются в проведении мониторинговых исследований состояния гидробионтов в условиях усиления загрязнения Севастопольской бухты. Способ культивирования артемии и получения биологически активных веществ из выращенной биомассы применяется в аквакультуре.

АПРОБАЦИЯ РАБОТЫ. Основные положения и материалы диссертации были представлены и доложены на 3-ем Украинском биохимическом съезде (Донецк, 1977), на 2-й Всесоюзной конференции по морской биологии (Владивосток, 1982), на Научно-практической

конференции, посвященной 200-летию города-героя Севастополя (Севастополь, 1983), на Всесоюзной конференции по действию малых доз ионизирующих излучений (Севастополь, 1984), на 4-ом Международном симпозиуме по гомогенному катализу (Ленинград, 1984), на Всесоюзном совещании "Механизмы действия ионизирующих излучений на структуру и функции белков" (Львов, 1986), на 2-ом Советско-французском колоквиуме по продукции экосистем (Ялта, 1984), на конференции Украинского филиала Всесоюзного гидробиологического общества (Киев, 1987), на 1-й Всесоюзной конференции по альгологии (Киев, 1987), на международном симпозиуме по проблемам марикультуры в соц. странах (Москва, 1989), на конференции по раннему онтогенезу рыб (Астрахань, 1991), на Всесоюзном совещании по рыбохозяйственной токсикологии (Санкт-Петербург, 1991), на 7-х международных тренинг-курсах по культивированию личинок рыб и артемии (Гент, Бельгия, 1993), на заседаниях Крымского и Харьковского отделений Украинского биохимического общества (ноябрь, 1994 г.).

ПУБЛИКАЦИИ. По теме диссертации опубликовано 36 работ, в том числе одна монография.

ОБЪЕМ И СТРУКТУРА ДИССЕРТАЦИИ. Работа изложена на 357 страницах машинописного текста, содержит 49 рисунков и 43 таблицы. Диссертация состоит из введения, обзора литературы и экспериментальной части, в которой приводится описание материалов и методов исследования, результатов исследований (три раздела), их обсуждения, заключения, выводов и списка литературы, насчитывающего 413 источников, из которых 173 иностранных.

Все экспериментальные исследования, обработка результатов и их анализ выполнены лично автором. Автор выражает благодарность докторам биологических наук Л.С. Овен, Г.Е. Шульману, С.Н. Борисенко, С.Э. Шабанову за ценные замечания, высказанные по работе, доктору П. Соргелоссу, руководителю Референтного Центра "Артемия" (г. Гент, Бельгия) и сотруднику Центра Ж. Ван Стаппену за советы при обсуждении результатов по артемии, а

также научным сотрудникам Ю. А. Уссу, Ю. П. Копытову и кандидату биологических наук Н. В. Жерко за методическую помощь, аспиранту Т. Л. Чесалиной за проведение совместных экспериментов по изучению действия ксенобиотиков на икру рыб.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Объектами исследования служили представители различных систематических групп морских организмов, обитающих в Черном море: моллюски (мидии и устрицы), ракообразные (идотеи, креветки и артемии), а также рыбы (акула-катран, мерланг, ставрида, смарида, барабуля, зеленушка, рябчик, морской дракон, бычки, собачки, скорпена, камбала калкан и камбала глосса), отловленные в период 80-90-х годов в акватории г. Севастополя. У беспозвоночных исследованию подвергали мягкие ткани и икру, у рыб - кровь, сыворотку крови, мышцы, печень, гонады и икру. Всего исследовано 23 вида гидробионтов Черного моря.

Биохимические методы исследования тканевых экстрактов

Органы и ткани гидробионтов, а также икру промывали холодным 0,85%-ным раствором хлорида натрия и гомогенизировали полученные образцы при температуре $0 \pm 4^\circ \text{C}$. Гомогенаты центрифугировали при 3500-4500 об/мин в течение 15-30 минут при той же температуре. Сыворотку крови отделяли путем отстаивания на холоду и последующего центрифугирования, гемолизаты эритроцитов получали по методу Троицкой О. В. (1977).

В супернатантах определяли активность ферментов: липоксигеназы по реакции с раствором каротина (Борисова И. Г. и др., 1980), супероксиддисмутазы, используя систему NADP-ФМС-НОТ (Nishikimi M. et al. 1972), пероксидазы - по реакции с бензи-

дином (Литвин Ф. Ф., 1972), глутатионредуктазы (Переслегина И. А., 1989) и каталазы - по реакции разложения перекиси водорода (Асатиани В. С., 1969). Содержание глутатиона анализировали спектрофотометрическим методом с помощью аллоксанового реактива (Путилина Ф. Е., 1982), сульфгидрильных групп - по методу Фоломеева В. Ф. (1981).

Белковый состав экстрактов тканей и сыворотки крови устанавливали методом электрофореза в 7%-ном полиакриламидном геле (Davis B. J., 1964) и на ацетатцеллюлозных пленках (Троицкая О. В., 1977). Окрашивание электрофореграмм на общие белки проводили 0,5%-ным раствором Кумасси G-250 (Маурер Г., 1971). Детекцию липопротеидов осуществляли по методу Ressler N. et al. (1961) с суданом черным В, железосодержащих компонентов - по методу Clark A. et al. (1964) с бензидином, медьсодержащих белков - реакцией с дианизином (Owen J. A., Smith H., 1961). Стандартные электрофоретические спектры (ЭФ-спектры) белков и белковых комплексов рассчитывали по коэффициенту относительной электрофоретической подвижности (Соркина Д. А., Руднева И. И., 1975), коэффициент подобия ЭФ-спектров устанавливали по Ромодановой Э. А. и Львовой Е. Ю. (1993). Количественную оценку фракций белков и белковых комплексов проводили путем сканирования электрофореграмм на денситометре фирмы Carl Zeiss (Германия).

Липиды экстрагировали смесью гексан:изопропанол в соотношении 2:1 на холоду, содержание определяли гравиметрическим методом (Верболович В. П. и др., 1989). Фракционный состав липидов исследовали методом тонкослойной хроматографии на пластинах Silufol (Копытов Ю. П., 1983). Содержание активных продуктов тиобарбитуровой кислоты (ТБК-активных продуктов) определяли непосредственно в липидах (Стальная И. Д., Гаришвили Т. Г., 1977), концентрацию гидроперекисей - по реакции восстановления иода (Каган В. Е. и др., 1986). УФ-спектры и спектры возбуждения флуоресценции анализировали на спектрофотометре

Spectord M-40 (фирма Carl Zeiss, Германия). На основании УФ-спектров рассчитывали индекс окисленности липидов как отношение коэффициента экстинкции при 232 нм к 215 нм, содержание диеновых конъюгатов (Стальная И. Д., 1977) и кетодиенов как отношение коэффициентов экстинкции при 270 нм и 215 нм. Содержание витамина А и каротиноидов определяли по Карнаухову В. Н. и Федорову Г. Г. (1982), витаминов Е и К - по Филипповичу Ю. В. и др., (1976). Анализ общей антиоксидантной активности липидов проводили хемилюминесцентным методом (Бурлакова Е. В. и др., 1989) на приборе Luminoskan (Финляндия). Содержание полихлорированных бифенилов (ПХБ) в пробах осуществляли путем экстракции тканей в гексане и последующего анализа на газовом хроматографе с детектором электронного захвата фирмы Janako (Клисенко М. А., Александрова Г. Л., 1983).

Токсикологические эксперименты

Действие ПХБ на рыб изучали на барабуле и скорпене. Рыб выдерживали после отлова в морской воде в течение 2-3-х суток, затем переносили в аквариумы с аэрацией. В один аквариум добавляли препарат Арохлор 1254 в концентрации 5000 нг/л, тогда как другой был контрольным. Время экспозиции составило 24 часа при температуре 21°С и искусственной аэрации. Сравнение результатов проводили, анализируя данные, полученные для рыб, находящихся в протоке (проток), в аэрируемом аквариуме (аквариум) и в аэрируемом аквариуме, содержащем ПХБ (опыт). В каждом случае исследовали 10-16 особей.

Действие хлорида ртути в концентрации 0.1, 1.0 и 10.0 мкг/л изучали на икре бычка-кругляка, находящейся на III стадии развития. Время экспозиции составило 24 часа. Прямое и непрямое действие тяжелых нефтяных фракций изучали на икре желто-красной собачки и бычка-кругляка. В пустые створки мидий, смазанные выветренными нефтяными остатками, помещали икру рыб

и оставляли в аквариуме с проточной морской водой (прямое действие нефти). В этот же аквариум помещали чистые створки мидий с икрой рыб (непрямое действие нефти). Контролем служила икра в чистых створках мидий в другом аквариуме с проточной морской водой. Эксперименты проводили в 3-4-х повторностях при температуре +12°С.

Действие мазута и соляра изучали на икре бычка-кругляка, бычка-цулика, собачки-павлина, собачки желто-красной и камбалы-калкана, находящихся на разных стадиях развития, а также на выклюнувшихся личинках. Токсиканты в концентрации от 0.000001 до 5 мл/л вносили в аэрируемые аквариумы с морской водой при температуре +12°С, куда помещали икру. В аналогичных условиях, но без токсикантов, содержали контрольную икру. Пробы в количестве 50 икринок на разных стадиях развития и личинок отбирали для биохимических исследований.

Радиобиологические эксперименты

Исследование действия гамма-облучения на морские организмы проводили на гамма-установке "Исследователь" (Cs 137, мощность дозы 0.04 Гр/сек).

Мидий, идотей и рыб (бычок-кругляк), отловленных в море, сутки выдерживали в аквариумах с проточной морской водой, после чего подвергали облучению дозой 2 Гр. Аналогичные манипуляции (но без облучения) проводили с контрольными особями. Анализ металлопротеидов тканей проводили через 1, 3, 5, 7, 10, 20 и 30 суток после облучения.

Яйца креветок, полученные от взрослых особей, облучали дозами 1.25, 2.25, 3.50 и 4.50 Гр. Для анализа использовали суммарные образцы, полученные от 6-7 особей.

Покоящиеся цисты артемии облучали дозами 1, 4.2, 9, 20, 193 и 3457 Гр, после чего гидратировали, получали науплиев (Sorgeloos P., 1980) и подращивали их до взрослых особей.

Анализировали процент выклева, выживаемость и соотношение полов, параметры антиокислительной активности и перекисного окисления липидов. Проводили статистическую обработку результатов, вычисляли $M \pm m$, достоверность различий, корреляционный анализ.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

1. Формирование антиоксидантной системы на ранних стадиях развития морских организмов

Исследование прооксидантно-антиоксидантной системы проводили на яйцах мидий, яйцах и личинках ракообразных, икре и личинках рыб. Активность "прооксиданта" липоксигеназы и антиоксидантных ферментов супероксиддисмутазы, каталазы, пероксидазы и глутатионредуктазы обнаружена на ранних стадиях эмбриогенеза беспозвоночных (табл. 1) и рыб (рис. 1).

На ранних стадиях эмбриогенеза активность ферментов достаточно низкая в икре беспозвоночных и рыб, однако в ходе развития эти показатели варьируют, имеют тенденцию к увеличению к концу эмбрионального периода. У вылупившихся личинок активность "прооксиданта" липоксигеназы и антиоксидантных ферментов резко возрастает, что, по-видимому, является следствием усиления синтеза этих белков в развивающемся организме. Обнаружены видовые особенности проявления активности исследуемых ферментов у гидробионтов: показатели яиц креветки выше, чем в цистах артемии, в яйцах акулы-катрана активность каталазы значительно ниже по сравнению с соответствующими значениями икры костистых рыб.

Коэффициент корреляции между показателями активности ферментов в яйцах исследуемых видов заключен в пределах $0.39 < r < 0.59$, что свидетельствует о существовании различий в формировании антиоксидантной ферментной системы в раннем онто-

генезе морских организмов.

Таблица 1

Активность ферментов в икре и личинках моллюсков и ракообразных Черного моря ($M \pm m$)

Виды	Липоксигеназа, опт. ед. / мг белка / мин.	Супероксиддисмутаза, усл. ед. / мг белка / мин.	Каталаза, мг перекиси водорода / мг белка / мин.	Пероксидаза, опт. ед. / мг белка / мин.	Глутатионредуктаза, нмоль НАДФН / мг белка / мин.
Мидии	0.003 ±	79.346 ±	0.125 ±	0.012 ±	3.672 ±
яйца	0.001	12.284	0.028	0.010	0.898
Креветки	-	26.340 ±	0.071 ±	0.036 ±	-
яйца		3.456	0.012	0.024	
Артемия					
покоящиеся					
цисты	0.009	6.16	0.011	0.030	0.822
метабо-					
лизирующие					
цисты	0.004	6.30	0.010	0.036	1.014
науплии	0.068	8.32	0.033	0.044	1.250

В икре гидробионтов обнаружены значительные количества антиоксидантов: глутатиона (0.98-8 мкг%), каротиноидов (1.4-116 мг/г липидов), витамина А (0.45-92.6 мг/г липидов), витамина Е (5.65-9.18 мг/г сырой массы) и витамина К (6.7-16.9 мкг%). В ходе развития зародышей наблюдаются определенные сдвиги в содержании антиоксидантов, что отражает динамику вовлечения их в защитные системы эмбрионов и личинок на различных, в

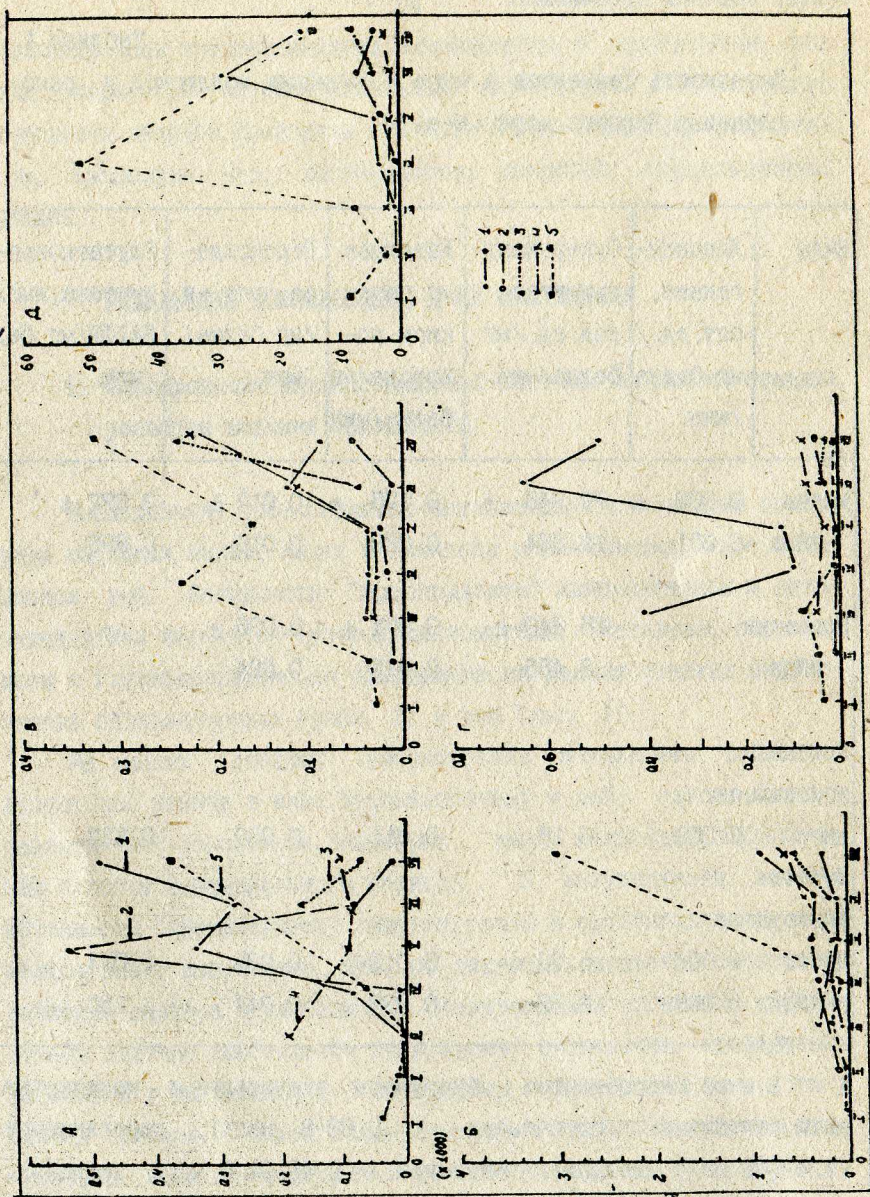


Рис. 1. Активность ферментов в икре и в личинках рыб. А - липокси-геназа, Б - супероксид-дисмутаза, В - каталаза, Г - перокси-даза, Д - глутатионре-дуктаза. 1 - бычок-кругляк, 2 - бычок-цуцик, 3 - собачка-павлин, 4 - собачка жел-то-красная, 5 - камсала-кalkan. I-VI - этапы развития икры. VII - личин-ки. Срдината - активность ферментов.

том числе критических стадиях развития. Так например, у личинок по сравнению с икрой отмечено резкое сокращение уровня этих компонентов, которые, вероятно, интенсивно расходуются в процессе вылупления и при переходе к постэмбриональному онтогенезу. Коэффициенты корреляции между показателями содержания антиоксидантов в икре и в личинках исследуемых гидробионтов находятся в пределах $0.34 < r < 0.69$.

Доминирующими липидными компонентами в икре и в личинках исследуемых морских организмов являются триглицериды, концентрация которых резко снижается к концу эмбрионального периода и особенно у личинок, так как эти компоненты обеспечивают энергетические траты развивающегося зародыша и процесс его вылупления. На ранних стадиях эмбриогенеза липидный состав яиц гидробионтов характеризуется некоторой "обедненностью": в яйцах мидий отсутствуют моно- и диглицериды, стерины и алкоксиллипиды, в цистах артемии не обнаружены алкоксиллипиды и метиловые эфиры жирных кислот, в яйцах акулы - моноглицериды, в икре камбалы-кalkanа и бычка-цуцика - алкоксиллипиды. В целом липидный состав в процессе эмбриогенеза исследуемых видов очень динамичен, но средние коэффициенты корреляции между соотношениями липидных фракций находятся в пределах $0.52 < r < 0.65$, что свидетельствует о значительных связях между липидами в развивающихся эмбрионах морских организмов.

Показатели перекисного окисления липидов в яйцах гидробионтов варьируют и имеют видовые особенности: содержание гидроперекисей находится в пределах $0.106-2.830$ мкг иода/мг липидов, индекс окисленности липидов - $0.142-0.593$, содержание диенсвых конъюгатов $0.507-9.545$ мкмоль/мг липидов, уровень кетодиенов - $0.005-0.147$, концентрация ТБК-активных продуктов - $0.640-5.490$ нмоль/мг липидов. Следует отметить общую тенденцию снижения индекса окисленности липидов к концу эмбриогенеза и у личинок, но увеличение содержания диенсвых конъюгатов, а у артемии и некоторых костистых рыб - также и кетодиенов. При этом

различий в УФ-спектрах липидов икры гидробионтов не обнаружено, тогда как спектры возбуждения флуоресценции имеют выраженные видовые особенности: для липидов яиц мидий и акулы характерны два максимума при длине волны 356 нм и 430 нм и минимум при длине волны 400 нм, для липидов икры остальных исследуемых видов отмечен только один максимум при длине волны 356 нм, наиболее выраженный на последних стадиях эмбриогенеза. Установленная динамика содержания продуктов ПОЛ в гидробионтах в процессе их эмбриогенеза может быть связана с различным развитием и становлением антиоксидантной ферментной системы и, в частности, с различной по времени экспрессией генов, обуславливающих синтез соответствующих ферментов (Нейфак А. А., Львовская Е. Р., 1984; Montesano L. et al., 1989). В результате этого формирование баланса $AOA \rightleftharpoons ПОЛ$ происходит на равных этапах развития гидробионтов, что подтверждается более широкими пределами варьирования среднего коэффициента корреляции между показателями ПОЛ $0.35 < r < 0.72$. При этом в цистах артемии и в яйцах акулы-катрана антиоксидантная активность липидов имеет наибольшие значения ($AOA > 1$), тогда как у остальных видов $AOA < 1$ (в икре бычка-цуцика), либо $AOA < 1$.

В целом средние коэффициенты корреляции между всеми изученными показателями АОА и ПОЛ в икре исследуемых видов гидробионтов заключены в пределах $0.45 < r < 0.62$, причем в большей степени варьируют между показателями икры костистых рыб по сравнению с остальными видами.

На основании приведенных данных можно заключить, что формирование системы $AOA \rightleftharpoons ПОЛ$ у различных групп морских организмов имеет как общие закономерности, так и специфические особенности, обусловленные филогенетическим положением вида, а также морфологическими и экологическими особенностями икры. Нами установлено, что активность супероксиддисмутазы и каталазы выше в икре, имеющей тонкую оболочку (мидии, креветки, костистые рыбы), тогда как в икре, обладающей защитной кутику-

лой (артемия) или претерпевающей развитие внутри организма в связи с живорождением (акула) активность их на порядок ниже. В пелагической икре активность всех исследуемых ферментов (за исключением супероксиддисмутазы) выше на разных стадиях развития по сравнению с соответствующими показателями демерсальной икры. Корреляции между показателями ПОЛ выше в хорошо защищенной от внешних воздействий икре ($r = 0.73$ для цист артемии и яиц акулы), но ниже в икре, непосредственно контактирующей с внешней средой ($r = 0.56$ для икры мидий и костистых рыб). В целом между показателями ПОЛ и антиоксидантной системы в икре гидробионтов установлены значительные корреляции $0.51 < r < 0.81$, что свидетельствует о наличии хорошо сбалансированной системы антиоксидантной защиты в раннем онтогенезе морских организмов. На основании проведенных исследований можно заключить, что икра гидробионтов обладает различной приспособленностью к изменяющимся условиям среды, благодаря различным механизмам или их сочетанию, а именно:

1. Слабое развитие ферментной антиоксидантной системы компенсируется высоким содержанием низкомолекулярных антиоксидантов и хорошей защищенностью эмбрионов от непосредственного контакта с внешней средой (цисты артемии, яйца акулы).

2. Пелагическая (мидии, креветки, камбала-калкан) и демерсальная икра (бычки, собачки) в большей степени подверженная значительным колебаниям внешних факторов, имеет более высокую активность (на порядок и более) антиоксидантных ферментов. Однако по мере развития эмбриона и выклева личинки активность ферментов значительно возрастает, что позволяет личинкам проявлять устойчивость к резкой смене условий существования.

2. Системы перекисного окисления и антиоксидантной активности у разных филогенетических групп морских организмов

Различия в формировании прооксидантно-антиоксидантной системы в процессе раннего онтогенеза различных групп гидробионтов в большей степени выражены в постэмбриональный период, когда организм вступает в непосредственный контакт с внешней средой. Активность ферментов в тканях морских беспозвоночных имеет видовые, тканевые и экологические особенности. В тканях устриц, в отличие от тканей мидий, не обнаружена активность каталазы и пероксидазы, а активность супероксиддисмутазы имеет сходство с соответствующими показателями мидий. Активность ферментов мышц ноги мидий, непосредственно контактирующей с внешней средой, выше, чем в гепатопанкреасе и в гонадах. В период полового созревания и нереста активность ферментов в тканях моллюсков значительно возрастает.

Активность антиоксидантных ферментов у артемии имеет четкую зависимость от экологических условий. У рачков, обитающих в водоемах с большим содержанием кислорода и переменным гидрохимическим режимом, обнаружено увеличение в 2-5 раз активности каталазы и глутатионредуктазы по сравнению с соответствующими показателями особей, живущих в относительно стационарных гидрохимических условиях (0.006 против 0.012 мг перекиси водорода/мг белка/мин и 0.310 против 2.660 нмоль НАДФН/мг белка/мин соответственно). В отличие от мидий, достаточно хорошо защищенных от непосредственного контакта с внешней средой кальциевыми створками, артемия имеет тонкий экзоскелет, что обуславливает необходимость более тесных связей между всеми компонентами защитной антиоксидантной системы. По этой причине коэффициент корреляции между значениями активности ферментов у артемии значительно выше ($r > 0.60$) по сравнению с показателями мидий ($r > 0.34$).

Большим разнообразием характеризуются показатели актив-

ности антиоксидантных ферментов в тканях рыб, зависящие от филогенетических и экологических особенностей вида, а также от тестируемой ткани. Активность "прооксиданта" липоксигеназы снижена в крови, мышцах и печени акулы по сравнению с соответствующими значениями большинства костистых рыб (0.8 против 0.8-3.5 опт.ед./мл крови/мин в крови, 0.002 против 0.003-0.007 опт.ед./мг белка/мин в мышцах и 0.005 против 0.008-0.016 опт.ед./мг белка/мин. в печени соответственно). Еще в большей степени эта тенденция выражена для глутатионредуктазы (0.14 против 0.46-7.44 мкмоль НАДФН/мг белка/мин. в мышцах и 0.19 против 0.68-5.75 мкмоль НАДФН/мг белка/мин в печени соответственно) и супероксиддисмутазы (6.98 против 11.6-120.9 усл.ед./мг белка/мин в мышцах и 6.98 против 9.14-89.06 усл.ед./мг белка/мин в печени соответственно). В отличие от костистых рыб в крови акулы не обнаружена каталазная активность, тогда как в других органах и тканях она значительно ниже по сравнению с соответствующими значениями костистых рыб. Активность пероксидазы в мышцах акулы превосходит активность фермента в мышцах костистых (4.01 против 0.03-0.24 опт.ед./мг белка/мин), в меньшей степени эта тенденция проявляется в печени. Для гонад хрящевых рыб установлены аналогичные особенности: резкое снижение активности глутатионредуктазы (0.27 против 0.86-7.39 мкмоль НАДФН/мг белка/мин у костистых); в яичниках акулы уменьшена активность супероксиддисмутазы и липоксигеназы (4.90 против 6.28-55.6 усл.ед./мг белка/мин и 0.48 против 21.78 опт.ед./мг белка/мин соответственно), тогда как активность пероксидазы достаточно велика (1.78 против 0.51-0.81 опт.ед./мг белка/мин у костистых).

Таким образом, для ферментов прооксидантно-антиоксидантной системы (за исключением пероксидазы) можно выделить общую тенденцию снижения их активности в тканях хрящевых рыб по сравнению с костистыми, что может свидетельствовать о недоста-

точно совершенной системе антиоксидантной ферментной защиты у примитивных хрящевых рыб.

Активность ферментов в тканях активных пелагических рыб выше по сравнению с соответствующими показателями придонных малоподвижных видов, что можно рассматривать как адаптацию пелагических рыб к жизни в верхних слоях воды, богатых кислородом и подверженных большим гидрохимическим изменениям.

Ткани гидробионтов богаты низкомолекулярными антиоксидантами. При этом содержание глутатиона варьирует незначительно (1.37-11.04 мкг%), уровень его зависит от вида и исследуемой ткани. Нами установлено также, что концентрация сывороточных SH-групп у акулы достоверно ($p < 0.01$) выше соответствующих показателей костистых рыб за счет доминирования небелковых SH-групп (отношение небелковые SH-группы/белковые SH-группы > 1 в сыворотке акулы, тогда как у костистых рыб < 1). Наряду с повышенным содержанием металлопротеидов в сыворотке крови акулы увеличение концентрации свободных SH-групп может являться своеобразной и характерной компенсацией недостаточно эффективного развития антиоксидантной ферментной системы крови хрящевых рыб по сравнению с костистыми.

В тканях исследуемых морских организмов обнаружены значительные количества каротиноидов (0.98-171 мг/г липидов), витамина А (0.69-15.22 мг/г липидов), витамина К (0.33-11.29 мкг%), витамина Е (0.056-7.01 мг/г сырой ткани). При этом самое высокое содержание каротиноидов установлено в артемии (56-171 мг/г липидов), а витамина К - в мышцах, печени и гонадах акулы, что может представлять интерес для использования этих организмов в качестве сырья для получения ценных биологически активных веществ.

За счет значительного уровня антиоксидантов в гонадах мидий и самок рыб параметры антиокислительной активности липидов (АОА) достаточно высоки, что, по-видимому, предохраняет генеративную ткань от свободнорадикальных повреждений, тогда как в

мышцах, печени и семенниках рыб, а также в гепатопанкреасе мидий и у артемии эти показатели снижены. В печени акулы и барабули, в гонадах самцов акулы и в мышцах мидии АОА > 1 , что обеспечивается повышенной активностью антиоксидантных ферментов (мышцы ноги мидии), высокими концентрациями низкомолекулярных антиоксидантов (барабуля), а также наличием мощных антиокислителей липидной природы, что было установлено ранее (Нехорошев М. В. и др., 1989).

Интенсивность процессов ПОЛ определяется внешними факторами, физиологическим состоянием организма, а также зависит от липидного состава органов и тканей. Доминирующими липидами в тканях гидробионтов являются компоненты, обеспечивающие хорошие плавательные свойства и энергетические затраты на плавание: триглицериды, стерины, воска. У активных пелагических видов содержание их значительно выше, чем у придонных организмов. Особенностью большинства морских организмов по сравнению с наземными является наличие у них специфических компонентов - алкоксидипидов, самое высокое содержание которых установлено в тканях акулы.

Таким образом, приведенные данные свидетельствуют о наличии у морских организмов многокомпонентной антиоксидантной защитной системы, эффективность которой возможно оценить по содержанию продуктов перекисного окисления липидов в органах и тканях исследуемых видов гидробионтов. Нами установлено, что содержание продуктов ПОЛ значительно ниже в гонадах морских организмов по сравнению с соответствующими показателями в других органах, и варьируют они значительно меньше, чем показатели содержания антиоксидантов и активности ферментов (содержание гидроперекисей заключено в пределах 0.96-5.57 мкг иода /мг липидов, индекс окисленности 0.22-0.46, уровень диеновых конъюгатов 0.29-3.49 мкмоль/мг липидов, кетодиенов 0.04-0.15 и концентрация ТБК-активных продуктов 0.52-8.00 нмоль/мг липидов). У артемии, обитающей в условиях переменного гидрохими-

ческого режима, все показатели (за исключением концентрации гидроперекисей) выше, чем у особей, живущих в относительно стабильных условиях. Особенностью акулы по сравнению с костистыми рыбами является значительное в 6-20 раз увеличение содержания гидроперекисей и ТБК-активных продуктов в сыворотке крови, мышцах и печени, а также флуоресцирующих веществ (9.99-27.05 против 0.64-7.35 мкг иода/мг липидов и 9.67-29.18 против 1.14-8.70 нмоль/мг липидов соответственно). Повышенное содержание продуктов ПОЛ в тканях акулы *Squalus acanthias*, являющейся примитивным "низоорганизованным" видом элазмобранхий может быть следствием как специфического липидного состава, отличающегося "ненормальной" степенью ненасыщенности жирных кислот (Лав Р. М., 1976), так и несовершенством ферментной антиоксидантной системы. Среди костистых рыб вариации в показателях ПОЛ незначительны.

Корреляции между показателями перекисного окисления липидов и антиоксидантной активности у изученных морских организмов заключены в пределах $0.37 < r < 0.55$. Самая низкая корреляция установлена для мидий $r=0.37$, самые высокие - для активных пелагических рыб, а также видов с высокой специализацией ($r=0.62$). Значительная корреляция ($r=0.55$) отмечена для артемии, что, вероятно, позволяет этому виду существовать в широком диапазоне различных внешних условий и иметь при этом достаточно стабильные физиолого-биохимические параметры (Руднева И. И., 1991).

Приведенные данные свидетельствуют о наличии у гидробионтов хорошо сбалансированной системы $AOA \rightleftharpoons ПОЛ$, обеспечивающей их нормальную жизнедеятельность в изменяющихся условиях среды. В дальнейшем представляло интерес оценить степень устойчивости гидробионтов, используя параметры прооксидантно-антиоксидантной системы в ситуациях, моделирующих экстремальные воздействия с помощью направленного влияния различных антропогенных факторов (ксенобиотиков и ионизирующих излучений).

3. Действие антропогенных факторов на прооксидантно-антиоксидантные системы морских животных

Для анализа ответной реакции прооксидантно-антиоксидантной системы изучали действие тяжелых металлов (ртути), нефти и нефтепродуктов (соляра и мазута), полихлорированных бифенилов и ионизирующих излучений на мидий, ракообразных и рыб, находящихся на разных стадиях развития.

Установлено, что при инкубации икры бычка-кругляка в воде с концентрацией хлорида ртути 1 и 10 мкг/л происходит снижение содержания белка, увеличение на 2000-4700% активности каталазы, но снижение на 30-70% активности пероксидазы и супероксиддисмутазы соответственно. Коэффициент корреляции между концентрацией токсиканта в воде и активностью ферментов составил $r=0.62$.

Прямое и не прямое действие тяжелых нефтяных фракций изучали на развивающейся икре желто-красной собачки и бычка-кругляка, а также на личинках бычка. Обнаружено, что при действии нефти и ее смыва происходит падение концентрации белка в икре, а также увеличение активности каталазы в 3-7 раз по сравнению с контролем (рис. 2). При этом реакция выражена в большей степени при прямом действии нефти, чем при влиянии "смыва". Активность липоксигеназы снижается на 60-80%, сдвиги в активности остальных ферментов незначительны у личинок по сравнению с икрой. Между активностью исследуемых ферментов и уровнем токсиканта установлены высокие корреляции ($r=0.70$) в икре и личинках рыб.

При прямом и не прямом действии нефти в икре и в личинках бычка-кругляка наблюдается возрастание относительного содержания моно- и диглицеридов на 50-140%, а также восков. В икре отмечено увеличение концентрации алкоксиллипидов и метиловых эфиров жирных кислот, тогда как в липидном составе личинок эти

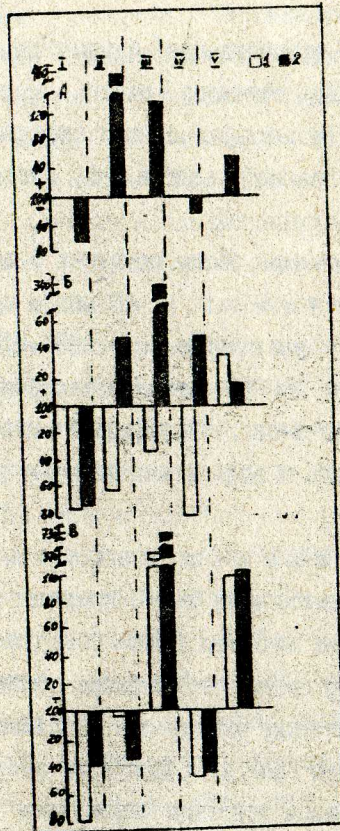


Рис. 2. Гистограмма, характеризующая показатели активности ферментов икры и личинок бычка-кругляка под действием "смыва" (1) и нефти (2) относительно контроля, взятого за 100%.

А - V этап развития икры, Б - VI, В - личинки.
I - липоксигеназа, II - супероксиддисмутаза, III - каталаза, IV - пероксидаза, V - глутатионредуктаза.

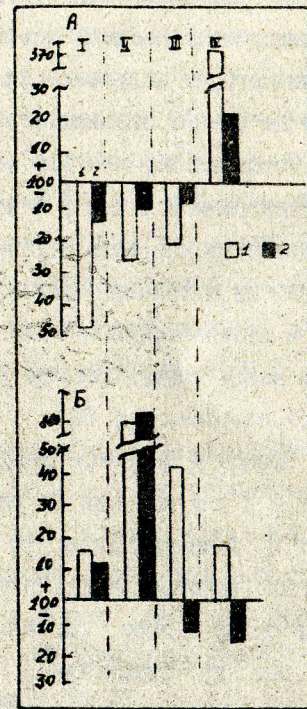


Рис. 3. Гистограмма, характеризующая показатели ПОЛ в икре (А) и в личинках (Б) бычка-кругляка под действием "смыва" (1) и нефти (2), относительно контроля, взятого за 100%.

I - индекс окисленности липидов, II - диеновые конъюгаты, III - кетодиены, IV - ТБК-активные продукты.

колебания незначительны. Однако корреляции между соотношением липидных компонентов в икре и в личинках имеют сходные значения $r = -0.55$ и $r = -0.60$ соответственно.

Однотипные изменения отмечены для показателей перекисного окисления липидов, выражающиеся в увеличении на 20-370% концентрации ТБК-активных продуктов в икре и на 160% в личинках, остальные показатели ПОЛ подвержены меньшим вариациям, но имеют тенденцию к снижению в икре при прямом и непрямом действии нефти, и к увеличению в личинках при действии "смыва" (рис. 3). Установлено снижение максимума флуоресценции липидов с 356 нм до 340 нм в икре и в личинках, а также значительное уменьшение интенсивности флуоресценции. Коэффициент корреляции между показателями ПОЛ в икре, подвергнутой действию токсиканта выше, чем в личинках ($r = -0.88$ против $r = -0.40$ соответственно).

Таким образом, результаты исследований позволили установить, что при непрямом действии нефти на икру и личинки рыб происходит некоторое снижение активности ферментов (за исключением глутатионредуктазы и каталазы у личинок), тогда как при прямом действии токсиканта активность антиоксидантных ферментов возрастает, что отражает проявление типичной адаптивной реакции "синдрома Селье" (Селье Г., 1967; Меерсон Ф.З., 1980). Действие нефти вызывает однотипные сдвиги в соотношениях липидных компонентов в икре и в личинках рыб, а также значительное накопление конечных продуктов ПОЛ - ТБК-активных веществ в икре и промежуточных продуктов - в личинках. На основании этого факта можно предположить, что в личинках имеет место некоторое "запаздывание" ответной реакции на действие ксенобиотиков, что также подтверждается данными флуоресцентного анализа. Средний коэффициент корреляции между изменением всех исследованных показателей ПОЛ и АОА в икре рыб составил $r = -0.67$ и в личинках $r = -0.61$, что свидетельствует об усилении взаимодействий между компонентами защитной системы для обеспечения устойчивости развивающегося организма к действию токсикантов.

Действие водорастворимых фракций нефти мазута и соляра на активность ферментов изучали на развивающейся икре камбалы-калкана, бычков цулика и кругляка, собачек желто-красной и павлина. Установлено, что сдвиги в активности ферментов зависят от концентрации токсикантов. Так например, активность липоксигеназы в демерсальной икре снижается в интервалах концентрации мазута и соляра от 0.000001 - 0.00001 мл/л, но затем возрастает при увеличении содержания токсиканта в среде и вновь падает при достижении концентрации 0.2-1 мл/л. Для пелагической икры (камбала) установлен рост активности липоксигеназы при концентрации соляра 0.00001-0.5 мл/л, тогда как в случае мазута подобная тенденция обнаружена в пределах содержания 0.000001-0.02 мл/л, затем происходит спад активности и вновь подъем при концентрации токсиканта свыше 1 мл/л.

Активность каталазы, супероксиддисмутазы и глутатионредуктазы повышена в пелагической икре, экспонированной в воде с различными концентрациями мазута и соляра, но снижена у личинок камбалы. В демерсальной икре бычков и собачек, инкубированной в воде с содержанием мазута 0.000001-0.001 мл/л наблюдали некоторое снижение активности каталазы, пероксидазы и глутатионредуктазы, при увеличении концентрации токсиканта до 0.1-1 мл/л активность ферментов возрастает, при дальнейшем росте уровня ксенобиотика данные показатели резко снижаются, что свидетельствует об ингибировании активности антиоксидантных ферментов. Активность супероксиддисмутазы мало изменяется в икре при действии различных концентраций мазута, но снижается при содержании его 1мл/л. Активность исследуемых ферментов у личинок, подвергнутых действию мазута, в целом имеет сходство с динамикой этих показателей у икры, однако ингибирование активности этих ферментов у личинок происходит при более высоких концентрациях токсиканта - 0.5-3 мл/л.

Под действием различных концентраций соляра в пелагической икре камбалы активность каталазы, супероксиддисмутазы и

пероксидазы увеличивается, активность глутатионредуктазы подвержена меньшим колебаниям. В демерсальной икре наблюдается некоторое подавление активности каталазы и глутатионредуктазы при низкой концентрации соляра, незначительное возрастание при 0.001-0.5 мл/л и вновь снижение при более высоких концентрациях токсиканта. У личинок при действии соляра также отмечены колебания в активности ферментов, однако они выражены в меньшей степени. Установлены высокие коэффициенты корреляции между активностью исследуемых ферментов и концентрацией токсиканта, лежащие в пределах $0.55 < r < 0.98$, что свидетельствует о наличии значительных взаимодействий между компонентами защитной системы в раннем эмбриогенезе рыб, подвергнутых действию токсикантов.

Таким образом, наиболее чувствительными ферментами к действию водорастворимых фракций нефти являются липоксигеназа и каталаза. Активность остальных ферментов изменяется неоднозначно, но в большинстве случаев характер этих изменений соответствует "синдрому Селье", то есть некоторое снижение активности происходит при низких концентрациях токсикантов (0.000001-0.00001 мл/л), затем эти показатели возрастают при повышении содержания мазута и соляра до 0.1-1 мл/л, после чего активность ферментов резко падает. При этом активность ферментов у личинок, подвергнутых действию различных концентраций токсикантов, ингибируется при более высокой концентрации мазута и соляра по сравнению с показателями икры.

Влияние ПХБ в концентрации 5000 нг/л на прооксидантно-антиоксидантную систему сыворотки крови, печени, мышц и гонад изучали на барабуле и скорпене. Число белковых фракций в ЭФ-спектрах сыворотки крови рыб последовательно снижается в ряду проток-->аквариум-->опыт, но увеличивается количество железосодержащих компонентов. Действие неблагоприятных факторов на рыб, содержащихся в аквариуме (гипоксия, замкнутое пространство, отсутствие пищи), усиленное повышенными концентрациями ПХБ (опыт) привело к снижению на 40-80% свободных SH-групп,

а также уровня витамина А (4.30 в протоке против 2.82 мг/г липидов в опыте). Одновременно в сыворотке крови рыб, находящихся в аквариуме и в опытных условиях, отмечено падение концентрации фосфолипидов, моно- и диглицеридов, стерина, но увеличение содержания воска. У опытных рыб на 30-80% возрастает уровень диеновых конъюгатов и кетодиенов, но падает концентрация ТБК-активных продуктов. Таким образом, полученные данные могут отражать характер ответной реакции сыворотки крови рыб, содержащихся в неблагоприятных условиях, усиленных повышенными концентрациями ксенобиотиков в среде. При этом коэффициент корреляции между всеми исследованными показателями ПОЛ и АОА увеличивается в сыворотке крови рыб в ряду проток-->аквариум-->опыт (0.26--> 0.41-->0.42 соответственно).

Дальнейшие исследования показали, что ПХБ в 4-5 раз больше аккумулируются в печени и в гонадах рыб, по сравнению с мышцами, что оказывает влияние на характер ответной реакции со стороны прооксидантно-антиоксидантной системы этих органов рыб. Динамика изменения активности ферментов в основном сходна у обоих видов рыб: в мышцах на 150-600% увеличивается активность липоксигеназы, а у барабули также и каталазы, активность остальных ферментов варьирует в меньшей степени и имеет тенденцию к снижению (рис. 4). В печени обоих видов рыб активность липоксигеназы уменьшена у опытных особей на 40-60%, тогда как показатели остальных ферментов (за исключением глутатионредуктазы у барабули) увеличены на 40-80% по отношению к контролю. В меньшей степени подвержены колебаниям активность ферментов в гонадах рыб. В содержании антиоксидантов также обнаружены определенные сдвиги: в мышцах барабули наблюдается снижение концентрации этих компонентов на 20-60%, а у скорпены - возрастание на 40-140%, однако различия не достоверны. Вместе с тем следует отметить особенность мышц скорпены, находящейся в условиях недостатка кислорода и повышенного содержания ПХБ, проявляющуюся в увеличении АОА, что согласуется с

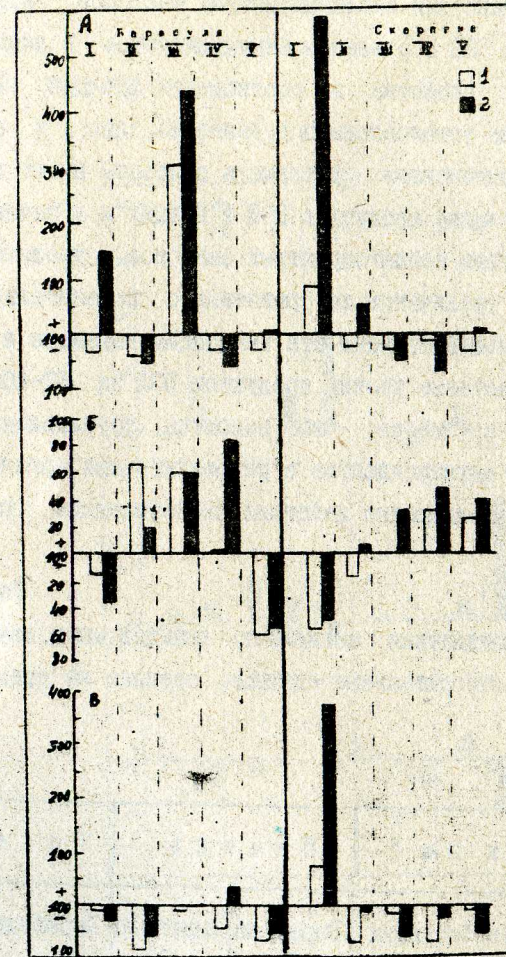


Рис. 4. Гистограмма, характеризующая показатели активности ферментов в мышцах (А), печени (Б) и гонадах (В) рыб, подвергнутых действию ПХБ, по отношению к контролю, взятому за 100%.
I - липоксигеназа, II - супероксиддисмутаза, III - каталаза, IV - пероксидаза, V - глутатионредуктаза. 1 - аквариум, 2 - опыт.

данными об увеличении концентрации антиоксидантов в мышцах данного вида при действии неблагоприятных факторов (табл. 2).

Известно, что ПХБ в основном аккумулируются в липидах и могут нарушать их свойства и соотношения фракций. В наших исследованиях также установлены определенные сдвиги в соотношениях липидных компонентов, которые в основном имеют видовые особенности. Содержание продуктов ПОЛ в мышцах и в печени рыб, подвергнутых действию неблагоприятных факторов, увеличены или имеют тенденцию к увеличению по сравнению с показателями интактных рыб. В большей степени эта тенденция выражена в печени и в мышцах (возрастание уровня продуктов ПОЛ на 50-400%), в меньшей степени - в гонадах, что, вероятно, обусловлено большей концентрацией антиоксидантов в репродуктивных органах, защищающих их от повреждающего действия ксенобиотиков (рис. 5).

Таблица 2

Общая антиоксидантная активность липидов мышц, печени и гонад рыб (относительные единицы, среднее из трех определений)

Условия эксперимента	Мышцы		Печень		Гонады	
	Барабуля	Скорпена	Барабуля	Скорпена	Барабуля	Скорпена
Проток	0.718	0.356	1.334	0.870	1.787	0.980
Аквариум	0.708	1.007	1.165	0.459	1.400	0.800
Опыт	0.898	1.101	1.108	0.571	1.321	0.780

Особо следует отметить усиление корреляций между всеми показателями ПОЛ и АОА в исследуемых органах и тканях рыб в ряду проток-->аквариум-->опыт: для барабули 0.36-->0.41-->0.85 в мышцах 0.34-->0.40-->0.74 в печени и 0.50-->0.55-->0.55 в

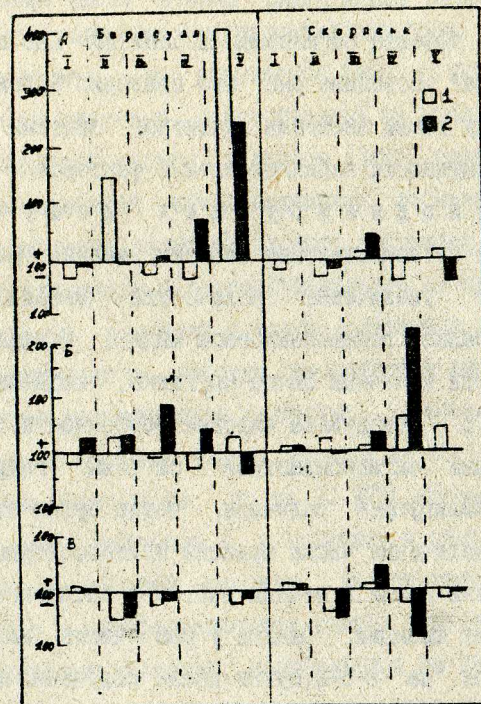


Рис. 5. Гистограмма, характеризующая показатели ПОЛ в мышцах (А), печени (Б) и гонадах (В) рыб, подвергнутых действию ПХБ, по отношению к контролю, взятому за 100 %.

I - индекс окисленности липидов, II - диеновые конъюгаты, III - метаболиты, IV - гидроперекиси, V - ТБК-активные продукты. Остальные обозначения те же, что на рис. 4.

гонадах; у скорпены эти тенденции выражены в меньшей степени: 0.24-->0.29--> 0.32 в мышцах, 0.32-->0.29-->0.32 в печени и 0.35-->0.39-->0.70 в гонадах.

Таким образом, содержание рыб в аквариуме, сопровождающееся гипоксией, недостатком пищи и замкнутостью пространства, приводит к сдвигу параметров прооксидантно-антиоксидантной системы, а также возрастанию связей между ними как проявление защитного эффекта организма. Добавление ПХБ в среду значительно ухудшает состояние рыб, что приводит к усилению взаимодействий между всеми звеньями защитной системы организма к действию совокупности неблагоприятных факторов.

Действие ионизирующей радиации на прооксидантно-антиоксидантные системы мидий, ракообразных и рыб вызывает увеличение количества металлопротеидов в ЭФ-спектрах белков гепатопанкреаса мидий, в тканях идотей и в сыворотке крови и печени бычка-кругляка, подвергнутого облучению дозой 2 Гр. Обнаружены видовые особенности протекания ответной реакции антиоксидантной системы гидробионтов на действие ионизирующей радиации: через сутки после облучения происходит увеличение числа фракций железосодержащих компонентов в сыворотке крови и печени рыб, а у беспозвоночных также и медьсодержащих фракций. Однако у рыб число железосодержащих белков падает на 3-5-е сутки после облучения и одновременно возрастает количество медьсодержащих протеинов, у мидий и идотей увеличение гетерогенности ЭФ-спектров металлопротеидов происходит вплоть до 10-х суток, после чего все показатели восстанавливаются до уровня интактных особей. Таким образом, колебание фракций металлопротеидов в органах и тканях гидробионтов отражает характер неспецифического адаптивного ответа организма на действие ионизирующей радиации.

В яйцах креветки, подвергнутой гамма-облучению дозами 1.25-4.5 Гр установлено увеличение на 20-800% активности каталазы, пероксидазы и супероксиддисмутазы, при этом коэффициент

корреляции между дозой облучения и активностью ферментов составил $r=0.81$. В облученных цистах артемии обнаружено возрастание на 20-80% активности каталазы и пероксидазы, тогда как активность остальных ферментов варьирует незначительно и имеет тенденцию к снижению. Однако у науплиев и у взрослых особей, полученных из облученных цист, установлено падение на 40-80% активности каталазы и супероксиддисмутазы, в связи с чем можно предположить, что вызываемое гамма-облучением нарушение генетических структур, ответственных за реализацию механизмов антиоксидантной защиты, в данном случае приводит к снижению активности ключевых антиоксидантных ферментов и, как следствие, к ослаблению защитных свойств организма, в наибольшей степени проявляющееся в постэмбриональном онтогенезе (рис. 6).

В то же время в цистах артемии содержатся значительные количества антиоксидантов, которые предохраняют зародыш от поражающего действия ионизирующей радиации. Установлено, что в метаболизирующих облученных цистах артемии на 80-100% сокращается концентрация глутатиона, но на 80-320% возрастает содержание каротиноидов и витамина А, в покоящихся цистах эти колебания выражены в меньшей степени, на основании чего можно предположить, что в метаболизирующих цистах существует своеобразный компенсаторный механизм, направленный на увеличение содержания антиоксидантов путем их ресинтеза, что необходимо для нормального процесса выклева. В цистах артемии, подвергнутой гамма-облучению, отмечено снижение концентрации фосфолипидов, которые также могут вовлекаться в защитные реакции организма (Браун А. Д., Моженок Т. П., 1987). В облученных цистах артемии обнаружено возрастание на 200-600% содержания гидроперекисей липидов, а также уровня кетодиенов, но одновременное снижение индекса окисленности липидов и концентрации диеновых конъюгатов. Содержание конечных продуктов ПОЛ - ТБК-активных веществ варьирует незначительно.

Таким образом, исследование различных воздействий на по-

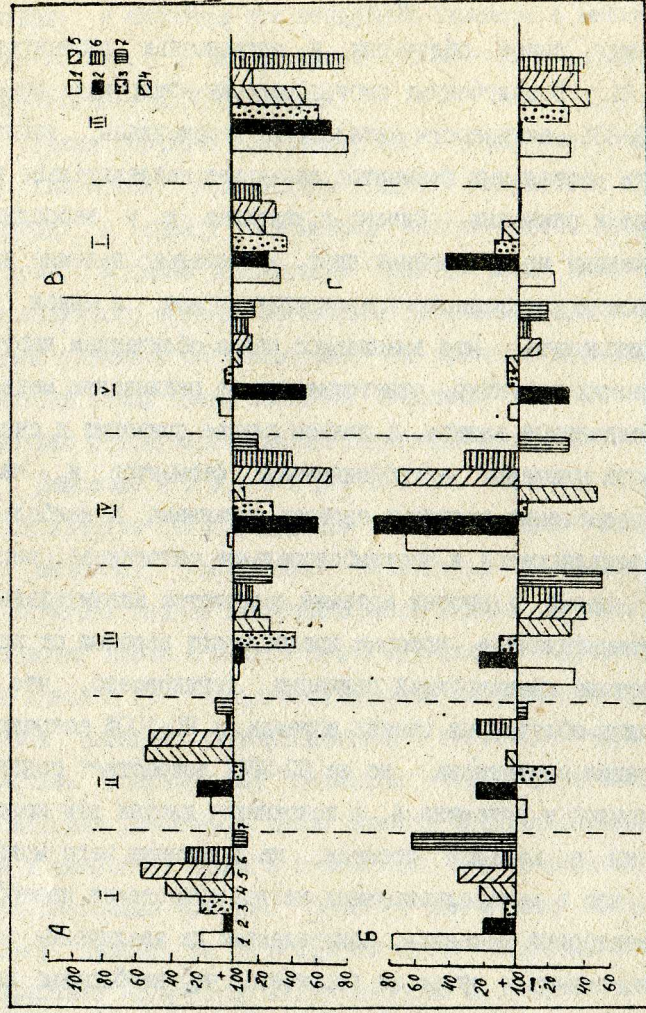


Рис. 6. Гистограмма, характеризующая показатели активности ферментов покоящихся (А), метаболизирующих (В) цист, науплиев (В) и взрослых особей (Г) артемии, подвергнутых действию гамма-облучения, по отношению к контролю, взятому за 100%.

I - каталаза, II - пероксидаза, III - супероксиддисмутаза, IV - глутатионредуктаза, V - липоксигеназа.

I - доза облучения 1 Гр, 2 - 4.2 Гр, 3 - 9 Гр, 4 - 20 Гр, 5 - 193 Гр, 6 - 385 Гр, 7 - 3457 Гр.

казатели прооксидантно-антиоксидантной системы гидробионтов, находящихся на разных стадиях онтогенеза, позволило выявить некоторые общие тенденции. Общим свойством тканей и органов морских организмов, подвергнутых действию ксенобиотиков и ионизирующих излучений, является увеличение числа металлопротеидов в первые дни после воздействия, но затем эти показатели восстанавливаются в течение последующих 20-30 суток. Под действием неблагоприятных факторов происходит сокращение уровня свободных SH-групп и глутатиона, принимающих участие в непосредственной детоксикации свободных радикалов путем реакций конъюгации, а также истощение запасов низкомолекулярных антиоксидантов липидной природы (каротиноидов и витаминов). Вместе с тем неоднозначное изменение активности ферментов зависит от систематического положения организма, стадии онтогенеза, вида и концентрации действующего фактора. Однако и в этом случае можно отметить, что наиболее чувствительными ферментами к действию ксенобиотиков и ионизирующей радиации являются "прооксидант" липоксигеназа и антиоксидантные ферменты каталаза и супероксиддисмутаза, менее чувствительны - пероксидаза и глутатионредуктаза. Благодаря наличию многокомпонентной защитной антиоксидантной системы, показатели ПОД у гидробионтов, подвергнутых действию неблагоприятных факторов, даже в летальных и сублетальных дозах, в целом изменяются в меньшей степени, чем показатели АОА. При этом корреляции между всеми параметрами этой системы значительно увеличиваются, что способствует возрастанию устойчивости гидробионтов в условиях усиления антропогенного пресса на морские экосистемы.

ВЫВОДЫ

1. Определен комплексный методический подход анализа состояния прооксидантно-антиоксидантной системы гидробионтов, с помощью которого установлено, что компоненты этой системы, характеризующие адаптационный потенциал морских животных, эволюционировали как единое целое, отражающее становление механизмов регуляции отношений организм - среда.

2. Формирование прооксидантно-антиоксидантной системы морских организмов происходит на начальных стадиях эмбриогенеза. В процессе эмбриогенеза активность ферментов увеличивается, резко возрастает (на порядок и более) у личинок, тогда как содержание антиоксидантов и резервных липидов (триглицеридов) сокращается.

3. Возможными механизмами устойчивости икры гидробионтов к повреждающему действию свободных радикалов являются: при слабом развитии ферментной антиоксидантной системы икра механически защищена от воздействия внешних факторов среды и имеет высокое содержание низкомолекулярных антиоксидантов (цисты артемии, яйца акулы), слабо защищенная пелагическая и демерсальная икра имеет более высокие показатели активности антиоксидантных ферментов (на порядок и выше). У личинок эти различия нивелируются.

4. Липидный состав яиц беспозвоночных и акул менее гетерогенен, чем липидный состав икры костистых рыб. В пелагической икре беспозвоночных и рыб содержание восков выше, чем в демерсальной, что улучшает ее плавательные свойства. Показатели перекисного окисления липидов в икре гидробионтов зависят от вида и экологических особенностей икры. Установлены близкие коэффициенты корреляции между всеми исследуемыми показателями ПОЛ и АОА, заключенные в пределах $0.51 < r < 0.63$.

5. Соотношение показателей ПОЛ и АОА зависит от филогенетического положения вида, его биологических особенностей и фи-

зиологического состояния организма. Активность антиоксидантных ферментов (за исключением пероксидазы) выше в органах и тканях костистых рыб по сравнению с хрящевыми, а также в крови активных пелагических рыб по сравнению с малоподвижными придонными формами, тогда как для печени и мышц установлена противоположная тенденция.

6. Высокое содержание низкомолекулярных антиоксидантов каротиноидов и витаминов установлено у артемии, в печени и в гонадах акулы-катрана, что может быть использовано в практических целях для получения ценных фармакологических препаратов.

7. Содержание продуктов ПОЛ выше в тканях хрящевых рыб по сравнению с костистыми, что связано с несовершенством ферментной антиоксидантной системы и спецификой липидного состава элазобранхий. Уровень ПОЛ в гонадах гидробионтов достаточно низок по сравнению с показателями в других тканях.

8. Под действием ксенобиотиков и ионизирующих излучений в икре, органах и тканях гидробионтов происходит изменение активности ферментов, перераспределение соотношений липидных компонентов, истощение запасов антиоксидантов, накопление продуктов перекисного окисления липидов. Наряду с общими механизмами сдвига баланса $AOA \rightleftharpoons ПОЛ$ у морских организмов, подвергнутых действию антропогенных факторов, выявлены особенности ответных реакций, зависящие от систематического положения вида, онтогенетической стадии, типа воздействия и его концентрации.

9. Под действием ксенобиотиков и ионизирующих излучений в развивающейся икре и тканях морских организмов происходит увеличение количества металлотеидов и снижение содержания SH-групп и глутатиона. Уровень металлотеидов и тиоловых соединений в тканях гидробионтов может служить информативным показателем оценки состояния организма и эти параметры могут быть использованы в мониторинговых исследованиях в качестве маркеров для анализа степени загрязнения акваторий и экологи-

ческого нормирования содержания ксенобиотиков в среде.

10. Максимальная аккумуляция ПХБ в экспериментальных условиях характерна для печени и гонад рыб, содержащих значительное количество липидов. Происходящий при этом сдвиг соотношения стерина/фосфолипиды в сторону увеличения может характеризовать нарушение проницаемости мембран и объяснять особую опасность этого ксенобиотика для репродуктивных органов гидробионтов.

11. При усилении действия неблагоприятных факторов среды установлено увеличение корреляций изменений между всеми показателями АОА и ПОЛ во всех исследуемых органах и тканях гидробионтов, что является следствием напряжения детоксикационных систем, мобилизации защитных свойств организма и повышения его устойчивости, направленной на поддержание эволюционно сформированного и генетически детерминированного баланса прооксидантно-антиоксидантной системы.

СПИСОК ОСНОВНЫХ РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Руднева И. И. *Артемия: перспективы использования в народном хозяйстве.* Киев: Наукова Думка, 1991. - 142 С.
2. Соркина Д. А., Руднева И. И. Сравнительная характеристика белковых и липопротеидных спектров сыворотки крови черноморских рыб // *Молекулярная биология и медицинская генетика.* Харьков.: Из-во Харьковского университета, 1975. - Т. 66, вып. 1. - С. 61-63.
3. Руднева И. И. Антропогенное изменение белкового состава у морских организмов // *ДАН СССР.* - 1983. - Т. 271, N 2. - С. 502-505.
4. Rudneva I. I. Alterations of glycoproteins compound in the blood serum and the liver of marine fishes in the process of their adaptation to the extreme environmental factors // *Rapp. Comm. Int. Mer. Medit.* -1985. - V. 29, N 7. - P. 75.

5. Руднева И. И. Зміни білкового складу артемії в процесі онтогенезу // *Вісн. АН УРСР.* - 1985. - N 10. - С. 44-47.
6. Поликарпов Г. Г., Руднева И. И. Капитальный труд по биологии артемии // *Гидробиол. журн.* -1986. - Т. 22, N 1. -С. 86-87.
7. Руднева И. И. Оценка качества цист артемии озера Зиваш // *Рыбное хозяйство.* - 1987. - N 3. - С. 30-31.
8. Policarpov G. G., Rudneva I. I. Mechanisms of biochemical adaptation of sea organisms to environmental stressus// *Production et Relation Trophiques Ecosystems marins.* 2 Coll. Franco-Sovietique. Yalta, 1989. Ifremer. Act. Call. - 1987. - P. 181-184.
9. Руднева И. И., Демина Н. В. Содержание полихлорбифенилов в артемии // *Рыбное хозяйство.* - 1989. - N 4. - С. 50-51.
10. Руднева И. И., Щепкина А. М. Химический состав цист артемии озера Сиваш // *Рыбное хозяйство.* - 1990. - N 5. -С. 51-52.
11. Руднева И. И. Профессии жабронога // *Химия и жизнь.* - 1990. - N 9. - С. 66-68.
12. Миронов О. Г., Гордина А. Д., Руднева И. И., Гавенаускайте Т. Л., Муравьева И. Н. Воздействие тяжелых нефтяных фракций на развивающуюся икру собачки желто-красной *Blennius sanguinolentus* // *Вопр. ихтиологии.* - 1992. - Т. 32, N 4. - С. 169-172.
13. Руднева И. И. Влияние ртути на биохимические показатели рыб// *Ихтиофауна Черноморских бухт в условиях антропогенного воздействия.* Киев: Наукова думка, 1993. - С. 71-77.
14. Миронов О. Г., Гордина А. Д., Руднева И. И., Гавенаускайте Т. Л. Влияние нефти и нефтепродуктов на некоторых гидробионтов Севастопольской бухты// *Ихтиофауна Черноморских бухт в условиях антропогенного воздействия.* Киев: Наукова Думка, 1993. - С. 46-57.
15. Руднева -Титова И. И., Жерко Н. В. Влияние полихлорированных бифенилов на белковый и липидный обмен сыворотки крови черноморской скорпены // *ДАН Украины.* - 1993. - N

11. - С. 157-161.
16. Руднева-Титова И. И., Жерко Н. В. Действие полихлорированных бифенилов на активность антиоксидантных ферментов и перекисное окисление липидов в мышцах и печени двух видов черноморских рыб // Биохимия. - 1994. - Т. 54, N 1. - С. 34-45
17. Руднева-Титова И. И. Соотношение активности антиоксидантных ферментов и процессов перекисного окисления липидов в развивающейся икре черноморского бычка-кругляка // Онтогенез. - 1994. - Т. 25, N 3. - С. 13-20.
18. Руднева-Титова И. И. Динамика активности антиоксидантных ферментов в процессе раннего онтогенеза некоторых видов Черноморских рыб // Укр. биохим. журн. - 1995. - Т. 67, N 1. - С. .
19. Руднева-Титова И. И. Липидный состав и перекисное окисление липидов в сыворотке крови хрящевых и костистых рыб Черного моря // Журн. эвол. биохимии и физиологии. - 1995. - Т. 31, N 1. - С.
20. Поликарпов Г. Г., Тимушук В. И., Спиранди О. В., Руднева И. И., Сергеева Л. М. Способ выращивания листового рачка *Artemia salina* L. // А.с. 413575 СССР 6 МК4 АОКБ1/00.
21. Руднева И. И. Изменение белкового состава крови черноморского бычка-кругляка при действии различных доз гамма-облучения // Рукопись. Деп. в ВИНТИ, 28.10.86., N 7424-В 86. - 18 С.
22. Руднева И. И. Действие ионизирующих излучений на белковый обмен морских рыб // Ред. ж. "Радиобиология" АН СССР. - М., 1987. - 14 С. - Деп. в ВИНТИ, 6.04.87 N 2444 В-87.
23. Руднева I. I. Соркіна Д. О. Порівняльна характеристика білкового складу сироватки крові деяких видів Чорноморських риб // З Укр. біохімічний с'їзд: Тези стендових повідомлень. Донецьк, 1977. - С. 296-297.
24. Цыпутина В. Г., Руднева И. И. Влияние загрязнения на цитогенетические и биохимические показатели *Marinogammarus*

- olivii* (Amphipoda) // Биология шельфовых зон мирового океана: Тез. докл. 2 Всес. конф. по морской биологии. Владивосток, 1982. - Ч. 3. - С. 152-153.
25. Руднева И. И. Влияние ионизирующей радиации на состав и свойства металлопротеидов крови черноморского бычка-кругляка // Состояние, перспективы улучшения и использования морской экологической системы прибрежной части Крыма: Тез. науч. - практ. конф., посвященной 200-летию Севастополя. Севастополь, 1983. - С. 173.
26. Руднева И. И. Влияние ионизирующей радиации на комплексобразовательную функцию белков крови морских рыб // Всес. конф. по действию малых доз ионизирующих излучений: Тез. докл., Севастополь, окт. 1984. - Киев. - 1984. - С. 85-86.
27. Поликарпов Г. Г., Руднева И. И. Металлопротеиды крови как показатели устойчивости морских организмов в экстремальных условиях среды // Тез. докл. 4 Междунар. симпозиума по гомогенному катализу. - Ленинград. - 1984. - Т. 4. - С. 273-274
28. Polikarpov G. G., Egorov V. N., Zesenko A. J., Csezugina V. G., Kulebakina L. G., Risic N. S., Ryindina D. D., Lazorenko G. E., Radchenko L. A., Rudneva I. I., Parhomenko A. V., Demina N. V., Fedoric S. M. Mechanisms of radioecological processes, their models and radiation effects in the hydrobionts of the Black Sea // Role of microorganisms on the behaviour of radionuclids in aquatic and terrestrial systems and their transfer to man: Proc. of the Workshop held in Brussels 25- 27 April 1984. - P. 51-52.
29. Rudneva I. I. Composition changes of proteins and protein complexes during *Artemia* ontogenesis // 2 Int. Symp. on the Brine Shrimp *Artemia*. Antwerpen (Belgium), Sept. 1-5, 1985. - Antwerpen. - 1985. - P. 104.
30. Руднева И. И. Действие гамма-облучения на синтез белков в печени морских рыб // Механизмы действия ионизирующих из-

- лучений на структуру и функции белков: Тез. докл. Всес. совещ., Львов, 25-27 сент. 1986. - Пушино. - 1986. - С. 67-68.
31. Руднева И. И. Биохимический состав яиц артемии из различных соленых водоемов Крыма // Гидробиол. исследования на Украине в XI пятилетке: Тез. докл. конф. Укр. филиала Всес. гидробиол. общества. - Киев. - 1987. - С. 65-66.
32. Руднева И. И., Сергеева Л. М. Биохимический состав морских одноклеточных водорослей, используемых в качестве корма при культивировании артемии // Актуальные проблемы современной альгологии: Тез. докл. 1 Всес. конф. Киев. - 1987. - С. 238-239.
33. Нехорошев М. В., Руднева И. И., Усс Ю. А. Биохимическая характеристика черноморской мидии как источника пищевой, кормовой и лечебной продукции // Тез. докл. междунар. симп. по проблемам-марикультуры в соц. странах. Москва, 1989. - С. 76-77.
34. Руднева И. И. Изменение активности некоторых антиоксидантных ферментов в процессе развития икры двух видов черноморских рыб // Тез. докл. 5 Всес. конф. по раннему онтогенезу рыб. Астрахань, 1-3 окт. 1991 г. Москва: Из-во Минрыбхоза СССР. - 1991. - С. 98-100.
35. Руднева И. И., Усс Ю. А. Характеристика антиоксидантной активности и перекисного окисления липидов в развивающихся яйцах черноморской акулы // Там же. - С. 97-98.
36. Гордина А. Д., Миронов О. Г., Руднева И. И. Влияние антропогенного фактора на рыбохозяйственное состояние Севастопольской бухты // Всес. совещ. по рыбохозяйственной токсикологии, Санкт-Петербург. - 1991. - Т. 1. - С. 123-124.

Руднева-Титова I. I. Антиоксидантні системи морських тварин в процесі їх онтогенезу, еволюції та при дії антропогенних факторів.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора біологічних наук по спеціальності 03.00.04 - біохімія. Харківський медичний університет, Харків, 1994.

Захищаються 36 наукових робіт і авторське свідчення, які посвячені дослідженню прооксидантно-антиоксидантної системи морських тварин (моллюсків, ракоподібних та риб) в процесі їх філо- і онтогенезу та при дії антропогенних факторів (важких металів, нафтопродуктів, ПХБ, іонізуючого випромінювання). Встановлено, що компоненти прооксидантно-антиоксидантної системи, які характеризують адаптаційний потенціал морських тварин, пройшли еволюцію як єдине ціле, яке відображає становлення механізмів регуляції відношень організм-середовище. Показано, що формування прооксидантно-антиоксидантної системи морських тварин проходить на ранніх стадіях ембріогенезу та залежить от філогенетичних, морфологічних і екологічних особливостей таксону. Відповідна реакція прооксидантно-антиоксидантної системи морських тварин на будь-яку дію носить універсальний, неспецифічний характер і спрямована на підтримку балансу $AOA \rightleftharpoons ПОЛ$, характерного для даного таксону.

Ключевые слова: прооксидантно-антиоксидантная система, морские животные, активность ферментов, перекисное окисление липидов, антропогенное воздействие.

Rudneva-Titova I. I. Antioxidant systems of marine animals during their evolution, ontogenesis and upon the effects of anthropogenic factors.

The thesis for doctor's degree for speciality 03.00.04 Biochemistry. Harkov Medical University, Harkov, 1994.

It is defending 36 articles and 1 patent, in which it has been studied the formation of prooxidant-antioxidant system in marine animals (molluscs, crustacea and fishes) during their phylo- and ontogenesis and upon the effects of anthropogenic factors (heavy metals, oil, PCB, ionizing radiation). It has been established that the all components of prooxidant-antioxidant system characterising the adaptive potential of marine animals evolved as the whole, which reflect the formation of regulative mechanisms of interactions organism--environment. It was showed that the formation of prooxidant-antioxidant system of hydrobionts takes place during the early stages of embryogenesis and it depends on the phylogenetic, morphological and ecological peculiarities of taxon. The reciprocal reaction of prooxidant-antioxidant system of marine animals on the different effects is general and nonspecific, it is directed for the maintenance of antioxidant activity \rightleftharpoons lipid peroxidation balance, characterising of each taxon.

Pygocula - Turda