

УДК 594.141:574.64

**ВПЛИВ ЙОНІВ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ НА МИГОТЛИВИЙ ЕПІТЕЛІЙ
*BATAVUSIANA MUSIVA (MOLLUSCA: UNIONIDAE)***

Т. Єрмошина

*Житомирський державний університет імені Івана Франка
вул. В. Бердичівська, 40, Житомир 10008 Україна*

Досліджено вплив йонів важких металів на клітини миготливого епітелію *Batavusiana musiva*. У моллюсків за наявності у водному середовищі йонів важких металів розвивається патологічний процес, який має фазний характер. Виявлено фази нейтральності, підвищення активності, депресії, сублетальну і летальну. Йони важких металів викликають компенсаторні процеси у тканині миготливого епітелію перлівниці. Найслабше компенсація виражена за дії йонів кадмію, а найсильніше – за дії йонів хрому.

Ключові слова: перлівницеві, миготливий епітелій, тривалість биття віїнок, важкі метали.

Небезпечність важких металів для гідробіонтів пов'язана з багаторічним збереженням їх у водних екосистемах і біологічною активністю багатьох із них. Після надходження у навколишнє середовище важкі метали включаються у біогеохімічний цикл, змінюючи свій фізико-хімічний стан (форму перебування у водному середовищі) через процеси гідролізу, комплексоутворення, адсорбції, осадження. Біологічно доступними для водних тварин є розчинені форми металів, які швидко потрапляють у їх організм. При цьому токсичний вплив на гідробіонтів проявляють, головним чином, так звані вільні (гідратовані) йони важких металів. Значна частина кадмію, цинку і хрому мігрує у водоймі в розчиненому стані [2, 3]. Розчинені форми металів засвоюються безпосередньо з води на межі активного контакту організму з навколишнім водним середовищем, головним чином, у зябрах. Потрапляючи в організм гідробіонтів, важкі метали зв'язуються з реактивними групами білкових макромолекул та інших біологічно активних речовин (ферментів, гормонів), через що впливають на обмін фізіологічно важливих речовин. Тривале забруднення водойм невеликими концентраціями важких металів призводить до появи у двостулкових моллюсків, зокрема у перлівницевих, морфологічних [6] і біохімічних пристосувальних реакцій (утворення металотіонеїнів) [7]. Проте, накопичуючи важкі метали, моллюски потерпають від них навіть тоді, коли концентрація їх у воді незначна (нижче порогової) і, крім того, самі стають токсично небезпечними.

Матеріалом служили 110 екз. перлівниці *Batavusiana musiva gontieri* Bourguignat, 1881, зібраної в басейні р. Уж у період з січня до травня 2002 р. Об'єктом дослідження були ізольовані препарати миготливого епітелію зябер і переднього краю ноги цих моллюсків. У токсикологічних дослідах використано хлориди хрому, кадмію і цинку. Дослід проведено за описаною раніше методикою [9]. За допомогою мікроскопа БІОЛАМ Р-15 (×203) встановлювали час повного пригнічення активності віїнок миготливого епітелію, який позначили як показник тривалості їх биття. Допоміжним показником слугувала частота биття віїнок (кількість ударів за 1 хв), яку підраховували у затіненому полі зору за допомогою мікроскопа БІОЛАМ Р-15 (×450), користуючись секундоміром.

Важкі метали обумовлюють неспецифічний механізм реагування гідробіонтів (реакція уникнення) у відповідь на зміни, викликані цими забруднювачами. Через те,

що перлівниці є малорухомими організмами, вони намагаються уникнути токсичного впливу важких металів, посилено переганяючи воду війками миготливого епітелію. Про це свідчить збільшення частоти биття війок на початку процесу отруєння. У *B. musiva* статистично вірогідне зростання значення цього показника для зябрового миготливого епітелію на 7,3–9% зафіксоване за концентрації 3–10 мг/дм³ йонів хрому, 1–3 мг/дм³ йонів цинку, 0,5 мг/дм³ йонів кадмію у розчині. Підвищення частоти биття війок миготливого епітелію ноги цього моллюска на 5,9–11,1% спостерігається за 5–10 мг/дм³ Cr³⁺, 1 мг/дм³ Zn²⁺, за 0,3–0,5 мг/дм³ Cd²⁺.

Д. М. Насонов [4, 5], досліджував залежність часу збереження збудливості ізольованих м'язів жаби від концентрації різних хімічних речовин. Було виявлено два типи реакції тканин на хімічні речовини.

Вплив інгібіторів ферментів отримав назву непорогового. Він характеризується тим, що за підвищення концентрації агента час збереження збудливості м'язів скорочується поступово. На графіку з логарифмічними шкалами ця залежність має вигляд прямої.

Другий тип реакції, яка має назву порогової, спостерігається за впливу солей, спиртів, ефірів. Поступове підвищення концентрації цих речовин до певної межі майже не скорочує час збереження збудливості м'язової тканини порівняно з контролем, а після досягнення певної величини він різко зменшується. На логарифмічному графіку така залежність виражається S-подібною кривою. Остання простежується також у реакції клітин миготливого епітелію *Mytilus edulis* і *Unio crassus* на вплив таких самих хімічних речовин [10, 11]

Аналогічний тип реакції у клітин миготливого епітелію на дію йонів важких металів виявили і ми у дослідженого нами представника родини *Unionidae*. На кожному з логарифмічних графіків наявний невеликий прямий відрізок, який відображає непорогову залежність тривалості биття війок від концентрації токсиканта (рис. 1). Цей прямий відрізок відображає реакцію білкових комплексів клітин на негативну дію важких металів. У зоні відносно низьких концентрацій (у діапазоні 1–5·10⁻⁴ г/дм³ йонів хрому, 4–3·10⁻³ г/дм³ йонів цинку, 4–5·10⁻² г/дм³ йонів кадмію) є ділянка, де крива відхиляється у бік більш високих значень тривалості биття війок порівняно з ділянкою дії високих концентрацій. Між цією частиною кривої і продовженням відрізка кривої в ділянці дії високих концентрацій лежить зона компенсації: таке відхилення від прямої є проявом компенсаційних процесів у тканинах, які знижують пошкоджуючу дію агентів і зменшують процеси руйнування білкових компонентів протоплазми клітин [8].

Йони різних важких металів викликають різного ступеня прояв компенсаційних процесів у тканині. Найслабше компенсація виражена за дії йонів кадмію, а найсильніше – за дії йонів хрому. Пороговий характер кривої залежності тривалості биття війок миготливого епітелію від дії йонів кадмію проявляється менш різко, ніж від дії йонів хрому і цинку. Для зябрового миготливого епітелію за дії йонів хрому та цинку характерна більша зона компенсації порівняно з миготливим епітелієм ноги. Вплив йонів кадмію викликає майже однакову за проявом компенсаційну реакцію миготливого епітелію зябер і ноги. Компенсуючий ефект виявлений у широкій зоні використаних у досліді концентрацій. Це вказує на потужні механізми протидії клітин миготливого епітелію токсичному впливові важких металів.

Йони важких металів викликають зміни у функціонуванні війок миготливого епітелію, що можна розглядати як один із симптомів патологічного процесу, зумовленого отруєнням моллюсків іонами важких металів. Цей процес носить фазний характер (рис. 2).

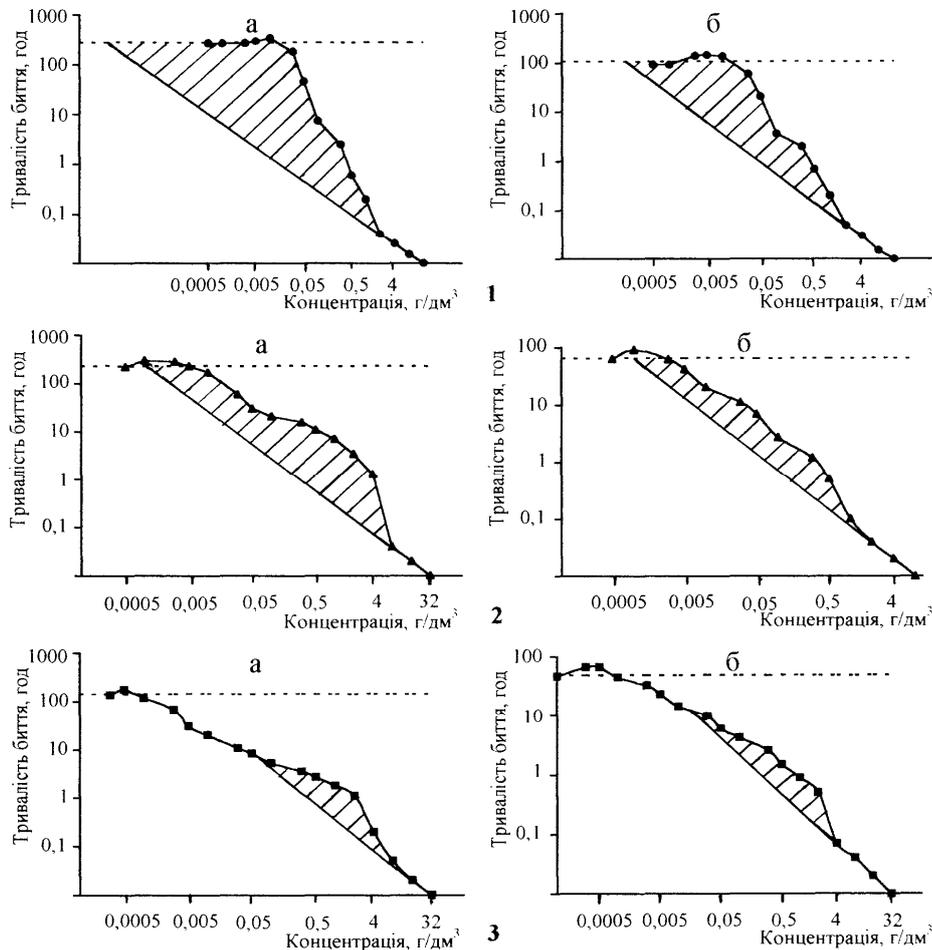


Рис. 1. Залежність тривалості биття війок миготливого епітелію зябер (а) і ноги (б) *B. musiva* від концентрації йонів хрому (1), цинку (2), кадмію (3) в розчині. Обидві шкали логарифмічні. Горизонтальна штрихова лінія – тривалість биття війок у розчині Рінгера. Нахилена пряма лінія – екстраполяція непорогової залежності між концентрацією агента і тривалістю биття війок в область низьких концентрацій. Заштриховано зону компенсації.

Перша фаза – це фаза нейтральності. Вона зафіксована за дії на молюсків $5 \cdot 10^{-4}$ – $1 \cdot 10^{-3}$ г/дм³ Cr^{3+} , $3 \cdot 10^{-4}$ – $5 \cdot 10^{-4}$ г/дм³ Zn^{2+} , $1 \cdot 10^{-4}$ – $3 \cdot 10^{-4}$ г/дм³ Cd^{2+} у розчині. У межах цих концентрацій не зареєстровано змін у роботі війок миготливого епітелію.

Друга фаза – це фаза підвищення активності. На цьому етапі процесу отруєння мобілізуються захисні властивості організму й активуються відповідні фізіологічні та біохімічні процеси. Концентрації $1 \cdot 10^{-3}$ – $3 \cdot 10^{-2}$ г/дм³ йонів хрому, $5 \cdot 10^{-4}$ – $3 \cdot 10^{-3}$ г/дм³ йонів цинку, $3 \cdot 10^{-4}$ – $5 \cdot 10^{-4}$ г/дм³ йонів кадмію викликають збільшення тривалості биття війок миготливого епітелію на 25,7–41,7% порівняно з контролем.

Найтоксичнішим із досліджених йонів важких металів для клітин миготливого епітелію перлівницевих є кадмій. Концентрації його у середовищі, котрі виклика-

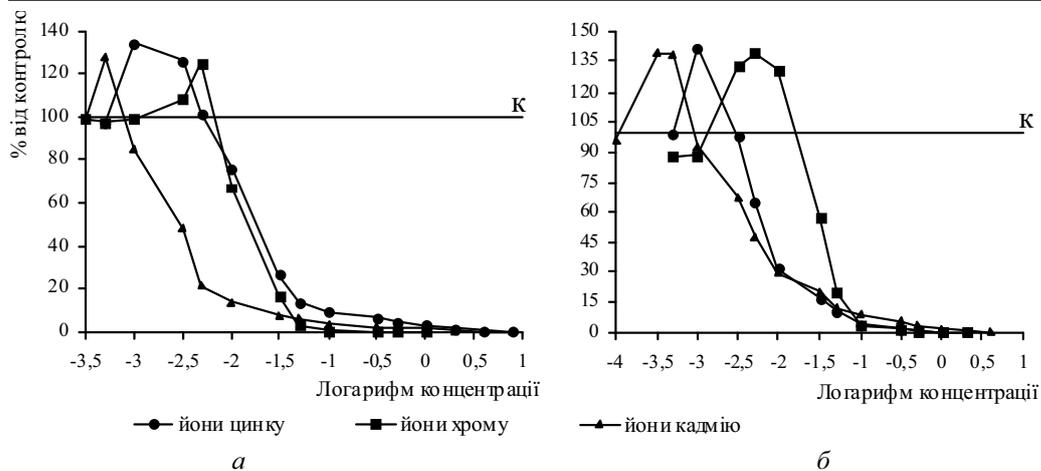


Рис. 2. Залежність тривалості биття війок миготливого епітелію зябер (а) і ноги (б) *B. musiva* (% від контролю) від концентрації йонів важких металів у розчині.

ють початкові стадії процесу отруєння, та концентрації йонів кадмію, що спричиняють різке скорочення тривалості биття війок миготливого епітелію, набагато менші, ніж концентрації йонів хрому та цинку. Незважаючи на той факт, що цинк вважається найменш токсичним для гідробіонтів серед обраних важких металів, отримані нами відомості свідчать, що миготливий епітелій має до нього вищу чутливість, ніж до хрому.

Третя фаза процесу отруєння – депресія. Вона відповідає концентраціям $3 \cdot 10^{-2}$ – $2 \text{ г/дм}^3 \text{ Cr}^{3+}$, $3 \cdot 10^{-2}$ – $8 \text{ г/дм}^3 \text{ Zn}^{2+}$, $5 \cdot 10^{-4}$ – $8 \text{ г/дм}^3 \text{ Cd}^{2+}$. У межах цих концентрацій відбувається скорочення тривалості биття війок миготливого епітелію порівняно з контролем.

Четверта і п'ята фази, які зазвичай швидко йдуть одна за одною, – це сублетальна і летальна. Вони спостерігаються за 2 – $16 \text{ г/дм}^3 \text{ Cr}^{3+}$, 8 – $32 \text{ г/дм}^3 \text{ Zn}^{2+}$, 8 – $64 \text{ г/дм}^3 \text{ Cd}^{2+}$ у розчині. На першій з них відбувається миттєве припинення биття війок миготливого епітелію після стикання досліджуваного матеріалу з розчином токсиканта, на другій – воно відсутнє.

Найбільші руйнування клітин миготливого епітелію спостерігаються за дії на молюсків кадмію. Хром і цинк викликають невеликі зміни в клітинних мембранах [12]. Катіони важких металів у розчині концентруються поблизу поверхні цитоплазматичної мембрани, утворюючи подвійний електричний шар. Вони знижують величину поверхневого потенціалу і підвищують проникність мембрани. Внаслідок цього спостерігається масова втрата клітинами йонів Mg, Ca, K, необхідних для нормальної життєдіяльності [13]. Падіння потенціалу на мембрані призводить до розладнання дихання і фосфорилування [1]. Зменшення метаболічної активності (а саме: зниження дегідрогеназної активності та вмісту АТФ), супроводжується сповільненням биття війок миготливого епітелію.

Порушення йонами важких металів цитоплазматичної мембрани клітин миготливого епітелію зафіксовано також нами. На початкових етапах руйнування цих структур за дії летальних концентрацій вказаних токсикантів спостерігається вихід цитоплазми назовні крізь пошкоджені ділянки клітинних мембран. Цей процес посилюється в умо-

вах тривалої дії високих концентрацій йонів важких металів і ускладнюється поступовим відокремленням клітин одна від одної.

Отже, завдяки наявності морфологічних і біохімічних пристосувань перлівниці можуть існувати, зберігаючи життєздатність, у середовищі, параметри якого перебувають поза межами оптимальних для цих моллюсків. Однак різка зміна водного середовища, викликана інтенсивним зростанням концентрації йонів важких металів, неодмінно призведе до сповільнення темпів росту та скорочення тривалості життя перлівницьких, а надалі – до повного зникнення популяції у забрудненій акваторії.

1. *Кагава Ясуо*. Биомембраны / Пер. с яп. А. А. Селищевой. М.: Высш. шк., 1985. 303 с.
2. *Линник П. Н.* Тяжёлые металлы в поверхностных водах Украины: содержание и формы миграции // Гидробиол. журн. 1999. Т. 35. № 1. С. 22–42.
3. *Линник П. Н., Чубар Н. И.* Органические комплексные соединения железа и хрома в водохранилищах Днепра и их химическая природа // Гидробиол. журн. 1996. Т. 35. № 6. С. 61–69.
4. *Насонов Д. Н.* Контрактуры поперечнополосатых мышц, полученные действием изоамилового спирта // ДАН СССР. 1948. Т. 63. № 5. С. 597–600.
5. *Насонов Д. Н.* Контрактуры поперечнополосатых мышц, вызванные действием сулемы // ДАН СССР. 1949. Т. 64. № 4. С. 595–598.
6. *Оскольская О. И., Тимофеев В. А., Мусеев Д. В.* Морфологические и биохимические характеристики *Mytilus galloprovincialis* из различных по экологическим условиям районов акватории Карадага // Эколого-функциональні та фауністичні аспекти дослідження моллюсків, їх роль у біоіндикації стану навколишнього середовища: Зб. наук. праць. Житомир: Волинь, 2004. С. 134–137.
7. *Столяр О. Б., Міщук О. В., Михайлів Р. Л.* Висока ефективність відповіді металотіонеїнів та антиоксидантного захисту двостулкового моллюска *Anodonta cygnea* на дію йонів міді // Эколого-функциональні та фауністичні аспекти дослідження моллюсків, їх роль у біоіндикації стану навколишнього середовища: Зб. наук. праць. Житомир: Волинь, 2004. С. 214–216.
8. *Ушаков Б. П.* О механизме адаптации клеток животных // Цитология. 1959. Т. 1. № 1. С. 35–47.
9. *Черномаз Т. В.* Реакция клеток мерцательного эпителия перловицевых моллюсков на действие тяжелых металлов // Гидробиол. журн. 2003. Т. 39. № 6. С. 90–94.
10. *Шляхтер Т. А.* Реакция клеток мерцательного эпителия перловицы на действие ингибиторов ферментов // Цитология. 1965. Т. 7. № 2. С. 212–218.
11. *Шляхтер Т. А.* Реакция клеток мерцательного эпителия мидий на действие различных химических агентов // Цитология. 1967. Т. 9. № 4. С. 425–431.
12. *Gabridge M. G., Dougherty E. P., Gladd M. F. et al.* Effects of heavy metals on structure, function and metabolism of ciliated respiratory epithelium *in vitro* // In Vitro. 1982. Vol. 18 (12). P. 1023–1032.
13. *Gadd G., Gadd M., Mowll J. L.* The relationship between cadmium uptake potassium release and viability in *Saccharomyces cerevisiae* // FEBS Microbiol. Letteres. 1983. N 16. P. 45–48.

**EFFECT OF IONS OF THE HEAVY METALS ON THE CILIATED
EPITHELIUM OF *BATAVUSIANA MUSIVA***

T. Ermoshyna

*Ivan Franko State University of Zhytomir
40, V. Berdychivska St., Zhytomir 10008, Ukraine*

The effect of ions of the heavy metals on cells of the ciliated epithelium of *Batavusiana musiva* is investigated. A presence ion of the heavy metals in solution leads to beginning of patalogical process which has phase character. Phases of indifference, increase of activity, depression, sublethal and lethal are revealed. Ions of heavy metals cause compensatory processes in an investigated tissue. Most poorly compensation is expressed at action of ions of cadmium, and the strongest – at action of ions of chrome.

Key words: Unionidae, ciliated epithelium, duration of ciliary beating, heavy metals.

Стаття надійшла до редколегії 20.11.07

Прийнята до друку 11.01.08