

УДК 594: 124: 094. 3 (262.5)

## АКТИВНІСТЬ ОЧИЩЕНИХ ПИРУВАТДЕГІДРОГЕНАЗНОГО ТА 2-ОКСОГЛУТАРАТДЕГІДРОГЕНАЗНОГО КОМПЛЕКСІВ ТА РІВЕНЬ В НИХ SH-ГРУП ЗА ДІЇ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ

**Семенова О.О.<sup>1</sup>, Будняк О.К.<sup>2</sup>, Петров С.А.<sup>2</sup>**

1 – Український НДІ медицини транспорту, м. Одеса,

2 – Одеський національний університет ім. І.І. Мечникова, Одеса,  
masterkristi@rambler.ru

Вивчена активність очищених пируватдегідрогеназного та 2-оксоглутаратдегідрогеназного мультиензимних комплексів і визначена кількість в них вільних SH-груп в умовах дії хлоридів кадмію, міді та свинцю. Проведені дослідження показали значні зміни активностей мультиензимних комплексів неспецифічного окислення субстратів та рівня вільних SH-груп.

**Ключові слова:** важкі метали, активність мультиензимних комплексів, рівень SH-груп.

У світовій літературі накопичена значна кількість даних по вивченню дії важких металів на гідробіонти, зокрема молюсків. Значна частина цих досліджень присвячена виживанню молюсків за дії важких металів у морській воді, впливу на їх фізіологічні функції впливу на активність різних ферментів накопиченню окремих речовин в тканинах молюсків [1, 2, 3, 4, 5, 6, 7].

Відомо, що у основі реагування молюсків та інших організмів на будь який стрес, в тому числі надходження токсичних речовин, лежить система захисту, зв'язана з окислювальними здібностями ферментативних систем організму [8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15].

Використання біохімічних тестів дозволяє вивчити механізми дії сполук важких металів на процеси метаболізму організмів, зокрема активність дегідрогеназ ЦТК, виявити умови, при яких накопичуються кількості важких металів, необхідні для проявлення їх токсичної дії, виявити зміни, що здійснюються у ферментативних системах молюсків, зокрема чорноморських мідій за дії стресорів. Такий напрям досліджень має важливе значення для оцінки змін у обміні речовин у гідробіонтів, які наступають до появи морфологічних, популяційних відхи-

лень від норми.

Аналогічних робіт, подібних нашим дослідженням, проведено не було.

Метою нашої роботи було дослідження активності очищених пируватдегідрогеназного та 2-оксоглутаратдегідрогеназного мульти-ензимних комплексів виділених з гепатопанкреаса мідій та рівня в них вільних SH-груп за дії хлоридів важких металів.

### Матеріали та методи дослідження

В якості об'єктів дослідження були вибрані чорноморські мідій *Mytilus galloprovincialis Lam.* чорної морфи, розміром 4-5 см. Мідій були виловлені у літні місяці. Чисельність осіб була більше 1000 екземплярів, після відлова мідії транспортувалися у лабораторію, де їх розміщували у акваріуми. Період адаптації був 5 днів, після чого молюски використовували для експериментів.

Вивчався вплив 0,1 мкг/мл; 1,0 мкг/мл та 10,0 мкг/мл концентрацій хлоридів Cu, Cd, Pb

Активність дегідрогеназ ЦТК визначали по відновленню ферриціаніду калія до ферроціаніда при окисленні ендогенних субстратів і субстратів ЦТК [16]. Зменшення екстинції в пробі реєстрували на спектрофотометрі при 417 нм.

При визначенні окислення ендогенних субстратів замість субстрату окислення вносили 0,4 мл 33 % сахарози. В якості стандарту використовували інкубаційне середовище, де замість гомогената тканини вносили 0,4 мл 33 % сахарози.

В основі методу визначення SH-груп лежить реакція тіол-дисульфідного обміну; в ході якої звільняється аніон 2-нітро-5-тіобензоата, що поглинає при 412 нм. Зазвичай реакцію проводять при лужних значеннях рН (рН 8,0-9,0). Описуваний метод високочутливий і строго специфічний і може використовуватися для визначення кількості сульфгідрильних груп і низькомолекулярних тіолів, нативних і денатурованих білках.

Описане визначення кількості сульфгідрильних груп проводили в присутності денатуруючих білки агентів (6 М гуанідінхлорид або 8 М сечовина). У цих умовах відбувається повна денатурація білка і вдається визначити сумарну кількість сульфгідрильних груп, що припадають на моль білка. Знаючи, що в ході реакції модифікації однієї сульфгідрильної групи супроводжується звільненням одного аніона на 2-нітро-5-тіобензоата, можна, визначивши оптичну щільність при 412 нм і знаючи коефіцієнт молярної екстинкції 2-нітро-5-тіобензоата, визначити концентрацію сульфгідрильних груп в аналізованому інкубаційному середовищі.

Визначення SH-груп проводили в такий спосіб: у пробу (кінцевий обсяг 10 мл) вносили 3 мл білкового розчину, 2 мл 0,2 М фосфатного буфера (рН 8) і 5 мл води (проба А). Пробу швидко перемішували, при цьому розвивається жовте забарвлення. Через 2 хв. оптичну щільність проб вимірювали на спектрофотометрі при 412 нм. Таким чином можна визначити швидкореагуючий SH-групи білка. Якщо в досліджуваному білку є повільно реагуючі SH-групи, то забарвлення може розвиватися протягом більш тривалого часу. Вимірювання оптичної щільності проводили через кожні 5 хв. до

тих пір, поки її значення не було постійним.

Вимірювання величин оптичної щільності дослідної проби проводили проти контрольної проби, в яку замість реактиву Еллмана було додано 0,02 мл води. Вміст тіолових груп знаходили за формулою;

$$Co = \frac{A}{\epsilon} \cdot D,$$

де  $Co$  — іскома концентрація SH-груп (моль/л);  $A$  — приріст оптичної щільності дослідної проби за час, достатній для завершення реакції;  $\epsilon$  — коефіцієнт молярної екстинкції ТНФА ( $\epsilon = 11400$ );  $D$  — фактор розведення.

Отримані результати були опрацьовані методами варіаційної статистики з використанням пакету прикладних статистичних програм "STATGRAPHICS" и метода Стьюдента

### Результати та їх обговорення

Для визначення прямої або опосередкованої через тканеві фактори дії важких металів на піруватдегідрогеназний та 2-оксоглутаратдегідрогеназний мультиензимні комплекси гепатопанкреасу чорноморських мідій були отримані очищені ферменти та визначена дія на них хлоридів міді, кадмію та свинцю.

Результати досліджень представлені на рис. 1-2.

Як бачимо з рис. 1, концентрації  $CuCl_2$  в інкубаційному середовищі 0,1 мкг/мл і 1,0 мкг/мл призводять до суттєвого пригнічення активності мультиензимного піруватдегідрогеназного комплексу. Так якщо в контролі вище вказана величина становила 265,1 нмоль  $K_3[Fe(CN)_6]$  / (мг білка · хв.), то внесення в середовище  $CuCl_2$  в концентрації 0,1 мкг/мл призводило до зниження активності ферменту на 85,63 % — до 38,1 нмоль  $K_3[Fe(CN)_6]$  / (мг білка · хв.). Подальше збільшення концентрації  $CuCl_2$  до 1,0 мкг/мл призвело до ще більшого зниження на активність ферменту — до 28,6 нмоль  $K_3[Fe(CN)_6]$  / (мг білка · хв.).

Із збільшенням концентрації  $\text{CuCl}_2$  до 10,0 мкг/мл активність мульти-ензимного піруватдегідрогеназного комплексу дещо збільшилася і становила 32,4 нмоль  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$  / (мг білка · хв.).

Паралельно з активністю ферменту в присутності солей важких металів ми визначали неспецифічне окислення. Під неспецифічним окисленням ми розуміємо окислення субстрату в присутності інактивованого кип'ятінням ферменту. Цей показник у контрольних зразках становив 68,7 нмоль  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$  / (мг білка · хв.). При внесенні в інкубаційну пробу 0,1 мкг/мл  $\text{CuCl}_2$  він істотно знизився і становив 7,63 нмоль  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$  / (мг білка · хв.). При внесенні великої концентрації  $\text{CuCl}_2$  — 1,0 мкг/мл зазначений показник підвищувався до 11,4 нмоль  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$  / (мг білка · хв.).

У максимальній концентрації  $\text{CuCl}_2$  10,0 мкг/мл показник неферментативного окислення знову знизився на 16,32 % в порівнянні з попереднім до 9,5 нмоль  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$  / (мг білка · хв.), що становило 13,89 % від реєстрованого в контрольних зразках. Як видно з рис. 1, збільшення концентрації  $\text{CdCl}_2$  в інкубаційній пробі від 0,1 мкг/мл до 10,0 мкг/мл призводить до істотного пригнічення активності мультиензимного піруватдегідрогеназного комплексу. Так, зокрема, якщо в контролі ця величина становила 265,1 нмоль  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$  / (мг білка · хв.), то при внесенні в середовище  $\text{CdCl}_2$  в концентрації

0,1 мкг/мл приводила до зниження активності ферменту до 209,8 нмоль  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$  / (мг білка · хв.). Збільшення концентрації  $\text{CdCl}_2$  до 10,0 мкг/мл середовища привело до ще більшого зниження активності ферменту — до 93,5 нмоль  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$  / (мг білка · хв.).

Паралельно з активністю ферменту у присутності солей важких металів нами визначалась неспецифічне окислення. Під неспецифічним окисленням ми розділили окислення субстрату у присутності інактивованого кип'ятінням ферменту.

Показник неспецифічного окислення при зростанні концентрації  $\text{CdCl}_2$  також знижувався. Так при, концентрації  $\text{CdCl}_2$  0,1 мкг/мл він склав 51,5 нмоль  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$  / (мг білка · хв.). При концентрації  $\text{CdCl}_2$  до 1,0 мкг/мл він зменшився майже вдвічі і становив 26,7 нмоль  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$  / (мг білка · хв.), і ще вдвічі зменшувалася при концентрації 10,0 мкг/мл — 11,4 нмоль  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$  / (мг білка · хв.).

Як видно з рис. 1, збільшення концентрації  $\text{PbCl}_2$  в інкубаційному середовищі від 0,1 мкг/мл до 10,0 мкг/мл призводило до значного зниження активності мультиензимного піруватдегідрогеназного комплексу.

У контрольних зразках активність ферменту становила 265,1 нмоль  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$  / мг білка · хв, у варіантах з концентрацією  $\text{PbCl}_2$  0,1 мкг/мл — 127,8 нмоль  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$  / (мг білка · хв.) (48,20

% від контролю), у варіантах з концентрацією  $\text{PbCl}_2$  1,0 мкг/мл — 106,8 нмоль  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$  / (мг білка · хв.) (40,28 % від контролю) і 83,57 % від показника з концентрацією  $\text{PbCl}_2$  0,1 мкг/мл, у варіантах з концентрацією  $\text{PbCl}_2$  10,0 мкг/мл — 34,3 нмоль  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$  /

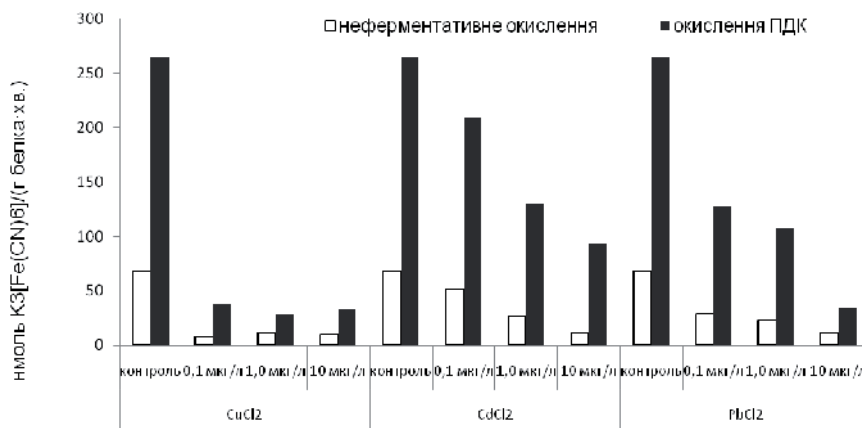


Рис. 1 Вплив різних концентрацій на активність очищеного ПДК та неспецифічного окислення

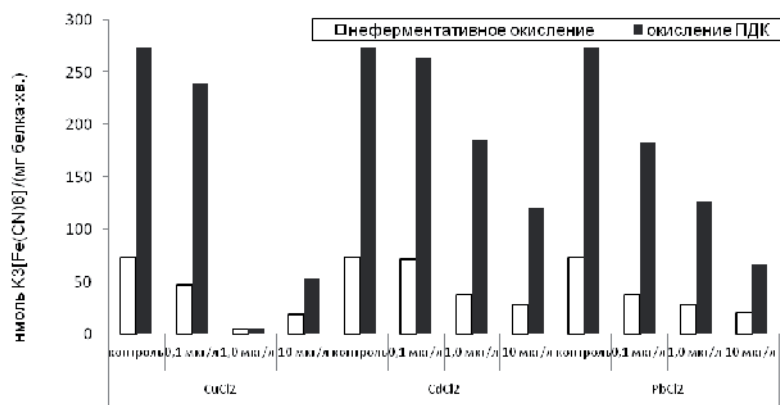


Рис. 2. Вплив різних концентрацій хлоридів важких металів на активність 2-оксоглутаратдегідрогенази та неспецифічне окислення.

(мг білка · хв.) (12,94 % від контрольних зразків) і 32,12 % від показника з концентрацією PbCl<sub>2</sub> 10,0 мкг/мл.

Паралельно із з'ясуванням активності мульензимного піруват-дегідрогеназу комплексу в присутності PbCl<sub>2</sub> визначалося неспецифічне окислення.

При концентрації PbCl<sub>2</sub> 0,1 мкг/мл, цей показник становив 28,67 нмоль K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>]/(мг білка · хв.) При концентрації 1,0 мкг/мл він зменшувався на 79,87 % і склав 22,94 нмоль K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>]/(мг білка · хв.) Більш значне зменшення встановлено у варіантах з концентрацією 10,0 мкг/мл PbCl<sub>2</sub> — 11,4 нмоль K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>]/(мг білка · хв.), що складає 49,78 % від попереднього показника.

Як видно з рис. 2, концентрація CuCl<sub>2</sub> до 0,1 мкг/мл істотно не впливала на активність 2-оксоглутаратдегідрогенази. Якщо в контрольних зразках активність цього ферменту становила 273,4 нмоль K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>]/(мг білка · хв.), то у варіанті з вищевказаною концентрацією CuCl<sub>2</sub> — 239,5 нмоль K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>]/(мг білка · хв.)

Значне зменшення активності ферменту спостерігалось у варіантах з концентрацією CuCl<sub>2</sub> до 1,0 мкг/мл активність ферменту зменшилася в 42 рази в порівнянні з попереднім варіантом і становила 5,7 нмоль K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>]/(мг білка · хв.) Іншим було вплив концентрації 10,0 мкг/мл CuCl<sub>2</sub>. Активність ферменту збільшилася в 11,2 разу і склав 52,8

нмоль K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>]/(мг білка · хв.).

Паралельно з вивченням активності ферменту 2-оксоглутарат-дегідрогенази вивчалось неспецифічне окислення. У контролі цей показник становив 73,5 нмоль K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>]/(мг білка · хв.) У присутності CuCl<sub>2</sub> в концентрації

0,1 мкг/мл активність показника зменшилася на 35,92 і 47,1 нмоль K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>]/(мг білка · хв.)

Ще більше знизилась активність вищевказаного показника в присутності CuCl<sub>2</sub> в концентрації 1,0 мкг/мл. Активність його становила 4,7 нмоль K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>]/(мг білка · хв.), Тобто на 99,79 % менше ніж у варіантах з попередньою концентрацією цього ферменту.

Присутність CuCl<sub>2</sub> в концентрації 10,0 мкг/мл; навпаки сприяло збільшенню активності процесів неспецифічного окислення більш, ніж в 4 рази, що становило 18,9 нмоль K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>]/(мг білка · хв.)

Як видно з рис. 2, збільшення концентрації CuCl<sub>2</sub> від 0,1 мкг/мл до 10,0 мкг/мл призводить до значного зменшення активності 2-оксоглутаратдегідрогенази. Так якщо в контрольних зразках цей показник становив 273,4 нмоль K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>]/(мг білка · хв.) Внесення в середу CdCl<sub>2</sub> в концентрації 0,1 мкг/мл призводило до зниження активності ферменту в порівнянні з попередніми показниками на 3,44 — до 26,40 нмоль K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>]/(мг білка · хв.), А концентрації 1,0 мкг/мл CdCl<sub>2</sub> — до 184,8 нмоль K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>]/(мг білка · хв.), тобто на 30 % порівняно з попереднім варіантом. Збільшення концентрації CdCl<sub>2</sub> до 10,0 мкг/мл призводило до ще більшого зниження активності ферменту — до 120,7 нмоль K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>]/(мг білка · хв.)

Паралельно з вивченням активності окислення 2 — оксоглутарат — дегідрогенази вивчалось неспецифічне окислення субстрату. Цей показник також під впливом  $\text{CdCl}_2$  мав тенденцію до зниження так, якщо у варіантах з концентрацією  $\text{CdCl}_2$  0,1 мкг/мл він становив 71,6 нмоль  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]/(\text{мг білка} \cdot \text{хв.})$ , що на 2,6 % менше контролю, то при внесенні в середу 1,0 мкг/мл  $\text{CdCl}_2$  — вже 37,7 нмоль  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]/(\text{мг білка} \cdot \text{хв.})$ , що на 47,35 % менше попереднього показника. При концентрації  $\text{CdCl}_2$  10,0 мкг/мл він зменшився ще на 24,93 % від попереднього і склав 28,3 нмоль  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]/(\text{мг білка} \cdot \text{хв.})$ .

Як видно з рис. 2., збільшення концентрації  $\text{PbCl}_2$  в інкубаційному середовищі від 0,1 мкг/мл до 10,0 мкг/мл призводить до суттєвого зменшення активності окислення 2-оксоглутаратдегідрогенази. У контрольних варіантах активність ферменту становила 273,4 нмоль  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]/(\text{мг білка} \cdot \text{хв.})$ , у варіантах з концентрацією 0,1 мкг/мл  $\text{PbCl}_2$  — 182,9 нмоль  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]/(\text{мг білка} \cdot \text{хв.})$ , на 33,1 % менше контролю. Ще менше активність ферменту у варіантах з концентрацією 1,0 мкг/мл  $\text{PbCl}_2$  — 126,4 нмоль  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]/(\text{мг білка} \cdot \text{хв.})$ , на 30,9 % менше попереднього варіанту.

Концентрація 10,0 мкг/мл  $\text{PbCl}_2$  ще більш гнітила активність ферменту — на 47,78 % ніж у варіантах з концентрацією 1,0 мкг/мл  $\text{PbCl}_2$ , і становила 66,0 нмоль  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]/(\text{мг білка} \cdot \text{хв.})$ .

Подібним чином зменшилася неспецифічне окислення субстратів у присутності різних концентрацій  $\text{PbCl}_2$ . Внесення в інкубаційного середовища 0,1 мкг/мл  $\text{PbCl}_2$  зменшувало цей показник і становить 37,7 нмоль  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]/(\text{мг білка} \cdot \text{хв.})$ , на 48,67 % в порівнянні з кон-

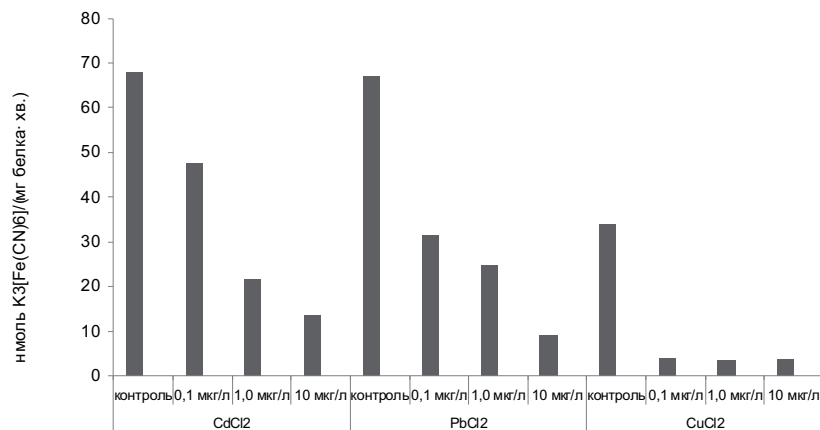


Рис. 3. Вплив різних концентрацій важких металів на вміст SH-груп у очищеній ПДК.

тролем. У варіантах з концентрацією 1,0 мкг/мл  $\text{PbCl}_2$  цей показник становив 28,3 нмоль  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]/(\text{мг білка} \cdot \text{хв.})$ , ще менше він був при внесенні в середу 10,0 мкг/мл  $\text{PbCl}_2$  — 20,7 нмоль  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]/(\text{мг білка} \cdot \text{хв.})$ .

Отримавши дані про значне інгібування активностей піруватдегідрогеназного і 2-оксоглутаратдегідрогеназного комплексів у присутності хлоридів важких металів, ми вирішили з'ясувати можливий механізм цього явища.

Добре відомо, що багато важких металів в тканинах людини і ссавців здатні пригнічувати активність цілого ряду ферментів за рахунок блокування їх SH-груп, що беруть участь прямо або опосередковано в каталітичному процесі.

Тому необхідно було з'ясувати чи має місце аналогічне явище для ферментів з тканин мідій. Для цього ми визначили кількість SH-груп в очищених ферментах піруватдегідрогенази і 2-оксоглутаратдегідрогенази в нормі і в присутності солей кадмію, міді та свинцю.

Ці данні представлені на рис. 3-4.

На рис. 3 представлені дані про вплив різних концентрацій важких металів на рівень SH-груп в очищеному препараті піруватдегідрогенази.

Як видно з даних, наведених на рис. 3, збільшення концентрації  $\text{CdCl}_2$  від 0,1 до 10,0 мкг/мл призводило до істотного зниження SH-груп у ферменті. Так

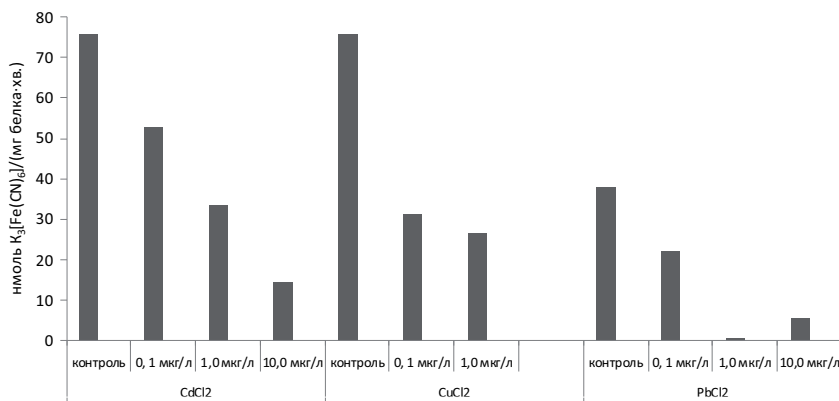


Рис. 4. Вплив різних концентрацій важких металів на вміст SH-груп у очищеній 2-ОГДК.

зокрема, якщо в контролі ця величина складала 68,0 нмоль  $K_3[Fe(CN)_6]/(мг\ білка \cdot хв.)$ , то у присутності  $CdCl_2$  в концентрації 0,1 мкг/мл вона впала до 47,7 нмоль  $K_3[Fe(CN)_6]/(мг\ білка \cdot хв.)$ .

При підвищенні концентрації цієї солі до 1,0 мкг/мл ця величина складала 21,4 нмоль  $K_3[Fe(CN)_6]/(мг\ білка \cdot хв.)$ , і при концентрації  $CdCl_2$  10,0 мкг/мл вона була мінімальною – 13,7 нмоль  $K_3[Fe(CN)_6]/(мг\ білка \cdot хв.)$ .

Аналогічна картина спостерігалася при використанні як інгібітора  $PbCl_2$  (рис. 3). Так зокрема, внесення в середовище  $PbCl_2$  в концентрації 0,1 мкг/мл зменшувало вміст SH-груп в піруватдегідрогеназе з 68,0 нмоль  $K_3[Fe(CN)_6]/мг\ білка \cdot хв.$  до 31,3 нмоль  $K_3[Fe(CN)_6]/(мг\ білка \cdot хв.)$ . Збільшення концентрації цього інгібітору до 1,0 мкг·л<sup>-1</sup> знижувало вміст SH-груп до 24,7 нмоль  $K_3[Fe(CN)_6]/(мг\ білка \cdot хв.)$ . Концентрація інгібітору 10,0 мкг/мл приводила до ще більшого падіння рівня SH-груп до 9,1 нмоль  $K_3[Fe(CN)_6]/(мг\ білка \cdot хв.)$ .

Дещо інша картина спостерігалася при використанні як інгібітора  $CuCl_2$  (рис. 3). Навіть мінімальна його концентрація в 8 разів знижувала рівень вільних SH-груп у ферменті — з 34,0 до 4,2 нмоль  $K_3[Fe(CN)_6]/(мг\ білка \cdot хв.)$ . Збільшення концентрації від 0,1 до 10,0 мкг/мл істотно не змінювало величину інгібіторного ефекту.

Аналогічне дослідження було проведене з очищеним ферментом 2-оксог-

лутаратдегідрогеназой.

При використанні як інгібітор  $CuCl_2$  отримана наступна картина. Концентрація цього інгібітору 0,1 мкг/мл знижувала вміст SH-груп у ферменті з 75,9 нмоль  $K_3[Fe(CN)_6]/(мг\ білка \cdot хв.)$  — до 52,6 нмоль  $K_3[Fe(CN)_6]/(мг\ білка \cdot хв.)$ . Збільшення концентрації  $CdCl_2$  до 1,0 мкг/мл приводило до ще більшого зменшення вмісту SH-груп у ферменті — до 33,6 нмоль  $K_3[Fe(CN)_6]/(мг\ білка \cdot хв.)$ .

Аналогічні досліди були проведені з очищеним ферментом 2 – оксоглутаратдегідрогеназой (рис. 4). Концентрація  $PbCl_2$  0,1 мкг/мл знижувала вміст SH-груп у ферменті з 75,9 нмоль  $K_3[Fe(CN)_6]/мг\ білка \cdot хв.$  — до 31,4 нмоль  $K_3[Fe(CN)_6]/(мг\ білка \cdot хв.)$ . При збільшенні концентрації інгібітору до 1,0 мкг/мл рівень SH-груп падав до 26,8 нмоль  $K_3[Fe(CN)_6]/(мг\ білка \cdot хв.)$  знижувала реєстрований показник до 14,6 нмоль  $K_3[Fe(CN)_6]/(мг\ білка \cdot хв.)$ .

При дослідженні впливу  $CuCl_2$  на рівень SH-груп у ферменті було відмічено, що при його концентрації 0,1 мкг/мл реєстрований показник знижувався з 37,9 нмоль  $K_3[Fe(CN)_6]/(мг\ білка \cdot хв.)$  – до 22,2 нмоль  $K_3[Fe(CN)_6]/(мг\ білка \cdot хв.)$ . Збільшення концентрації  $CuCl_2$  до 1,0 мкг/мл призводило до аномально різкого зниження рівня SH-груп до 0,61 нмоль  $K_3[Fe(CN)_6]/(мг\ білка \cdot хв.)$ . При концентрації інгібітору 10,0 мкг/мл рівень SH-груп складав 5,7 нмоль  $K_3[Fe(CN)_6]/(мг\ білка \cdot хв.)$ .

### Висновки

Проведені дослідження показали, що на рівні очищених ферментів ПДК і 2-ОГДК встановлено, що з усіх досліджених металів — кадмію, свинцю та міді, — найбільшу інгібуючу активність мала мідь.

Інгібування активності ПДК і 2-ОГДК відбувається за рахунок блокування SH-груп ферментів.

### Література

1. Мур Ж. В. Тяжелые металлы в природных водах. / Ж. В. Мур, С. Рамамурти — М.: Мир, 1987. — 285 с.
2. Никаноров А. М. Биомониторинг металлов в пресноводных экосистемах. / А. М. Никаноров, А. В. Жулидов. — Л.: Гидрометеоиздат, 1991. — 312 с.
3. Брень Н. В. Использование беспозвоночных для мониторинга загрязнения водных экосистем тяжелыми металлами (Обзор) / Н. В. Брень // Гидробиол. журн. — 1999. — Т. 35, № 4. — С. 75 — 87.
4. Бурдин К.С. Моллюски рода *Mytilus* как возможные показатели содержания тяжелых и переходных металлов в морской воде / К.С. Бурдин, М. В. Крупинина, И. Б. Савельев // Океанология. — 1979. — Т. 19, вып. 6. — С. 1038 — 1044.
5. Линник П. Н. Формы миграции тяжелых металлов и их действие на гидробионтов / П. Н. Линник // Эксперим. водн. токсикология. — 1986. — № 11. — С. 114 — 154.
6. O'Donnel J. R. Bioavailability of trace metals in natural waters. — / J. R. O'Donnel, B. M. Kaplan, H. E. Allen // Aquat. Toxicol. a. Hazzard Assessment. 7<sup>th</sup> Symp. Maliwaukee, Wisk 17 — 19 Apr. 1983. — Philadelphia, 1985. — P. 486 — 500.
7. Ochiai E. I., Toxicity of heavy metals and biological defence principles and applications in bioinorganic chemistry / E. I. Ochiai // J. Chem. Educ. — 2000. — V. — 72. -№ 6. — P. 479-484.
8. Гостюхина О. Л. Состояние ферментативной системы антиоксидантной защиты у черноморских мидий *Mytilus galloprovincialis* Lam. в условиях естественного окислительного стресса: коричневая морфа / О. Л. Гостюхина // Наукові записки Терноп. нац. пед. ун-т серія "Біологія". спец. випуск: гідроекологія. — 2005. — № 4 (27). — С. 52 — 54.
9. Меньшикова Е. Б. Антиоксиданты и ингибиторы радикальных окислительных процессов / Е. Б. Меньшикова, Н. К. Зенков // Успехи соврем. биол. — 1993. — Т. 113, № 4. — С. 442 — 455.
10. Солдатов А. А. Ферментативная система антиоксидантной защиты черноморского моллюска *Mytilus galloprovincialis* Lam. с пигментированными и депигментированными тканевыми структурами / А. А. Солдатов, О. Л. Александрова, И. В. Головина[и др.] // Доп. НННУ. — 2003. — № 5. — С. 162 — 166.
11. Bimelin C. Primary cell — culture of the digestive gland of the marine mussel *Mytilus edulis*: a time — course study of antioxidant — and biotransformation — enzyme activity and ultrastructural changes / C. Brimelin, R. K. Goldfarb,[et al.] // Mar. Biol. — 1999. — Vol. 135, № 1. — P. 65 — 75.
12. Da Ros L. Biomarkers and trace metals, in the digestive gland of indigenous and transplanted mussels, *Mytilus galloprovincialis*, in Venice Lagoon, Italy / L. Da Ros, C. Nanci, I. Marigomcz,[et al.] // Mar. Environ. Res. — 2000. — Vol. 50. — P. 417 — 423.
13. Gorinstein S. Antioxidants in the black mussel (*Mytilus galloprovincialis*) as an indicator of Black Sea coastal pollution / S. Gorinstein, S. Moncheva, E. Katrich,[et al.] // Mar. Poll. Bull. — 2003. — Vol. 46 — P. 1317 — 1325.
14. Ochiai E. I., Toxicity of heavy metals and biological defence principles and applications in bioinorganic chemistry / E. I. Ochiai // J. Chem. Educ. — 2000. — V. — 72. -№ 6. — P. 479-484.
15. Winston G.W. Oxidants and antioxidants in aquatic animals / G. W. Winston // Comp. Biochem. Physiol. — 1991. — Vol. 110 C. — P. 173 — 176.
16. Проссер Л. Сравнительная физиология животных. / Л. Проссер, Ф. Браун — М.: Мир, 1967. — 292 с.

### References

1. Mur G.V. Tejelue metallu v prirodnuh vodax. / G.V. Mur, S. Rammamurty — M.: Mir, 1987. — 285 s. [Рус.]
2. Nikanorov A.M. Biomanitoring metallov v presnovodnuh ekosistemax. / A.M. Nikanorov, A. V. Gylidof. — L.: Gidrometeoizdat, 1991 — 312 s. [Рус.]
3. Bren N. V. Ispolsovanie bespozvonochnuh dla monitoring zagraznenia vodnuh ekosistem tajelumi metallami (Obzor) / N. V. Bren // Gidrobiol. Jyrn. — 1999. — T. 35, № 4. — S. 75 — 87. [Рус.]
4. Byrdin K. S. Mollyski roda *Mytilus* kak vozmojnue pokazateli sodergania tajelux I presnovodnuh metallov v morskoi vode / K. S. Byrdin, M. B. Krupinena, I. B. Savelev / Okeanologia. — 1979. — T. 19, vup. 6. — S. 1038 — 1044. [Рус.]
5. Linnik P. N. Formu migracii tajelux metallov I ix deistvie na gidrobiontov / P. N.. Linnik / Eksperim. vodn. toksikologia.- 1986. — № 11.— S. 114 — 154. [Рус.]
6. O'Donnel J. R. Bioavailability of trace metals in natural waters. — / J. R. O'Donnel, B. M. Kaplan, H. E. Allen // Aquat. Toxicol. a. Hazzard Assessment. 7<sup>th</sup> Symp. Maliwaukee, Wisk 17 — 19 Apr. 1983. — Philadelphia, 1985. — P. 486 — 500.

7. Ochiai E. I., Toxicity of heavy metals and biological defence principles and applications in bioinorganic chemistry / E. I. Ochiai // J. Chem. Educ. – 2000. — V. – 72. -№ 6. — P. 479-484.
8. Gostyxina O. L. Sostoanie fermentativnoi sistimu antioksidantnoi zacitu y chernomorskix midii *Mytilus galloprovincialis* Lam. v ysloviakh estestvenogo okislitel'nogo stressa: koricnevaa morfa / O. L. Gostyxina // Naykovi zapiski Ternop. nats. ped. univer seria "Biologia". spec.. vup. Hidrobiologia. – 2005. — № 4 (27). – S. 52 – 54. [Rus.]
9. Menchekova E. B. Antioksidantu i ingibitoru radikal'nux okislitel'nux processov / E. B. Menchekova, N. K. Zenkov // Yspexi sovr. biol. T. 113, № 4. – С. 442 – 455. [Rus.]
10. Soldatov A. A. Fermentativnaa sistema antioksidantnoi zacitu chernomorskogo mollyska *Mytilus galloprovincialis* Lam. s pigmentirovannymi i depigmentirovannymi tkanevumi strykturami / A. A. Soldatov, O. L. Aleksandrova, I. V. Golovina [i dr.] // Dop. NNNY. — 2003. — № 5. – S. 162 – 166. [Rus.]
11. Bimelin C. Primary cell – culture of the digestive gland of the marine mussel *Mytilus edulis*: a time – course study of antioxidant – and biotransformation – enzyme activity and ultrastructural changes / C. Brimelin, R. K. Goldfarb, [et al.] // Mar. Biol. – 1999. – Vol. 135, № 1. – P. 65 – 75.
12. Da Ros L. Biomarkers and trace metals, in the digestive gland of indigenous and transplanted mussels, *Mytilus galloprovincialis*, in Venice Lagoon, Italy / L. Da Ros, C. Nanci, I. Marigomcz, [et al.] // Mar. Environ. Res. – 2000. – Vol. 50. – P. 417 – 423.
13. Gorinstein S. Antioxidants in the black mussel (*Mytilus galloprovincialis*) as an indicator of Black Sea coastal pollution / S. Gorinstein, S. Moncheva, E. Katrich, [et al.] // Mar. Poll. Bull. – 2003. – Vol. 46 – P. 1317 – 1325.
14. Ochiai E. I., Toxicity of heavy metals and biological defence principles and applications in bioinorganic chemistry / E. I. Ochiai // J. Chem. Educ. – 2000. — V. – 72. -№ 6. — P. 479-484.
15. Winston G. W. Oxidants and antioxidants in aquatic animals / G. W. Winston // Comp. Biochem. Physiol. – 1991. – Vol. 110 C. – P. 173 – 176.
16. Проссер Л. Сравнительная физиология животных. / Л. Проссер, Ф. Браун — М.: Мир, 1967. – 292 с. [Rus.]

Впервые поступила в редакцию 28.12.2013 г.  
Рекомендована к печати на заседании редакционной коллегии после рецензирования

## Резюме

АКТИВНОСТЬ ОЧИЩЕННЫХ ПИРУВАТДЕГИДРОГЕНАЗНОГО И 2-ОКСОГЛУТАРАТДЕГИДРОГЕНАЗНОГО МУЛЬТИЭНЗИМНЫХ КОМПЛЕКСОВ, А ТАКЖЕ УРОВЕНЬ В НИХ SH-ГРУПП В ГЕПАТОПАНКРЕАСЕ ЧЕРНОМОРСКИХ МИДИЙ ПОД ВЛИЯНИЕМ ХЛОРИДОВ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ

Семенова О.А., Будняк О.К.,  
Петров С.А.

Изучена активность очищенных пируватдегидрогеназного и 2-оксоглутаратдегидрогеназного мультиэнзимных комплексов и определенное количество в них свободных SH-групп в условиях действия хлоридов кадмия, меди и свинца. Проведенные исследования показали значительные ингибирование активностей мультиэнзимных комплексов и неспецифического окисления субстратов а также уровня свободных SH-групп в присутствии солей тяжелых металлов.

**Ключевые слова:** тяжелые металлы, активность мультиэнзимных комплексов, уровень, SH-группа.

## Summary

ACTIVITY OF THE PURIFIED PURVATE DEHYDROGENASE AND 2 — OKSOGLUTARATY MULTIENTZMNYH COMPLEX AS WELL AS LEVEL IN THEM SH-GROUP IN THE HEPATOPANCREAS BLACK SEA MUSSELS UNDER THE INFLUENCEON HEAVY METAL CHLORIDES

Semenova O.A., Budniak O.K.,  
Petrov S.A.

Studied the activity of purified pyruvatdehidrohenaznoho and 2-оксоглутаратдегидрогеназного multyenzymnyh complexes and a number of them are free SH-groups under conditions of cadmium chloride, copper and lead. Studies have shown significant changes in the activity of nonspecific lipid complexes multyenzymnyh substrates and the level of free SH-groups.

**Keywords:** heavy metal, multyenzymn complexes activity, level, SH-group.