

УДК 577.156+612.015

Р. А. Новицкий<sup>1</sup>, Е. В. Сухаренко<sup>2</sup>, В. С. Недзвецкий<sup>1</sup>**МОЛЕКУЛЯРНЫЕ БИОМАРКЕРЫ ЭФФЕКТОВ  
ИОНОВ  $Al^{3+}$  НА ИНДУКЦИЮ ОКСИДАТИВНОГО  
СТРЕССА И КЛЕТОЧНУЮ РЕАКТИВАЦИЮ В  
ОРГАНИЗМЕ *LEPOMIS GIBBOSUS* (PISCES:  
*CENTRARCHIDAE*)**

На основании комплексного анализа показателей оксидативного стресса и состояния цитоскелета исследованы токсические эффекты ионов  $Al^{3+}$  на клетки печени и нервной ткани солнечного окуня *Lepomis gibbosus*. Установлено, что хроническое воздействие ионов алюминия в концентрации  $0,01 \text{ мг/см}^3$  индуцирует окислительный стресс и характерный реактивный ответ астроцитов мозга. Показано, что астроглиоз тесно ассоциирован с развитием оксидативного стресса в нервной ткани рыб. Показатели оксидативного стресса и реактивного ответа астроглии на токсическое воздействие ионов  $Al^{3+}$  являются маркерами способности организма адаптироваться к более жёстким условиям окружающей среды.

**Ключевые слова:**  $Al^{3+}$ , *Lepomis gibbosus*, астроглиоз, оксидативный стресс, молекулярные биомаркеры.

Ионы некоторых металлов рассматриваются как один из наиболее важных факторов риска. Даже незначительное повышение их концентрации может приводить к необратимым нарушениям в клетках и тканях живых организмов. Алюминий является самым распространённым металлом земной коры [2, 11]. Множественные неблагоприятные эффекты его солей на живые организмы активно изучаются на протяжении многих лет, однако вопросы их токсичности для водных организмов остаются спорными. Предполагают, что ионы  $Al^{3+}$  принимают участие в развитии различных патологий и их неблагоприятные эффекты определяются, в первую очередь, способностью индуцировать окислительный стресс в различных типах клеток [31]. Чрезмерное поступление соединений алюминия ведёт к нарушению окислительно-восстановительного баланса в ткани головного мозга животных [16].

Оксидативный стресс считается одним из главных индукторов структурно-функциональных нарушений в клетках ЦНС [29]. Активные формы кислорода (АОФ) вызывают гибель нейронов путём активации ПОЛ клеточных мембран, повреждения белков и ДНК. Генерация АОФ компенсируется антиоксидантными системами. Известно, что клетки печени высших организ-

© Р. А. Новицкий, Е. В. Сухаренко, В. С. Недзвецкий, 2013

мов характеризуются наличием мощной антиоксидантной защиты. В нервной системе наиболее продуктивной антиоксидантной способностью обладают астроциты. Астроглиальные клетки играют основную роль в защите нервной ткани от физических и метаболических повреждений. Маркером астроглии и главным структурным компонентом астроцитарного цитоскелета является глиальный фибриллярный кислый белок (ГФКБ). Он рассматривается как надёжный маркер астроцитов, поскольку реакция этих глиальных клеток на действие повреждающих факторов сопровождается его усиленным синтезом и интенсивным фибрилlogenезом [28]. Это характерное для астроцитов явление получило название астроглиоз.

Поиск и характеристика адекватных молекулярных маркеров, которые позволят оценивать степень неблагоприятного влияния техногенного загрязнения окружающей среды, в современном мире чрезвычайно актуальны. Целью работы являлось выявление токсических эффектов ионов алюминия на клетки печени и нервной ткани солнечного окуня *Lepomis gibbosus* на основании комплексного анализа показателей оксидативного стресса и состояния цитоскелета.

**Материал и методика исследований.** В исследованиях использовали 20 особей солнечного окуня (*Lepomis gibbosus*) возрастом три-четыре года. Рыбы были разделены на две равные группы. Обе группы содержались в одинаковых аквариумах емкостью 170 л, контрольная — с очищенной фильтрацией водопроводной водой. В аквариуме с экспериментальной группой на протяжении 45 дней поддерживали концентрацию ионов  $Al^{3+}$  0,01 мг/см<sup>3</sup> путём подмены дважды в неделю  $1/4$  объема воды, содержащей  $AlCl_3$ .

Особь обеих групп подвергались полному биологическому анализу [5, 10]. Визуально оценивали фенотип рыб, анализировали морфологические экстерьерные и интерьерные характеристики. Устанавливали долю особей с различными морфологическими и физиологическими абберациями. Возраст рыб определяли путём подсчета годовых колец на чешуе [14].

Содержание и полипептидный состав растворимой и филаментной фракций цитоскелетного ГФКБ устанавливали методом иммуноблотинга, как было описано ранее [9]. Относительную интенсивность плотности окрашки полипептидных зон определяли с помощью компьютерной обработки сканированных результатов иммуноблотинга. Количественный анализ ГФКБ проводили путём сравнения интенсивности окрашивания соответствующих полипептидных зон между экспериментальными и контрольными пробами, отнесённой к количеству общего белка во фракциях. Содержание общего белка определяли методом Лоури в модификации [22].

Уровень ПОЛ в гомогенатах мозга и печени рыб измеряли с использованием тест-набора LPO-586 (Oxis, Int. Inc., USA) методом, основанным на реакции N-метил-2-фенилиндола с малоновым диальдегидом и 4-гидроксиалкенами. Активность каталазы и супероксиддисмутазы определяли по методам, описанным в литературе [4, 13].

Обработку полученных данных проводили методами математической статистики для малых выборок [3]. Относительное содержимое ГФКБ выражали в виде среднего  $\pm$  стандартная ошибка ( $M \pm m$ ), достоверное различие между группами оценивали с применением  $t$ -критерия Стьюдента ( $P < 0,05$ ) после проверки гипотез о нормальности распределения и различии между генеральными дисперсиями.

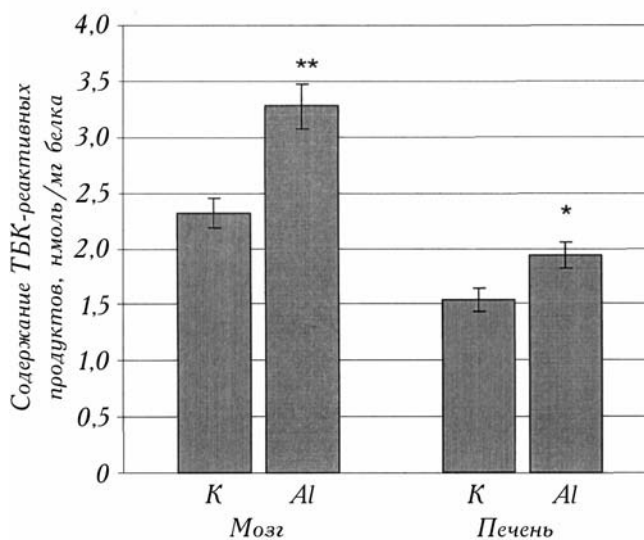
### Результаты исследований

Известно, что при проведении любых полевых или токсикологических исследований наиболее простым и одновременно информативным анализом является патолого-морфологический, основанный на визуальном осмотре экстерьерных и интерьерных признаков, органов и тканей рыб. При этом принимаются во внимание все морфологические и анатомические изменения. При проведении анатомо-морфологического анализа экспериментальной группы *Lepomis gibbosus* были выявлены патологии и изменения внутренних органов: увеличение размеров печени и неоднородность ее окраски, кровоизлияния в ротовой полости, жаберных крышках, гонадах, мозге, кишечнике, желчном пузыре и на стенках брюшной полости (у 56% особей).

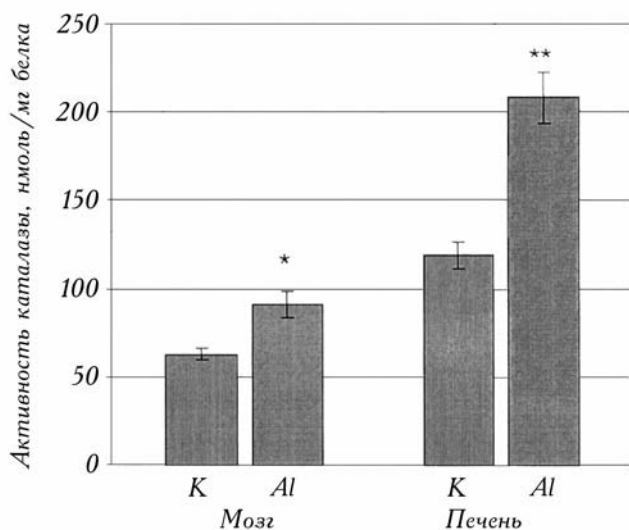
В то же время содержание конечных продуктов ПОЛ как одного из основных показателей генерации оксидативного стресса в мозге солнечного окуня экспериментальной группы достоверно увеличивалось в тканях мозга и печени соответственно на 42 и 26%. При этом в печени не выявлено достоверного возрастания содержания ТБК-активных продуктов, то есть уровня ПОЛ (рис. 1).

В клетках печени рыб *L. gibbosus*, подверженных хроническому воздействию повышенной концентрации ионов  $Al^{3+}$ , значительно возросла активность каталазы и супероксиддисмутазы — соответственно на 75 и 90% (рис. 2).

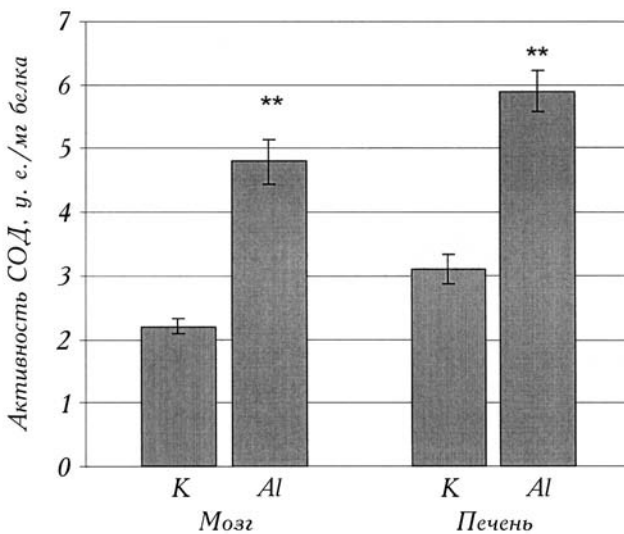
В мозге особей солнечного окуня экспериментальной группы содержание ГФКБ достоверно увеличивалось ( $P < 0,01$ ) по сравнению с контрольной (рис. 3), что указывает на развитие астроглиоза в резуль-



1. Содержание конечных продуктов перекисного окисления липидов в мозге и печени контрольной (к) и экспериментальной (Al) групп солнечного окуня. Здесь и на рис. 2—4: достоверность различий относительно контрольной группы: \*  $P < 0,05$ , \*\*  $P < 0,01$  ( $M \pm m$ ).



2. Активность каталазы в мозге и печени контрольной (к) и экспериментальной (Al) групп солнечного окуня.



3. Активность супероксиддисмутазы в мозге и печени контрольной (к) и экспериментальной (Al) групп солнечного окуня.

тате индукции ионами  $Al^{3+}$  окислительных повреждений на молекулярном и клеточном уровнях.

Дифференциация иммунореактивных полипептидов ГФКБ по молекулярной массе методом иммуноблоттинга позволила оценить содержание деградированных фрагментов белка глиальных промежуточных филаментов в составе цитоскелетных структур астроцитов ЦНС солнечного окуня. Значительное возрастание количества деградированных полипептидов ГФКБ отмечено практически у всех особей экспериментальной группы (рис. 4), наиболее характерные результаты иммуноблоттинга ГФКБ из мозга представлены на рис. 5.

Содержание рыб в условиях повышенной концентрации ионов  $Al^{3+}$  ( $0,01 \text{ мг/см}^3$ ) вызвало значительное увеличение количества деградированных по молекулярной массе фрагментов ГФКБ в диапазоне 48—40 кДа. Сравнительный анализ водорастворимой и цитоскелетной фракций

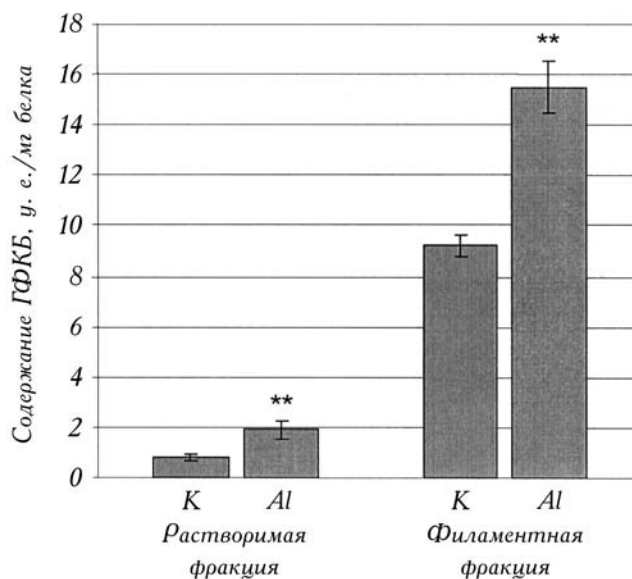
ГФКБ показал, что нерастворимые субъединицы этого белка, входящие в состав цитоскелетных структур в экспериментальной группе, подвергаются протеолитической деградации в большей степени, чем в контрольной.

Таким образом, ионы  $Al^{3+}$  не только индуцируют в нервной ткани солнечного окуня реактивный ответ астроцитов на метаболические нарушения, но и активируют деградацию компонентов цитоскелета.

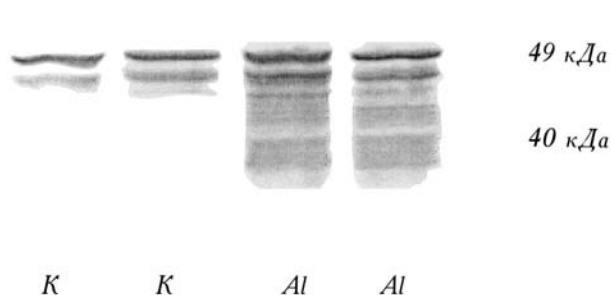
### Обсуждение результатов исследований

Алюминий является третьим по распространению элементом земной коры [2]. Степень его аккумуляции в живых организмах ограничена водонерастворимостью большинства его природных соединений. Однако постепенное закисление среды вследствие антропогенных воздействий приводит к конверсии инертных соединений  $Al^{3+}$  в биологически активные формы. Главными источниками его поступления в организм человека является питьевая вода, продукты питания и медицинские препараты, основной путь поступления — желудочно-кишечный тракт. Нерастворимые соединения алюминия солюбилизируются в кислой среде желудка, и токсичный ион  $Al^{3+}$  поступает в кровь [24]. Его транспорт в мозг в значительной мере лимитируется гемато-энцефалическим барьером. Показано, что  $Al^{3+}$  транспортируется из крови в мозг в виде комплексов с цитратом, L-глутаматом и трансферрином [32]. Известно, что астроциты играют главную роль в формировании барьера между капиллярами мозга и нейронами. Содержание  $Al^{3+}$  в ткани мозга значительно повышается с возрастом, возможно вследствие повреждений мембран клеток, формирующих гемато-энцефалический барьер [17]. Многие аспекты поступления и биотрансформации алюминия у гидробионтов остаются неизученными.

Развитие различных патологий сопровождается усилением генерации свободных радикалов. Селективная индукция оксидативного стресса в клетках нервной ткани является одним из ведущих путей реализации нейротоксичности ионов  $Al^{3+}$ . Механизм генерации свободных радикалов с участием ионов  $Al^{3+}$ , которые не обладают переменной валентностью при физиологических условиях, остается не полностью понятным. Недавно было установлено, что  $Al^{3+}$  влияет на активность ферментов системы антиоксидантной защиты и прооксидантных ферментов клеток головного мозга *in vivo*. Снижается активность супероксид-



4. Содержание белка глиальных промежуточных филаментов ГФКБ в мозге контрольной (к) и экспериментальной (Al) групп солнечного окуня.



5. Результаты иммуноблотинга цитоскелетной фракции белков из мозга контрольной (K) и экспериментальной (Al) групп солнечного окуня.

дисмутазы и глутатионпероксидазы, а активность NO-синтазы и ксантиноксидазы — повышается [23]. Клетки нервной ткани особенно чувствительны к нарушениям прооксидантно-антиоксидантного равновесия вследствие большого количества липидов в их мембранах. Прежде всего, повреждающее действие АОФ отражается на функцио-

нировании миелинизированных волокон. Установлено, что  $Al^{3+}$  *in vitro* стимулирует  $Fe^{2+}$ -зависимое окисление белков и липидов миелина и синаптических мембран [30]. Существуют данные о способности  $Al^{3+}$  активировать процессы генерации АОФ, ПОЛ и повышать содержание восстановленного глутатиона (GSH) [15].

Астроциты защищают нейроны в условиях нейротоксичного влияния свободных радикалов, поскольку имеют более мощную систему антиоксидантной защиты [29]. Положительная корреляция между экспрессией маркеров пролиферации и дифференцировкой астроцитов и ПОЛ в ткани мозга свидетельствует в пользу развития реактивного астроглиального ответа на оксидативный стресс [20]. Гибель клеток может быть обусловлена перекисным повреждением ДНК и биомембран, которое сопровождается резким повышением концентрации свободного  $Ca^{2+}$  в цитозоле и ядерном матриксе [1]. Возможно, что обнаруженная в представленном исследовании протеолитическая деградация ГФКБ при интоксикации  $Al^{3+}$  является следствием усиленной генерации АОФ. Непосредственное воздействие свободных радикалов на глиальные промежуточные филаменты может существенно дополняться нарушением гомеостаза внутриклеточного пула  $Ca^{2+}$ . Повышение его концентрации активирует протеиназы, например кальпаины, которые осуществляют лимитированный протеолиз ГФКБ [25].

Глиальные клетки обнаружены в нервной ткани различных видов. Мозг лучеперых рыб (*Actinopterygii*) имеет очень сложное макроскопическое строение, некоторые его отделы не имеют соответствующих структур у наземных животных или заметно отличаются морфологически [18]. В то же время астроциты мозга рыб сходны по морфологии, биохимическим и физиологическим свойствам с астроцитами мозга млекопитающих [19]. Сравнительный анализ ГФКБ-позитивных клеток в мозге показал их присутствие в большинстве отделов мозга рептилий, пресмыкающихся, птиц и млекопитающих. Представительство и локализация астроцитов имеют классоспецифические особенности, однако цитоскелетный белок ГФКБ в этих клетках высококонсервативен по структуре и функциям.



В настоящее время особую актуальность приобретают исследования молекулярных процессов, лежащих в основе физиологических, репродукционных и других биологических функций. Нарушения, индуцируемые загрязнителями на молекулярном уровне, закономерно отражаются на всех более высоких уровнях биологической организации — клеточном, физиологическом, а также на структурно-функциональной организации экосистем. Программы биологического мониторинга всё активнее включают использование различных биомаркеров. Мониторинг с их применением предоставляет возможность на ранних стадиях выявлять и предупреждать развитие патологических процессов в экосистеме.

В последнее время серьёзное внимание уделяется использованию структурных молекулярных компонентов в качестве индикаторов функционального состояния различных типов клеток. Наиболее перспективными биомаркерами считаются гистоспецифические цитоскелетные белки нервной ткани [7]. Во-первых, эти белки выполняют специфические, жизненно необходимые функции нервной системы, во-вторых, нервные клетки необычайно чувствительны к воздействию неблагоприятных факторов.

Гидробионты являются удобными объектами в экотоксикологических исследованиях в силу своей высокой численности, широкого распространения и доступности для изучения реакции организмов на различные негативные воздействия [12]. В свою очередь, солнечный окунь *L. gibbosus* — новый, агрессивно осваивающийся в гидросистемах Украины вид, характеризуется значительными количественными параметрами и высокой пластичностью [8, 27], что обусловило его выбор в качестве перспективного объекта в экотоксикологических исследованиях.

Анатомо-морфологический анализ экспериментальной группы *L. gibbosus* обнаружил множественные отклонения от нормальной физиологии и явные эффекты повреждающего токсического фактора. Примечательно, что это произошло после относительно небольшого срока воздействия ионов  $Al^{3+}$  в сравнении со временем, необходимым для формирования устойчивых морфологических отклонений.

Сходные результаты были получены ранее для плотвы (*Rutilus rutilus*) при воздействии комплекса промышленных загрязнителей. Наряду с отсутствием внешних и внутренних морфологических изменений, в мозге плотвы было выявлено достоверное увеличение концентрации конечных продуктов ПОЛ и характерные признаки астроглиоза [9]. Так же, как и в настоящем исследовании, были обнаружены существенные изменения содержания ГФКБ именно в филаментных фракциях, экстрагированных 4 М мочевиной, то есть именно тех субъединиц, которые формируют нерастворимые цитоскелетные структуры.

Результаты определения конечных продуктов ПОЛ в тканях *L. gibbosus* показали, что ионы  $Al^{3+}$  способны индуцировать оксидативный стресс в мозге в значительно большей степени, чем в гепатоцитах. Этот феномен может быть связан с биохимическими особенностями клеток нервной ткани, в которой присутствуют два гистотипа — нейроны и глиальные клетки. При

этом нейроны занимают около половины объёма мозга и обладают относительно слабой системой антиоксидантной защиты, имеют высокий индекс потребления кислорода и содержания липидов. Все эти факторы способствуют нарушению окислительно-восстановительного баланса даже при незначительном воздействии токсикантов. Гепатоциты, наоборот, имеют мощную ферментативную антиоксидантную систему и высокую пролиферативную способность.

Результаты иммуноблотинга белковых фракций из мозга солнечного окуня свидетельствуют о том, что ионы  $Al^{3+}$  индуцируют реорганизацию промежуточных филаментов астроглии, поскольку цитоскелетные перестройки сопровождаются увеличением содержания фибриллизованного ГФКБ и деградированных полипептидных фрагментов.

Так же, как и у других организмов, у рыб нейроглия играет жизненно важную роль в поддержании и обеспечении функционирования нейронов. Неблагоприятные воздействия различной природы индуцируют её характерный клеточный ответ — астроглиоз, то есть реактивацию астроцитов, всегда сопровождающийся активацией фибриллогенеза и синтеза ГФКБ [28]. Чрезмерно интенсивный фибриллогенез является главным показателем реактивного ответа астроцитов на нейрональные повреждения. Перестройка промежуточных филаментов астроглии может быть необходимым условием для адекватного функционирования глиальных клеток при воздействии повреждающих факторов [26].

Обнаруженное нами достоверное повышение экспрессии белка глиальных промежуточных филаментов свидетельствует об индуцированном астроглиозе (функциональном ответе нейроглии на неблагоприятное воздействие). Характерное увеличение количества деградированных полипептидных фрагментов ГФКБ является признаком цитоскелетных перестроек, нарушения состояния цитоскелета, морфологии и функционирования клеток нервной ткани. Таким образом, состояние глиального цитоскелета может быть показателем токсического воздействия ионов  $Al^{3+}$ .

Известно, что оксидативный стресс является одним из наиболее распространённых метаболических нарушений при воздействии неблагоприятных факторов [21]. В то же время промежуточные высокореактивные продукты, образующиеся в ходе его развития, могут быть важной причиной нейродегенерации и снижения жизнеспособности в условиях воздействия токсикантов различной природы [6]. Воздействие промышленных загрязнителей на организм во многих случаях вызывает сходные нарушения энергетического метаболизма в клетках, морфологические и структурные аномалии. Это обусловлено тем, что токсические эффекты различных по природе веществ ассоциированы с индукцией оксидативного стресса.

Установленная положительная корреляция показателей астроглиоза и оксидативного стресса в мозге солнечного окуня в условиях интоксикации ионами  $Al^{3+}$  указывает на то, что окислительные повреждения могут быть одним из основных механизмов реализации токсических эффектов загрязнителей на организм водных животных.



### Заключение

Полученные данные свидетельствуют о том, что реактивный ответ астроцитов мозга солнечного окуня *Lepomis gibbosus* отражает неблагоприятное влияние ионов алюминия. Астроглиоз ассоциирован с развитием оксидативного стресса в нервной ткани исследуемых рыб. Показатели оксидативного стресса и реактивного ответа астроглии на токсическое воздействие ионов алюминия, в конечном счете, отражают способность организма адаптироваться к более жестким условиям окружающей среды.

Определение активности антиоксидантной защиты, сравнительный корреляционный анализ молекулярных, физиологических, морфометрических и поведенческих характеристик перспективны для выявления прогностических маркеров адаптивных способностей гидробионтов в условиях глобального загрязнения окружающей среды.

\*\*

*На підставі комплексного аналізу показників оксидативного стресу і стану цитоскелету досліджено токсичні ефекти йонів  $Al^{3+}$  на клітини печінки та нервової тканини сонячного окуня *Lepomis gibbosus*. Визначено, що хронічний вплив йонів алюмінію в концентрації  $0,01 \text{ мг/см}^3$  індукує окисний стрес і характерну реактивну відповідь астроцитів мозку. Показано, що астроглиоз асоційований з розвитком оксидативного стресу у нервовій тканині і печінці риб. Показники оксидативного стресу та реактивної відповіді астроглиї на токсичний вплив йонів  $Al^{3+}$  є маркерами здатності організму адаптуватися до більш суворих умов навколишнього середовища. Визначення активності антиоксидантного захисту, порівняльний кореляційний аналіз молекулярних, фізіологічних, морфометричних та етологічних характеристик є перспективними напрямками досліджень для отримання прогностичних маркерів адаптивних можливостей гідробіонтів в умовах глобального забруднення навколишнього середовища.*

\*\*

*Toxic effects of  $Al^{3+}$  on the liver cells and nervous tissue of *Lepomis gibbosus* were studied on the basis of complex analysis of indicators of oxidative stress and state of the cytoskeleton. It was revealed that reactive response of brain astrocytes of *L. gibbosus* reflects the adverse effect of aluminum ions. It was shown that astroglial response is associated with development of oxidative stress in the neural tissue of fish. These indicators of oxidative stress and reactive astroglial response to the toxic effect of  $Al^{3+}$  ions reflect the adaptive ability of an organism to more severe environmental conditions. Determination of antioxidant protection activity, comparative correlation analysis of molecular, physiological, behavioral and morphometric characteristics of animals are perspective directions of research in order to identify prognostic markers of adaptive abilities under global environmental pollution.*

\*\*

1. Губский Ю.И. Токсическая гибель клетки: свободнорадикальное повреждение ДНК и апоптоз // Лікування та діагностика. — 2001. — № 4. — С. 8—13.
2. Зонн С.В., Травлеев А.П. Алюминий. Роль в почвообразовании и влияние на растения. — Днепропетровск, 1992. — 224 с.

3. Кокунин В.А. Статистическая обработка данных при малом числе опытов // Укр. биохим. журн. — 1975. — Т. 7, № 6. — С. 776—791.
4. Королюк М.А., Иванова Л.И., Токарев В.Е. Метод определения активности каталазы // Лаб. дело. — 1988. — № 1. — С. 16—19.
5. Методика збору й обробки іхтіологічних і гідробіологічних матеріалів із метою визначення лімітів промислового вилучення риб із великих водосховищ і лиманів України. — К.: Ін-т риб. госп-ва, 1998. — 47 с.
6. Негзвецкий В.С., Сухаренко Е.В., Неруш О.П. Биологическая и социальная значимость использования молекулярных компонентов с целью определения метаболических нарушений, вызванных ионами алюминия // Уч. зап. Рос. соц. ун-та. — 2011. — № 4. — С. 192—196.
7. Негзвецкий В.С., Тихомиров А.А., Кириченко С.В. и др. Возможности использования молекулярных компонентов с целью сохранения биологического разнообразия в условиях действия неблагоприятных факторов // Экологія та ноосферологія. — 2005. — Т. 16, № 3—4. — С. 215—221.
8. Новицкий Р.О. Аспекти поведінки сонячного окуня *Lepomis gibbosus* (Perciformes, Centrarchidae) в природних водоймах та в експерименті // Наук. вісн. Чернівецького ун-ту. Біологія (Біологічні системи). — 2012. — Т. 4, вип. 4. — С. 514—517.
9. Новицкий Р.А., Малик М.Г., Негзвецкий В.С. и др. Использование цитоскелетных молекулярных компонентов в качестве биомаркера состояния гидробионтов (на примере плотвы *Rutilus rutilus*) // Гидробиол. журн. — 2009. — Т. 45, № 5. — С. 81—88.
10. Правдин И.Ф. Руководство по изучению рыб (преимущественно пресноводных). — М.: Пищ. пром-сть, 1966. — 376 с.
11. Пурмаль А.П. Антропогенная токсикация планеты. Часть 1 // Сорос. образов. журн. — 1998. — № 9. — С. 39—45.
12. Савваитова К.А., Чеботарева Ю.В., Пичугин М.Ю. и др. Аномалии в строении рыб как показатели состояния природной среды // Вопр. ихтиологии. — 1995. — Т. 35, № 2. — С. 182—188.
13. Чевари С., Чаба И., Секей Й. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах // Лаб. дело. — 1985. — № 11. — С. 678—681.
14. Чугунова Н. И. Методика изучения возраста и роста рыб. — М.: Наука, 1952. — 175 с.
15. Bondy S.C., Yang Y.E., Walsh T.J. et al. Dietary modulation of age-related changes in cerebral pro-oxidant status // Neurochem. Int. — 2002. — Vol. 40, N 2. — P. 123—130.
16. Campbell A., Prasad K.N., Bondy S.C. Aluminum-induced oxidative events in cell lines: glioma are more responsive than neuroblastoma // Free Rad. Biol. Med. — 1999. — Vol. 26, N 9—10. — P. 1166—1171.
17. Gomez M., Sanchez D.J., Llobet M.J. et al. The effect of age on aluminum retention in rats // Toxicology. — 1997. — Vol. 116, N 1—3. — P. 1—8.
18. Kalman M. Astroglial architecture of the carp (*Cyprinus carpio*) brain as revealed by immunohistochemical staining against glial fibrillary acidic protein (GFAP) // Anat. Embriol. (Berlin). — 1998. — Vol. 198, N 5. — P. 409—433.

19. Kalman M., Pritz M. Glial fibrillary acidic protein — immunopositive structures in the brain of a crocodilian, *Caiman crocodilus*, and its bearing on the evolution of astroglia // J. Comp. Neurology. — 2001. — Vol. 431. — P. 460—480.
20. Kaneko K., Nakamura A., Yoshida K. et al. Glial fibrillary acidic protein is greatly modified by oxidative stress in aceruloplasminemia brain // Free Radic. Res. — 2002. — Vol. 36, N 3. — P. 303—306.
21. de Knecht J.A., van Brummelen T.C. Biological assessment of the presence and effects of new and unknown organic contaminants in the environment // ACES Sci. Report. Vrije Univ. — Amsterdam, 1997. — P. 9.
22. Miller G. L. Protein determination for large numbers of samples // Anal. Chem. — 1959. — Vol. 31, N 5. — P. 964—966.
23. Moumen R., Ait-Oukhtar N., Bureau F. et al. Aluminium increases xantine oxidase activity and disturbs antioxidant status in the rat // J. Trace Elem. Med. Biol. — 2001. — Vol. 15, N 2—3. — P. 89—93.
24. Nday C.M., Drever B.D., Salifoglou T. et al. Aluminium interferes with hippocampal calcium signaling in a species-specific manner // J. Inorg. Biochem. — 2010. — N 104. — P. 919—927.
25. Nixon R.A., Saito K.I., Grynspan F. et al. Calcium-activated neutral proteinase (calpain) system in aging and Alzheimer's disease // Ann. New York Acad. Sci. — 1994. — Vol. 15, N 747. — P. 77—91.
26. Norton W. T., Aquino D. A., Hozumi I. et al. Quantitative aspects of reactive gliosis: a review // Neurochem. Res. — 1992. — Vol. 17, N 9. — P. 877—885.
27. Rhiannon D., Christopher D. Moyes Allometric scaling in centrarchid fish: origins of intra- and inter-specific variation in oxidative and glycolytic enzyme levels in muscle // J. Exp. Biol. — Vol. 210. — P. 3798—3804.
28. Sofroniew M.V., Vinters H.V. Astrocytes: biology and pathology // Acta Neuropath. — 2010. — Vol. 119. — P. 7—35.
29. Takashi Y., Tsushima J., Kitamura Y. et al. Oxidative stress induction of DJ-1 protein in reactive astrocytes scavenges free radicals and reduces cell injury // Oxidative Medicine and Cell. Longevity. — 2009. — Vol. 2, N 1. — P. 36—42.
30. Verstraeten S.V., Golub M.S, Keen C.L. et al. Myelin is a preferential target of aluminum-mediated oxidative damage // Arch. Biochem. Biophys. — 1997. — Vol. 344, N 2. — P. 289—294.
31. Walton J.R. Evidence for participation of aluminum in neurofibrillary tangle formation and growth in Alzheimer's disease // J. Alzheimer's Disease. — 2010. — N 22. — P. 65—72.
32. Yokel R.A., Wilson M., Harris W.R. et al. Aluminum citrate uptake by endothelial cells: implications for its blood-brain barrier transport // Brain Res. — 2002. — Vol. 930, N 1—2. — P. 101—110.

<sup>1</sup> Днепропетровский национальный университет

<sup>2</sup> Керченский государственный  
морской технологический университет

Поступила 28.05.13