

Ю.И. Сенник, В.Ф. Хоменчук, В.З. Курант, В.В. Грубинко

Тернопольский национальный педагогический университет им. Владимира Гнатюка

РОЛЬ ЛИПИДОВ ЖАБЕР ЩУКИ В ОБЕСПЕЧЕНИИ ТОКСИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ К ИОНАМ ЦИНКА

Исследовали содержание липидов в жабрах щуки при действии ионов цинка в количестве 0,5 и 2,0 рыбохозяйственных ПДК. Установлены изменения содержания неполярных липидов, фосфолипидов и их соотношение в исследуемом органе рыб. На основании полученных результатов установлено дозозависимые механизмы адаптации липидного профиля клеток жабер щуки к действию ионов цинка.

Ключевые слова: щука, неполярные липиды, фосфолипиды, цинк

Yu.I. Senyk, V.O. Khomenchuk, V.Z. Kurant, V. V. Grubinko

Ternopil Volodymyr Hnatyuk National Pedagogical University, Ukraine

THE ROLE OF PIKE GILL LIPIDS IN ENSURING TOXICORESISTANCE TO ZINC IONS

There have been investigated lipid contents in pike gills under the influence of zinc in the quantities of 0,5 and 2,0 of fishery action levels (AL). Changes in the contents of non-polar lipids, phospholipids and their correlations in the fish organ under examination have been found out. Based on the obtained data there have been ascertained dose-dependent adaptation mechanisms of pike gill cells lipid profile to the influence of zinc ions.

Key words: pike, non-polar lipids, phospholipids, zinc

Рекомендує до друку

Надійшла 15.01.2013

О.Б. Столяр

УДК 597.556.31:591.11(262.5)

Е.Н. СКУРАТОВСКАЯ, И.И. ДОРОХОВА

Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского НАН Украины
просп. Нахимова, 2, Севастополь, 99011

СЕЗОННЫЕ ВАРИАЦИИ НЕКОТОРЫХ БИОМАРКЕРОВ КРОВИ МОРСКОГО ЕРША *SCORPAENA PORCUS L.* ИЗ ПРИБРЕЖНЫХ АКВАТОРИЙ Г. СЕВАСТОПОЛЯ

Исследована сезонная динамика активности некоторых антиоксидантных ферментов и уровня окислительной модификации белков в крови морского ерша *Scorpaena porcus L.* из прибрежных акваторий г. Севастополя. Выявлена высокая активность супероксиддисмутазы, глутатионредуктазы и глутатион-S-трансферазы летом и осенью, пероксидазы – зимой. Показано, что уровень окислительной модификации белков в сыворотке крови морского ерша в летне-осенний период выше, чем в зимне-весенний.

Ключевые слова: ферменты, антиоксидантная защита, белки, окислительная модификация, кровь, морской ерш

В современных исследованиях все больший интерес приобретает изучение показателей прооксидантно-антиоксидантного баланса, которые позволяют анализировать состояние организмов и опасность для них среды их обитания. Антропогенное воздействие на прибрежные районы негативно влияет на здоровье морских обитателей, в частности рыб, что приводит к различным патологиям. Параметры антиоксидантной системы и пероксидного

окисления могут служить биомаркерами, позволяющими оценить состояния рыб, находящихся в неблагоприятных условиях [1, 2, 7, 12, 14]. В то же время, многие молекулярные показатели рыб подвержены значительным сезонным изменениям [1, 7, 9, 12, 13]. Поэтому для корректного применения биомаркеров в ихтиомониторинге необходимо знать пределы их естественной вариабельности в популяциях изучаемых видов.

Цель работы – исследование сезонных вариаций активности антиоксидантных ферментов и уровня окислительной модификации белков в крови биоиндикаторного вида – морского ерша *Scorpaena porcus* L. из прибрежных акваторий г. Севастополя.

Материал и методы исследований

Рыб отлавливали в Карантинной бухте г. Севастополя с помощью донных ставников в 2008–2009 гг. Материалом для исследования служили эритроциты и сыворотка крови. В эритроцитах определяли активность 5 антиоксидантных ферментов: супероксиддисмутазы (СОД), каталазы (КАТ), пероксидазы (ПЕР), глутатионредуктазы (ГР) и глутатион-S-трансферазы (GST) методами, описанными ранее [14].

В сыворотке крови анализировали уровень окислительной модификации белков (ОМБ) на основе реакции взаимодействия окисленных аминокислотных остатков белка с 2,4-динитрофенилгидрозином с образованием 2,4-динитрофенилгидразонов. Оптическую плотность образовавшихся 2,4-динитрофенилгидразонов регистрировали при следующих длинах волн: 346 нм и 370 нм (альдегидные и кетонные продукты окислительной модификации нейтрального характера), а также при 430 нм и 530 нм (альдегидные и кетонные продукты окислительной модификации основного характера) [4].

Статистическую обработку результатов проводили, используя t-критерий Стьюдента.

Результаты исследований и их обсуждение

В результате проведенных исследований установлены сезонные изменения показателей крови морского ерша. Высокая активность СОД, ГР и GST отмечена летом и осенью (табл.). Активность ПЕР увеличивалась в летне-осенний период, достигая максимального значения зимой. Активность каталазы не изменялось в течение года.

Таблица

Активность некоторых антиоксидантных ферментов в эритроцитах крови морского ерша в разные сезоны года (M ± m)

Фермент	Зима, n = 50	Весна, n = 65	Лето, n = 120	Осень, n = 46
КАТ, мг H ₂ O ₂ / мг Hb · мин	0,42±0,02	0,42±0,01	0,39 ± 0,01	0,42±0,01
СОД, усл. ед.	122,11±7,78	142,48±10,6	146,42±9,03*	159,86±10,05*
ПЕР, опт. ед.	34,11±1,57	25,54±1,42*	30,53±1,01* •	29,04±1,28*
ГР, нмоль НАДФН / мг Hb · мин	1,91±0,38	1,39±0,23	2,62±0,31 •	2,93 ±0,48 •
GST, нмоль конъюгата / мг Hb · мин	10,34±2,02	8,41±0,9	11,32± 0,72	12,9±1,42 •

Примечания: в таблице и на рисунке: * – различия достоверны по сравнению со значениями зимнего периода, • – весеннего периода (p < 0,05)

Уровень окислительной модификации белков в сыворотке крови морского ерша увеличивался в ряду: зима→весна→лето→осень (рис.). Осенью концентрация окисленных белков была значительно выше, чем зимой и весной. Содержание альдегидных и кетонных продуктов нейтрального характера в летний период превышало соответствующие значения рыб зимой.

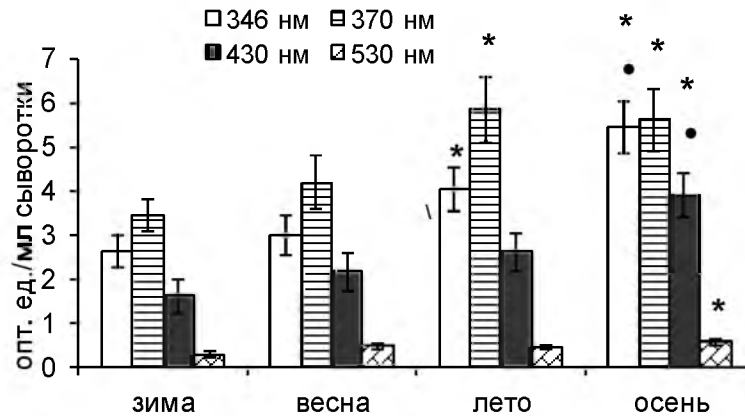


Рис. Уровень окислительной модификации белков в сыворотке крови морского ерша в разные сезоны года ($M \pm m$; 346 нм – альдегидные продукты нейтрального характера, 370 нм – кетонные продукты нейтрального характера, 430 нм – альдегидные продукты основного характера, 530 нм – кетонные продукты основного характера)

Увеличение активности СОД, ГР и GST в крови рыб летом и осенью связано как с существованием сезонных физиологических ритмов, так и с различным уровнем антропогенной нагрузки. При этом обе группы факторов тесно взаимосвязаны между собой. С одной стороны, с повышением температуры воды происходит интенсификация обменных процессов в организме рыб, начинается нерест. Морской ерш нерестится с конца мая до середины сентября, а нерестовый период характеризуется высоким уровнем метаболизма и сопровождается интенсивным питанием. В это время у рыб отмечен максимальный уровень тканевого дыхания [9]. С другой стороны, в связи с повышением температуры увеличивается рекреационная нагрузка на прибрежные акватории, что способствует попаданию в организм биогенов и ксенобиотиков в высоких концентрациях. Все это приводит к накоплению продуктов пероксидного окисления и увеличению антиоксидантной активности.

Высокая антиоксидантная активность в крови рыб осенью может быть обусловлена интенсификацией процессов кровообращения в посленерестовый период, попаданием в акватории веществ не только антропогенного, но и природного происхождения, поскольку осенью происходит разложение фито- и зоопланктона, в результате чего в морскую среду попадают дополнительные органические соединения [10].

Зимой уровень метаболизма у рыб снижен, потребление кислорода и тканевое дыхание гораздо меньше, чем в остальные сезоны; питание в значительной степени сокращено [9]. Продукция мелатонина, влияющего на синтез антиоксидантных ферментов, снижается [7]. Рекреационная нагрузка на места обитания рыб минимальна, в связи с чем активность ферментов в крови рыб низкая.

Аналогичные данные получены другими исследователями. В частности, отмечено увеличение активности GST в печени горбыля *Micropogonias furnieri* в летний период по сравнению с зимним [12]. Показано, что активность СОД в печени белого амура *Stenopharyngodon idella* и карпа *Cyprinus carpio* летом значительно выше, чем осенью, тогда как в печени белого толстолобика *Hypophthalmichthys molitrix* максимальная активность фермента выявлена в осенний период. Зимой активность СОД у всех исследованных видов рыб была минимальной [7].

В то же время, в отличие от СОД, ГР и GST, активность ПЕР была максимальна зимой. Данный факт может свидетельствовать о компенсаторном эффекте антиоксидантных ферментов, описанном в других работах [6, 11]. С другой стороны, ПЕР чувствительна к нефтяному загрязнению, и ее активность увеличивается с ростом концентрации нефтеуглеводородов, попадающих из морской среды в организм гидробионтов [5]. Низкие значения активности фермента в крови рыб в теплое время года могут быть связаны с высокой численностью

нефтепродуктов, разрушающих микроорганизмов в воде, интенсивно утилизирующих и разлагающих нефтепродукты. Установлено, что максимальный рост нефтередуцирующей микрофлоры в районе исследования наблюдался летом и в начале осени, что объясняется оптимальной для роста бактерий температурой воды и повышенными концентрациями питательных веществ. Наименьшая численность бактерий отмечена в зимний период [8], что, вероятно, привело к усиленному поступлению нефтепродуктов в организм рыб и повышению активности пероксидазы в зимний период года.

Окисление белков является одним из механизмов регуляции их распада, а белки являются субстратом для протеолитических ферментов, которые их превращают легче, чем немодифицированные [4]. Однако при действии неблагоприятных факторов уровень окислительной модификации белков в организме рыб увеличивается [2]. Как показали полученные результаты, уровень ОМБ в сыворотке крови морского ерша в летне-осенний период выше, чем в зимне-весенний. С увеличением температуры воды уровень обменных процессов в организме рыб повышается, что способствует интенсивному образованию продуктов метаболизма. В то же время необходимо учитывать влияние антропогенных факторов. Именно в этот период года морские акватории в наибольшей степени подвержены загрязнению, что приводит к попаданию в организм рыб ксенобиотиков и стимулирует образование продуктов свободнорадикального окисления, в том числе модифицированных белков. Зимой рекреационная нагрузка в местах обитания снижена, в связи с чем содержание продуктов окисления белков в сыворотке крови рыб ниже по сравнению с другими сезонами.

Сведения, имеющиеся в литературе, свидетельствуют об изменении содержания продуктов пероксидного окисления у рыб в разные сезоны года. Установлено, что при изменении температуры воды от 6 до 30°C увеличивалось относительное содержание полиеновых жирных кислот в жабрах, печени и селезенке карпа. Уже спустя 1 ч после начала опыта количество пероксидов возрастало в 1,5 раза в жабрах и в 1,2 раза в печени [3]. Отмечено, что содержание продуктов ПОЛ в печени бразильской камбалы *Paralichthys orbignyanus* и горбыля *Micropogonias furnieri* выше в летний период по сравнению с другими сезонами [12, 13].

Выводы

1. Установлены сезонные изменения активности антиоксидантных ферментов и уровня окислительной модификации белков в крови морского ерша.
2. Высокая активность СОД, ГР и GST отмечена летом и осенью, тогда как ПЕР – зимой.
3. Уровень ОМБ в сыворотке крови морского ерша в летне-осенний период выше, чем в зимне-весенний.
4. Для оценки состояния рыб и среды их обитания необходимо учитывать сезонные вариации исследованных биомаркеров.

1. *Алешко С. А.* Сезонные изменения некоторых параметров биотрансформации и антиоксидантной системы в печени полосатой камбалы *Liopsetta pinnifasciata* из Амурского залива Японского моря / С. А. Алешко, О. Н. Лукьянова // Биология моря. – 2008. – Т. 34, № 2. – С. 148–151.
2. *Вахтіна Т. Б.* Окисна модифікація білків сироватки бичка-жаби (*Mesogobius batrachocephalus* Pallas), що живе в бухтах з різним рівнем антропогенного забруднення / Т. Б. Вахтіна, Ю. О. Граб // Матеріали V Всеукр. наук. конф. студентів та аспірантів, 15–16 верес. 2005., Київ. – Київ, 2005. – С. 10–13.
3. *Грубинко В. В.* Перекисное окисление липидов и антиоксидантная защита у рыб (обзор) / В. В. Грубинко, Ю. В. Леус // Гидробиол. журн. – 2001. – Т. 37, № 1. – С. 64–78.
4. *Дубинина Е. Е.* Окислительная модификация белков сыворотки крови человека, метод ее определения / Е. Е. Дубинина, С. О. Бурмистров, Д. А. Ходов, И. Г. Поротов // Вопр. мед. химии. – 1995. – Т. 41, № 1. – С. 24–26.
5. *Королев А. М.* Влияние водорастворимой фракции нефти на некоторые характеристики сыворотки крови черноморской смариды / А. М. Королев, Т. К. Семина, Н. Д. Мазманиди // Биология моря. – 1980. – № 1. – С. 69–79.
6. *Мажитова М. В.* Возрастные и половые особенности свободнорадикальных процессов и антиоксидантной защиты плазмы крови белых крыс. – Экспериментальная физиология, морфология и медицина / М. В. Мажитова, Д. Д. Теплый // Естественные науки. – 2010. – № 1 (30). – С. 79–85.

7. *Олексюк Н. П.* Активність про- і антиоксидантних систем у печінці прісноводних риб у різні пори року / Н. П. Олексюк, В. Г. Янович // Укр. біохім. журн. – 2010. – Т. 82, № 3. – С. 41–47.
8. *Рубцова С. И.* Самоочищение морской среды от углеводородов нефти в прибойной зоне Севастополя : дисс. на соиск. уч. степени канд. биол. наук: спец. 03.00.17 «Гидробиология» / Рубцова Светлана Ивановна. – Севастополь, 2003. – 147 с.
9. *Шульман Г. Е.* Физиолого-биохимические особенности годовых циклов рыб / Г. Е. Шульман. – М. : Пищ. пром-сть, 1972. – 368 с.
10. *Руднева И. И.* Влияние экологических факторов на уровень нитрозаминов у морских рыб / И. И. Руднева, Е. Б. Мельникова, Н. С. Кузьминова [и др.] // Экол. химия. – 2007. – Т. 16, вып. 3. – С. 166–174.
11. *Скуратовская Е. Н.* Видовые особенности антиоксидантной ферментной системы крови некоторых видов черноморских рыб / Е. Н. Скуратовская, И. И. Руднева // Риб. госп-во України. – 2008. – № 1. – С. 15–18.
12. **Amando L. L.** Biomarkers in croakers *Micropogonias furnieri* (Teleostei: Sciaenidae) from polluted and non-polluted areas from the Patos Lagoon estuary (Southern Brazil): Evidences of genotoxic and immunological effects / L. L. Amando, C. E. Rosa, A. M. Leite [et al.] // Mar. Pollut. Bull. – 2006. – Vol. 52. – P. 199–206.
13. **Amando L. L.** Biomarkers of exposure and effect in the Brazilian flounder *Paralichthys orbignyanus* (Teleostei: Paralichthyidae) from the Patos Lagoon estuary (Southern Brazil) / L. L. Amando, R. B. Robaldo, L. Geracitano [et al.] // Mar. Pollut. Bull. – 2006. – Vol. 52. – P. 207–213.
14. **Rudneva I. I.** Blood antioxidant system of Black Sea elasmobranch and teleosts / I. I. Rudneva // Comp. Biochem. Physiol. – 1997. – Vol. 118, № 2. – P. 225–230.

К.М. Скуратовська, І.І. Дорохова

Інститут біології південних морів ім. О.О. Ковалевського НАН України, Севастополь

СЕЗОННІ ВАРІАЦІЇ ДЕЯКИХ БІОМАРКЕРІВ КРОВІ МОРСЬКОГО ЙОРЖА SCORPAENA PORCUS L. З ПРИБЕРЕЖНИХ АКВАТОРІЙ М. СЕВАСТОПОЛЬ

Досліджено сезонну динаміку активності деяких ферментів антиоксидантного захисту і рівень окиснювальної модифікації білків у крові морського йоржа *Scorpaena porcus* L. з прибережних акваторій м. Севастополь. Виявлено високу активність супероксиддисмутази, глутатіонредуктази та глутатіон-S-трансферази влітку і восени, пероксидази – взимку. Показано, що рівень окислювальної модифікації білків у сироватки крові в літньо-осінній період вищий, ніж у зимово-весняний.

Ключові слова: антиоксидантні ферменти, окислювальна модифікація, білки, кров, морський йорж

K.M. Skuratovska, I.I. Dorohova

Institute of Biology of the Southern Seas of the National Academy of Sciences, Sevastopol, Ukraine

SEASONAL VARIATIONS OF SELECTED BIOMARKERS IN BLOOD OF SCORPION FISH SCORPAENA PORCUS L. FROM SEVASTOPOL OFFSHORE STRIPS

There have been studied seasonal dynamics of activity of some antioxidant defense enzymes and the level of oxidative protein modification in blood of scorpion fish *Scorpaena porcus* L. from Sevastopol offshore strips. A high level of superoxide dismutase, glutathione reductase and glutathione-S-transferase activity has been revealed in summer and autumn, while that of peroxidase - in winter. The level of oxidative protein modification in blood serum of fishes in summer and autumn was higher than in winter and spring.

Key words: antioxidant enzymes, oxidative protein modification, blood, scorpion fish

Рекомендує до друку

Надійшла 22.02.2013

В.В. Грубінко