

ОСОБЕННОСТИ МОРФОФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ И БИОХИМИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ ПЕЧЕНИ МОРСКОГО ЕРША ИЗ БУХТ С РАЗЛИЧНЫМ УРОВНЕМ ЗАГРЯЗНЕНИЯ

И. И. Дорохова, Ю. В. Новоселова

*Институт биологии южных морей НАН Украины, г. Севастополь, АР Крым, Украина,
e-mail: mirenri@bk.ru; yunovosyolova@yandex.ru*

Введение

В настоящее время для оценки качества водной среды и ее пригодности для существования организмов все чаще применяются экотоксикологические методы. Они позволяют по откликам биоты, проявляющимися на всех уровнях организации, оценить экологическое состояние местообитаний (Adams, 2005).

Ранее было показано, что эффективными биомаркерами являются различные компоненты защитных систем – иммунной и антиоксидантной, реорганизация которых позволяет проанализировать состояние организма, подвергнутого действию неблагоприятных факторов (Winston G.W., Giulio R.N., 1991). При этом биохимические параметры, характеризующие реорганизацию обмена в условиях изменения среды обитания, являются наиболее оперативными и чувствительными к повреждающим факторам. Однако если организм в течение длительного времени находится в неблагоприятных условиях, то это приводит к изменениям на более высоких уровнях его организации – тканевом, органном и т.д. вплоть до популяционного. У рыб, обитающих в загрязненных акваториях, нарушается структура клеток и тканей за счет развития различных патологий и накопления токсикантов (Hinton & Lauren, 1990; Lang et al., 2006). Особенно часто подобные закономерности отмечены для печени, играющей центральную роль в депонировании ксенобиотиков, их биотрансформации и детоксикации.

Совершенно очевидно, что функциональная активность печени организмов, в течение длительного времени обитающих в неблагоприятных условиях, несет повышенную нагрузку, что сказывается на морфофизиологическом и биохимическом статусе. В этом случае индекс печени (ИП) и его вариации позволяют получить информацию о со-

стоянии организма и о его устойчивости к повреждающим факторам. Изменения на более глубоком уровне сказываются на различных метаболических процессах, в том числе, и на белковом обмене – синтезе и распаде белков, взаимопревращении аминокислот.

На этом основании целью настоящей работы является сравнительный анализ параметров индекса печени, эндогенной интоксикации и активности аминотрансфераз печени морского ерша из двух севастопольских бухт с разным уровнем антропогенной нагрузки.

Материалы и методы

Морского ерша *Scorpaena roscus* отлавливали в двух бухтах в районе Севастополя с различным экологическим статусом. Бухта Александровская отделена от открытой части моря молотом, в акватории имеется аварийный выпуск канализационных городских стоков. Бухта Карантинная свободно сообщается с открытой частью моря, на берегу также находится выпуск городского коллектора (рис. 1). Тем не менее, наиболее загрязненной по показателям воды, грунтов и рыб является б. Александровская (Кузьминова, 2010; Скуратовская 2009)

Отловленных рыб подвергали стандартному биологическому анализу, по результатам которого рассчитывали индекс печени по (формуле (1)), выражающий в ‰ (промилле) отношение массы печени рыбы к массе ее тушки. Выборки были дифференцированы по полу.

Статистическая оценка проводилась по Лакину (1990). Были составлены безинтервальные графики и проанализирован характер распределения индекса печени (ИП). По каждой выборке были вычислены стандартное отклонение и коэффициент вариации, также было проведено сравнение сред-

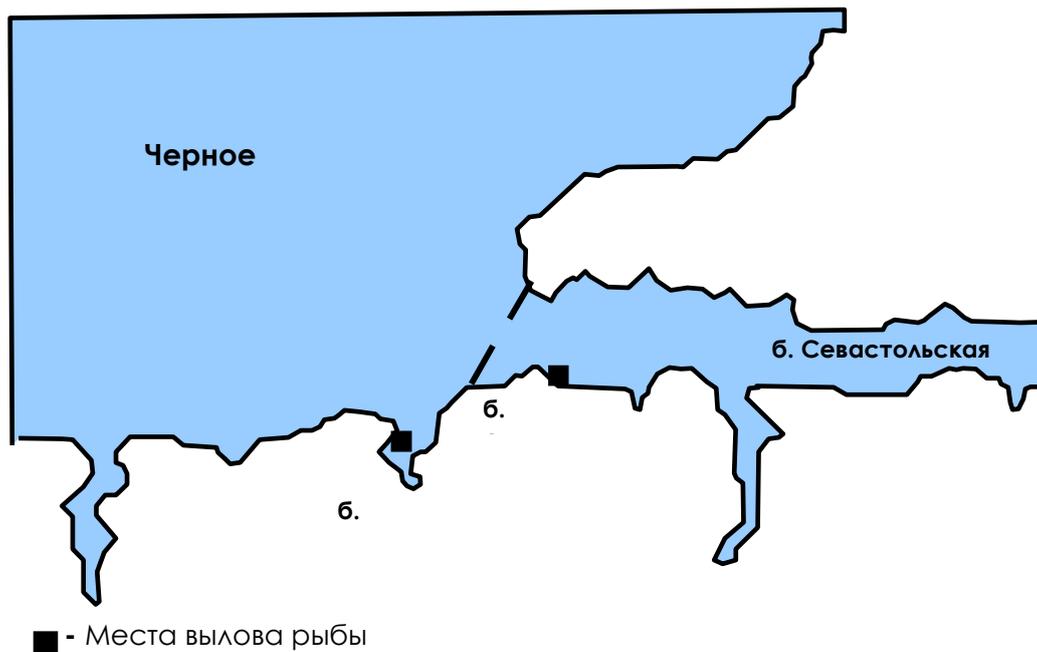


Рис. 1. Карта Севастопольской бухты с местами вылова рыбы

них значений индекса печени (ИП) по критерию достоверности Стьюдента.

$$ИП = \frac{P_n \cdot 1000}{P_m} \quad (1)$$

где P_n – масса печени, P_m – масса тушки.

Гомогенат печени готовили на холоду с добавлением 3 мл физиологического раствора, центрифугировали и использовали супернатант для дальнейших исследований.

Активность аминотрансфераз определяли по методу Райтмана-Френкеля с использованием стандартных наборов «Філісіт» – «АсАт» и «АлАт». К 0,04 мл гомогената добавляли 0,2 мл субстратно-буферного раствора и оставляли на 1 час при комнатной температуре, после этого приливали 0,2 мл стоп-реагента (2,4-динитрофенилгидразин) и инкубировали еще 20 минут. Затем добавляли 2 мл гидрокси натрия 0,4 Н. Через 10 минут измеряли оптическую плотность исследуемой пробы против холостой (индивидуальной для каждого образца) при длине волны 500–530 нм. Делали пересчет на мг белка с учетом содержания белка в гомогенизате. Содержание белка определяли с использованием набора «Філісіт» – «Общий белок» Коэффициент де Ритиса рассчитывали как отношение активности АсАт к активности АлАт.

Уровень эндогенной интоксикации определяли по содержанию средних молекул (молекул средней массы, олигопептидов). К 0,5 мл пробы добавляли 0,25 мл 10% раствора трихлоуксусной кисло-

ты и центрифугировали 30 минут по 3000 об/мин. 0,3 мл надосадочной жидкости вносили в 3,7 мл 3% NaOH, добавляли 0,2 мл реактива Бенедикта и инкубировали 15 минут, измеряли оптическую плотность при длине волны 330 нм. Пересчитывали на концентрацию белка в пробе.

Статистический анализ проводили с использование t-критерия Стьюдента (Лакин, 1990).

Результаты и обсуждение

Статистические показатели печени морского ерша из двух бухт представлены в табл. Результаты исследований не показали достоверных различий между значениями ИП печени самок и самцов в каждой бухте. Однако ИП самок из бухты Карантинной был достоверно выше ($p < 0,05$) по сравнению с соответствующим показателем рыб из бухты Александровской, у самцов различий не установлено. Следует отметить, что показатели вариации ИП у самок из обеих бухт выше, чем у самцов, а у рыб из бухты Карантинной выше, чем у рыб из бухты Александровской.

Активность аминотрансфераз в печени ерша из двух бухт представлены на рис. 2. Активность АлАт одинакова в печени самцов и самок из б. Карантинная, а в б. Александровской показатели самок достоверно превышают значение самцов (рис. 2.А). Активность фермента в печени самок из обеих бухт не различается, а у самцов из Александровской бухты этот показатель достоверно ниже.

Статистические показатели ИП морского ерша из двух бухт Севастополя в 2009 г.

б. Александровская			б. Карантинная		
Показатели	♀	♂	Показатели	♀	♂
Количество n	39	19	Количество n	161	214
Разброс R (min – max)	7,50–41,70 34,20	8,54–32,68 24,14	Разброс R (min – max)	5,33–66,27 60,94	3,04–60,38 57,34
Среднее M ± m	17,32 ± 1,46	19,57 ± 1,63	Среднее M ± m	22,97 ± 1,10	21,11 ± 0,73
Стандартное отклонение σ	9,14	7,10	Стандартное отклонение σ	13,90	10,62
Коэффициент вариации V, %	52,79	36,29	Коэффициент вариации V, %	60,51	50,32
Коэффициент асимметрии As	1,28	0,42	Коэффициент асимметрии As	1,36	1,49

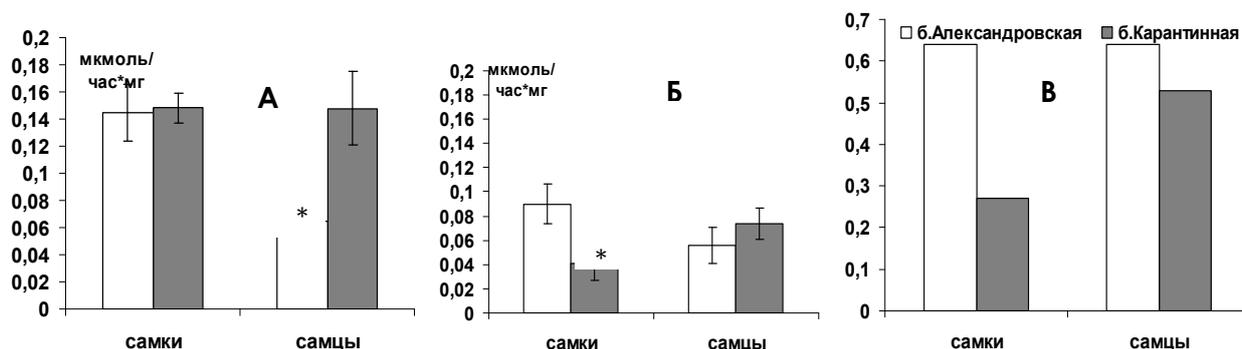


Рис. 2. Активность аминотрансферах в печени морского ерша
(А – активность аланинаминотрансферазы, Б – активность аспаратаминотрансферазы,
В – коэффициент де Ритиса)

* – достоверность различий показателей рыб разного пола

Активность АсАт варьирует неоднозначно: в б. Александровской бухте активность фермента достоверно выше у самок, в б. Карантинной у самцов (рис. 2.Б). Следует отметить достоверное превышение активности фермента в печени самок из б. Александровской, тогда как у самцов достоверных различий не обнаружено.

Коэффициент де Ритиса одинаков у самок и самцов из б. Александровская, но выше у самцов из б. Карантинная (рис. 2.В). В обоих случаях коэффициент де Ритиса выше у рыб из б. Александровская по сравнению с Карантинной.

Уровень эндогенной интоксикации в печени ерша представлен на рис. 3.

Данный показатель не имеет различий в печени самок и самцов в обеих бухтах. Однако у самок из б. Карантинная он достоверно выше по сравнению с соответствующим показателем рыб из б. Александровской. У самцов отмечена сходная тенденция, но различия в данном случае не достоверны.

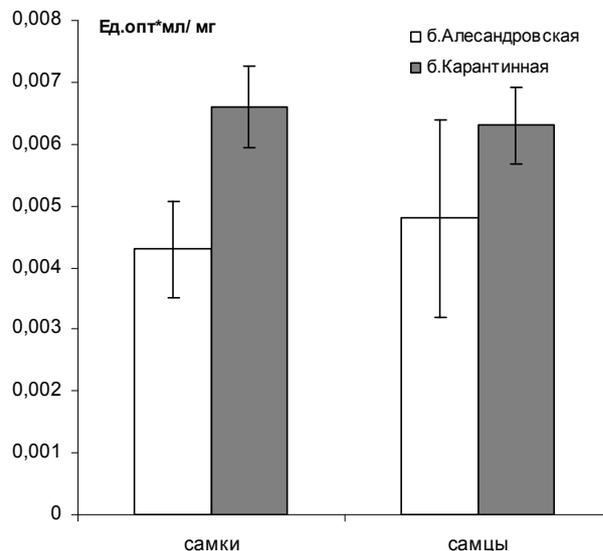


Рис. 3. Уровень эндогенной интоксикации в печени морского ерша

Таким образом, результаты исследований показали определенные различия ответных реакций печени самок и самцов рыб на антропо-

генное загрязнение. Не смотря на отсутствие достоверных отличий среднестатистических показателей ИП у рыб обоих полов из двух бухт следует отметить большую вариабельность ИП у самок по сравнению с самцами, более выраженную у самок из бухты Карантинной. Это может быть следствием влияния среды обитания, характеризующейся как большой изменчивостью (б. Карантинная), так и повышенной антропогенной нагрузкой, обусловленной постоянной работой городского коллктора.

Активность аминотрансфераз в печени рыб проявляет определенные различия у особей из двух бухт. Если в печени самок из обеих бухт активность АлАт одинакова, то активность АсАт ниже у рыб из Карантинной бухты. У самцов противоположная тенденция – активность АсАт не различается у рыб из обеих акваторий, а АлАт доминирует у рыб из бухты Карантинная, в то же время коэффициент де Ритиса (АсАт/АлАт) выше у рыб из б. Александровская, что свидетельствует об однотипных изменениях активности аминотрансфераз у рыб из более загрязненной бухты. В этом случае ферментативный баланс смещен в сто-

рону увеличения активности АлАт в печени рыб из бухты Александровской по сравнению с бухтой Карантинной. Ранее было показано достоверное повышение активности аспартатами-нотрансферазы в сыворотки крови морского ерша в б. Карантинная в летний период, а коэффициент де Ритиса у представителей обоих полов ниже в б. Мартынова (бухта, располагающаяся рядом с б. Александровская за молом) (Рощина, 2010).

Одновременно у рыб и бухты Карантинной отмечено повышение концентрации продуктов ЭИ, что свидетельствует о недостаточной эффективности систем детоксикации и нарушении общей метаболической активности печени у рыб из более загрязненных акваторий.

На основании проведенных исследований можно заключить, что экологическое состояние среды обитания оказывает существенное влияние на обменные процессы в печени. Изменчивость абиотических и биотических факторов в комплексе с антропогенной нагрузкой вызывают усиление вариабельности ИП, смещение баланса активности аминотрансфераз и активацию процессов эндогенной интоксикации.

Литература

Кузьмина Н. С. Популяционные, морфофизиологические и биохимические показатели спикары *Spicara flexuosa* (Rafinesque) в современный период /Матер. V Муждунар. научно-практ. конф. «Человек и животные» (г. Астрахань, 14–16 мая 2010 г.) / сост.: М. В. Лозовская. – Астрахань: Астраханский государственный университет, издательский дом «Астраханский университет», 2010. – 195 с.

Лакин Г. Ф. Биометрия. / 4-е изд., перераб. и доп. – М.: Высшая школа, 1990. – С. 352.

Практикум по биохимии: Учеб. пособие / А. А. Чиркин. – Мн.: Новое Знание, 2002. – 512 с. – (Медицинское образование).

Рощина О. В. Влияние природных и антропогенных факторов на активность ферментов сыворотки крови черноморских рыб (на примере морского ерша): автореферат на дис. ... кандидата биол. наук: 03.00.04 / Рощина Ольга Владимировна. – Москва, 2010. – 20 с.

Скуратовская Е. Н. Состояние антиоксидантной ферментной системы крови черноморских рыб в условиях комплексного хронического загрязнения: дис. ... кандидата биол. наук: 03.00.04 / Скуратовская Екатирина Николаевна. – Севастополь, 2009. – 148 с.

Adams S.M. Assessing cause and effect of multiple stressors on marine systems / S.M. Adams // Mar. Pollut. Bull. – 2005. – Vol. 51, № 8–12. – P. 649–657.

Lang T., Wosniok W., Barsiene J., Broeg K., Kopecka J., Parkkonen J. Liver histopathology in Baltic flounder (*Platichthys fleus*) as indicator of biological effects of contaminants // Marine Pollution Bulletin, 2006. – V. 53. – p. 488–496.

Hinton, D.E. & Lauren D.J. Integrative histopathological approaches to detecting effects of environmental stressors on fishes / Biological Indicators of Stress in Fish. (ed. S.M. Adams). – 1990. – Pp. 51–66.

Winston G.W. Prooxidant and antioxidant mechanisms in aquatic organisms / G.W. Winston, R.N. Giulio // Aquatic Toxicol. – 1991. – Vol. 19. – P. 137–161.

PECULIARITIES OF MORPHOPHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL PARAMETERS IN SCORPIONFISH LIVER INHABITING IN BAYS WITH DIFFERENT ANTHROPOGENIES INFLUENCE

I.I. Dorohova, J.V. Novoselova

*Institute of Biology of the Southern Seas, Ukrain, Sevastopol,
e-mail: mirenri@bk.ru; yunovosyolova@yandex.ru*

Peculiarities of morphophysiological and biochemical parameters in scorpionfish liver inhabiting in Sevastopol's bays were investigated. Hepatic index was higher for both genders of fish taken from Karantinnaya bay. Aminotranferase activity was different for males and females inhabiting at investigated bays. Males had higher alanine aminotransferase activity at Karantinnaya bay, females had higher aspartate aminotransferase activity at

Aleksandrovskaya bays. The factor of de Ritis has shown that the aluminous exchange in a liver is displaced towards to increasing of alanine aminotransferase activity for fish from Aleksandrovskaya bay. Content of oligopeptides in liver also had shown increasing for fish at Karantinnaya bay. Investigated morphophysiological and biochemical parameters in liver may be used for evaluation anthropogenies influence on aquatic systems.