

Т. Б. Ковыршина, С. О. Омельченко

СЕЗОННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ ТОКСИЧНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ И ПАРАМЕТРОВ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА В ТКАНЯХ ЧЕРНОМОРСКОГО БЫЧКА-КРУГЛЯКА *NEOGOBIOUS MELANOSTOMUS*

Исследовали влияние токсичных элементов, содержащихся в мышцах бычка-кругляка (*Neogobius melanostomus*), отловленного в прибрежной зоне Черного моря (г. Севастополь), на активность антиоксидантных ферментов и показатели окислительной модификации белков. Установлено, что самыми чувствительными к накопленным в тканях элементам являются ферменты СОД и ПЕР, тогда как наиболее токсический эффект на организм оказывают Pb и Hg в результате связывания с функциональными группами биомолекул. Согласно результатам исследований активность АО ферментов и показатель окислительной модификации белков являются информативными при оценке состояния защитных систем организма рыб и рекомендуются для анализа качества водной среды. Библиогр. 26 назв. Табл. 7.

Ключевые слова: токсичные элементы, активность антиоксидантных ферментов, окислительная модификация сывороточных белков, бычок-кругляк.

THE INFLUENCE OF TOXIC ELEMENTS IN FISH MUSCLES ON THE BLOOD PROOXIDANT-ANTIOXIDANT STATUS OF THE BLACK SEA ROUND GOBY *NEOGOBIOUS MELANOSTOMUS*.

T. B. Kovyrshina¹, S. O. Omelchenko²

¹ Kovalevsky Institute of the Biology of the Southern Seas, Nahimov av., 2, Sevastopol, 299011, Russian Federation; mtk.fam@mail.ru

² State Enterprise «Crimean Scientific and Production Center of Standardization, Metrology and Certification» (Simferopol), ul. Gazety Krymskay pravda, 61, Simferopol, 295000, Russian Federation; mtk.fam@mail.ru

The article discusses the influence of toxic elements in muscles on the activities of antioxidant enzymes and oxidative modification of serum blood proteins in round goby (*Neogobius melanostomus*) collected from coastal area of the Black Sea (Sevastopol). The obtained results showed that the most sensitive to tissue accumulation of elements are enzymes SOD and PER, while Pb and Hg have the most toxic effect on the organism as a result of linking with the functional groups of biomolecules. The activities of antioxidant enzymes and oxidative modification of serum blood proteins can be used for evaluation of fish status and water quality. Refs 26. Tables 7.

Keywords: toxic elements, activities of antioxidant enzymes, oxidative modification of serum blood proteins, round goby.

В настоящее время в условиях глобального антропогенного воздействия на гидросферу мониторинг загрязнения водной среды токсичными элементами (ТЭ) приобретает особое значение, что делает необходимым поиск биомаркеров, чувствительных к этой группе химических загрязнителей и адекватно отражающих состояние организма и среды его обитания.

Обладая высоким индексом биоаккумуляции, тяжелые металлы быстро накапливаются в организмах гидробионтов и даже в следовых количествах оказывают влияние на морфологические и физиолого-биохимические показатели рыб [1–3]. Токсическое действие одних металлов (свинец, ртуть, кадмий, мышьяк), обусловленное связывани-

Т. Б. Ковыршина (mtk.fam@mail.ru): Институт биологии южных морей, Российская Федерация, 299011, Севастополь, пр. Нахимова, 2; С. О. Омельченко: Государственное предприятие «Крымский региональный научно-производственный центр стандартизации, метрологии и сертификации», Российская Федерация, Автономная Республика Крым, Симферополь, ул. Газеты Крымская правда, 61, 295000, Симферополь.

ем функциональных групп белков (-SH) или вытеснением микроэлементов из активных центров ферментов, приводит к нарушению биохимических процессов, протекающих в организме. Действие других металлов (с переменной валентностью) определяется их способностью вовлекаться в окислительно-восстановительные реакции [2, 4]. В обоих случаях, прямо или опосредованно, ТЭ приводят к интенсификации процессов свободнорадикального окисления (СРО) биомолекул и, как следствие, индукции защитных систем организма [3, 5]. В связи с этим активность антиоксидантных (АО) ферментов и показатели окислительной модификации белков (ОМБ) можно рассматривать как ранние биохимические маркеры, способные адекватно и оперативно отражать состояние прооксидантно-антиоксидантного равновесия в тканях рыб и степень нарушения белкового метаболизма при окислительном стрессе.

На основании вышеизложенного, целью работы являлось изучение влияния токсичных элементов, аккумулированных в мышцах, на состояние ферментативной АО системы эритроцитов крови и процессы окислительной модификации сывороточных белков черноморского бычка-кругляка.

Материалы и методы исследования

Объект исследования — бычок-кругляк (*Neogobius melanostomus* Pallas), отловленный в прибрежной зоне г. Севастополя в период 2003–2005 гг.

Материалом исследований послужили кровь и мышцы рыб. Содержание меди, свинца, кадмия и цинка определяли полярографическим и атомно-абсорбционным методами с предварительной минерализацией [6, 7], концентрацию общей ртути — методом беспламенной атомной абсорбции [8], уровень мышьяка — калориметрическим методом [7].

Кровь отбирали из хвостовой артерии. В гемолизатах, полученных по методу О. В. Троицкой [9], определяли активность пяти антиоксидантных (АО) ферментов. Активность каталазы (КАТ) определяли по реакции разложения перекиси водорода [10], супероксиддисмутазы (СОД) — спектрофотометрическим методом в системе нитросиний тетразолиевый-феназинметасульфат-никотинамиддинуклеотид (НСТ-ФМС-НАДН) [11]. Активность пероксидазы (ПЕР) определяли бензидиновым методом [12], глутатионредуктазы (ГР) — по реакции дегградации никотинамиддинуклеотидфосфата (НАДФН), глутатионтрансферазы (ГТ) — по накоплению конъюгата в присутствии 2,4-динитрохлорбензола [13].

В сыворотке крови анализировали уровень окислительной модификации белковых молекул. Метод основан на реакции взаимодействия окисленных аминокислотных остатков белков с 2,4-динитрофенилгидразином. Образовавшиеся в результате реакции производные 2,4-динитрофенилгидразона регистрировали при длине волн 346, 370, 430, 530 нм [14].

Сравнительный анализ данных осуществляли с использованием *t*-критерия Стьюдента. Результаты считали достоверными при $p < 0,05$. С целью выявления зависимости между исследуемыми параметрами рассчитывали коэффициент корреляции для каждой пары значений с помощью программы Excel. Связь между ТЭ и АО ферментами, а также ТЭ и показателями ОМБ считали *слабой*, если коэффициент корреляции находился в следующих пределах $0 < r < 0,3$, *умеренной* — $0,3 < r < 0,5$, *значительной* — $0,5 < r < 0,7$ и *сильной* — $0,7 < r < 0,9$ [15].

Результаты и обсуждение исследования

Как можно видеть из табл. 1, содержание ТЭ в мышечной ткани бычка-кругляка отличается по сезонам года, но не превышает ПДК, принятых в Украине.

Таблица 1. Сезонная динамика содержания токсичных элементов (мг/кг) в мышечной ткани бычка-кругляка из Черного моря [16]

Сезон	Cu	Pb	Cd	Zn	As	Hg	Σ ТЭ
Зима	0,65 ± 0,08	0,035 ± 0,004	<0,01	3,15 ± 0,6	1,0 ± 0,07	0,048 ± 0,001	4,89
Весна	0,60 ± 0,01	0,07 ± 0,002*	—	3,48 ± 0,2	0,69 ± 0,01*	0,04 ± 0,004	4,88
Лето	0,51 ± 0,01*	0,08 ± 0,004**	—	3,42 ± 0,1	0,49 ± 0,01**	0,05 ± 0,001*	4,55
Осень	0,79 ± 0,03**	0,22 ± 0,01***	0,003 ± 0,0006	3,0 ± 0,3	1,5 ± 0,1***	0,06 ± 0,002***	5,57
ПДК	10,0	1,0	0,2	40,0	5,0	0,4	

Примечания. * — достоверность различий ($p \leq 0,05-0,001$) с зимним сезоном; * — с весенним; * — с летним; Σ ТЭ — суммарный показатель токсичных элементов в мышцах рыб.

Концентрация Cu, As и Hg в мышцах бычка-кругляка ниже в весенне-летний период по сравнению с осенне-зимним. Уровень Pb в мышечной ткани рыб увеличивается в ряду: зима → весна → лето → осень ($p \geq 0,05$). Достоверных различий в содержании Zn по сезонам года не выявлено. Максимальное значение суммарного показателя ТЭ (Σ ТЭ) у бычка-кругляка зафиксировано осенью, хотя в целом этот показатель незначительно изменяется в течение года.

На основании данных, представленных в табл. 1, исследуемые элементы по уровню накопления в мышцах бычка-кругляка можно расположить следующим образом: Zn > As > Cu > Pb > Hg > Cd, что согласуется с данными, полученными для других массовых черноморских видов рыб [17].

Значения активности АО ферментов крови черноморского бычка-кругляка представлены в табл. 2.

Активность всех ферментов, за исключением ПЕР, в крови рыб повышается в весенний период с последующим снижением летом ($p \leq 0,05$), и осенью КАТ ($p \leq 0,01$). Для ПЕР тенденция противоположная, различия достоверны между зимним и весенним сезонами ($p \leq 0,01$).

Таблица 2. Активность антиоксидантных ферментов (на мг Нв/мин, M ± m) в крови черноморского бычка-кругляка в разные сезоны года

Фермент	Зима	Весна	Лето	Осень
КАТ, мг H ₂ O ₂	0,36 ± 0,05	0,63 ± 0,03*	0,45 ± 0,03*	0,24 ± 0,12*
СОД, усл. ед.	24,5 ± 5,5	196,1 ± 19,9*	142,5 ± 21,0*	185,8 ± 38,9*
ПЕР, опт. ед.	22,3 ± 3,9	9,9 ± 1,4*	14,3 ± 1,8	8,35 ± 6,14
ГР, нмоль НАДФН	3,2 ± 2,4	9,96 ± 1,4*	3,7 ± 0,85*	3,67
ГТ, нмоль конъюгата	18,6 ± 12,9	59,1 ± 12,1*	15,54 ± 2,75*	5,46

Примечания. * — достоверность различий с зимним сезоном; * — с весенним. То же для табл. 3.

Исследование уровня ОМБ в сыворотке крови черноморского бычка-кругляка также показало наличие межсезонных различий (табл. 3).

Таблица 3. Содержание продуктов окисления белков (ПОБ) (опт. ед./мл сыворотки, М ± m) в сыворотке крови черноморского бычка-кругляка в разные сезоны года

Сезон	Продукты нейтрального характера		Продукты основного характера	
	альдегидные 346 нм	кетонные 370 нм	альдегидные 430 нм	кетонные 530 нм
Зима	5,09 ± 0,69	6,57 ± 0,66	3,47 ± 0,39	0,38 ± 0,12
Весна	5,50 ± 0,48	8,35 ± 0,69	4,97 ± 0,36*	0,91 ± 0,10*
Лето	6,88 ± 2,1	8,95 ± 2,6	5,59 ± 2,06	0,85 ± 0,24
Осень	9,15 ± 1,48 [■]	14,05 ± 2,95	7,77 ± 1,72	0,81 ± 0,30

Содержание продуктов нейтрального и альдегидопроизводных основного характера в сыворотке крови рыб увеличивается в ряду: зима → весна → лето → осень. Различия достоверны для альдегидопроизводных нейтрального и основного характера между весенним и осенним ($p \leq 0,05$) и весенним и зимним ($p \leq 0,01$) сезонами соответственно. Уровень кетонопроизводных основного характера достоверно возрастает от зимы к весне ($p \leq 0,01$), практически не изменяясь в летне-осенний период.

В дальнейшем интерес представляло выявить корреляционную зависимость между содержанием токсичных элементов в мышцах бычка-кругляка и активностью АО ферментов крови (табл. 4), а также процессами перекисного окисления сывороточных белков (табл. 5).

Таблица 4. Коэффициенты корреляции между показателями активности антиоксидантных ферментов крови и содержанием токсичных элементов в мышечной ткани черноморского бычка-кругляка

Фермент	Cu	Pb	Zn	As	Hg	Σ ТЭ
КАТ	-0,17	0,60	0,85	-0,44	-0,87	0,16
СОД	-0,54	0,87	0,99	-0,76	-0,60	-0,24
ПЕР	0,50	-0,84	-0,98	0,72	0,64	0,19
ГР	0,09	0,37	0,69	-0,19	-0,97	0,42
ГТ	0,22	0,24	0,59	-0,06	-0,99	0,53

Таблица 5. Коэффициенты корреляции между содержанием окисленных форм белков в сыворотке крови и уровнем токсичных элементов в мышечной ткани черноморского бычка-кругляка

Длина волны, нм	Cu	Pb	Zn	As	Hg	Σ ТЭ
346	0,58	0,96	-0,56	0,62	0,87	0,69
370	0,68	0,99	-0,55	0,68	0,79	0,80
430	0,52	0,96	-0,38	0,52	0,72	0,67
530	-0,16	0,41	0,46	-0,23	-0,04	0,03

Корреляционный анализ показал определенную зависимость между активностью АО ферментов и содержанием токсичных элементов в тканях бычка-кругляка. Так, сильная и значительная связь выявлена между содержанием всех элементов и активностью СОД и ПЕР, для которых коэффициенты корреляции находились в пределах 0,50–0,99. Сильная отрицательная зависимость установлена между активностью ГР ($r = -0,97$) и ГТ ($r = -0,99$) и концентрацией Hg. Между количеством Zn и активностью данных ферментов выявлена значительная положительная связь ($r = 0,69$; 0,59 соответственно). В остальных случаях корреляционная зависимость была слабой, за исключением ГР и Pb ($r = 0,37$). Сильная и значительная связь установлена между активностью КАТ и концентрацией Hg, Zn и Pb, тогда как между уровнем Cu и As связь слабая ($r = -0,17$) и умеренная ($r = -0,44$) соответственно.

Для большинства АО ферментов крови кругляка установлена слабая (КАТ, СОД и ПЕР) и умеренная (ГР) связь с величиной суммарного содержания ТЭ в мышцах, за исключением активности ГТ ($r = 0,53$, значительная).

Тесная зависимость установлена между содержанием продуктов окисления сывороточных белков и концентрацией ТЭ в тканях рыб, что наиболее выражено для продуктов нейтрального и альдегидопроизводных основного характера (D 346, 370 и 430 соответственно) (см. табл. 5).

Значительная положительная связь выявлена между содержанием вышеперечисленных компонентов и концентрацией Cu ($r = 0,52-0,68$) и As ($r = 0,52-0,68$), сильная положительная — с содержанием Hg ($r = 0,72-0,87$) и Pb ($r = 0,96-0,99$). Корреляция между концентрацией Zn и продуктами нейтрального характера значительная отрицательная ($r = (-0,55)-(-0,65)$), с альдегидопроизводными основного характера — умеренная отрицательная ($r = -0,38$). Для кетонпроизводных основного характера (D 530) отмечена противоположная тенденция. Слабая отрицательная связь выявлена между этой группой соединений и всеми элементами, кроме Pb и Zn (умеренная положительная).

Сильная и значительная положительная связь выявлена между содержанием всех продуктов окислительной модификации сывороточных белков и показателем суммарного содержания ТЭ в мышцах бычка-кругляка (0,69–0,80), за исключением кетонпроизводных основного характера ($r = 0,03$).

Таким образом, нами были установлены сезонные особенности динамики исследованных биомаркеров крови бычка-кругляка, а также определенная зависимость между содержанием ТЭ в мышцах рыб и прооксидантно-антиоксидантным статусом крови.

Выявленное в наших исследованиях увеличение АО активности в эритроцитах крови бычка-кругляка весной обусловлено прогревом морской воды и, как следствие, интенсификацией обменных процессов, питания, активным поступлением низкомолекулярных АО и микроэлементов. В то же время повышенное содержание загрязнителей в прибрежных водах Севастополя в летне-осенний период способствует истощению защитных ресурсов организма рыб и нарушению прооксидантно-антиоксидантного баланса. В результате снижение активности АО ферментов в крови черноморских бычков приводит к усиленному накоплению окисленных белков в сыворотке крови, особенно осенью, что согласуется с увеличением содержания ТЭ в мышцах рыб в данный период. Влияние тяжелых металлов на АО ферментативную систему и показатели ПОБ крови бычка-кругляка будет рассмотрено ниже.

Как известно, наиболее опасными в экотоксикологическом отношении элементами являются Hg, Pb, Cd, Cu, Zn и As. При этом Cu и Zn относят к необходимым для

нормальной жизнедеятельности организма эссенциальным элементом, но и они, присутствуя в избытке, представляют опасность для гидробионтов [2, 18].

В наибольших количествах в тканях бычка-кругляка содержится Zn (3,0–3,48 мг/кг), который поступает с пищей и является важным эссенциальным элементом. Zn входит в состав СОД, а также ферментов, участвующих в процессах детоксикации и выведения из организма молекул двуокиси углерода, образующихся при повреждении белков [18]. Инактивация СОД вместе с увеличением содержания глутатиона, участвующего в гомеостазе Zn в клетке, является чувствительным тестом на токсичность этого элемента [19]. В наших исследованиях сильная и значительная положительная связь установлена между уровнем Zn и активностью практически всех АО ферментов эритроцитов крови бычка-кругляка, включая СОД, тогда как с доминирующими в сыворотке крови окисленными формами белков (D 346; 370; 430) выявлена значительная и умеренная отрицательная связь. В подобных исследованиях у шести черноморских видов рыб коэффициенты корреляции между содержанием цинка и активностью АО ферментов в эритроцитах крови в большинстве случаев были отрицательными [17], что, вероятно, связано с более высоким, чем у бычка-кругляка, содержанием этого элемента в тканях рыб (3,64–5,41 мг/кг). Вместе с тем корреляционный анализ между концентрацией цинка и содержанием продуктов основного и кетонпроизводных нейтрального характера у этих же видов позволил установить значительную отрицательную и умеренную связь соответственно методам из работы [20]. Выявленные различия в характере связи между содержанием цинка и активностью АО ферментов в крови бычка-кругляка и шести черноморских видов рыб, вероятно, зависят от концентрации и видовых особенностей детоксикации цинка в тканях, что было показано на других видах рыб. Действие низких концентраций цинка не вызывало изменения активности АО ферментов и содержания небелковых тиолов в печени карпа относительно контроля, тогда как высокие его концентрации угнетали активность СОД и МТ в гепатоцитах печени, усиливая образование продуктов окислительной деструкции белков и липидов [3].

Другим важнейшим биофильным элементом является медь. Она входит в состав цитохромоксидаз, тирозиназ, аскорбиназ и других ферментов, катализирующих окислительно-восстановительные и гидролитические реакции, является кофактором СОД [18]. У бычка-кругляка выявлено слабое влияние содержащейся в мышцах меди на активность АО ферментов, за исключением СОД и ПЕР. При этом в первом случае связь отрицательная, что говорит о возможной инактивации этого фермента в результате его окислительной модификации [21] и/или снижении в организме МТ, когда их функции могут брать на себя другие белки-мишени, в том числе СОД [22]. Как следствие, коэффициенты корреляции между содержанием продуктов нейтрального и альдегидопродуктов основного характера и меди — значительные положительные. Подобная тенденция между активностью СОД и содержанием меди установлена в работах других авторов на морских [17] и пресноводных рыбах [3]. Так, в опытах на карпе (*Cyprinus carpio* L.) при действии низких, средних и высоких концентраций меди активность этого фермента значительно угнеталась уже при низких [3]. У беззубки лебединой (*Anodonta cygnea*) содержание окисленных форм белков (D 370; 430) значительно увеличивалось в пищеварительной железе при концентрации меди в среде 0,2 мг/л, а в естественных условиях обитания — и в жабрах [23]. Таким образом, так же как и в случае с цинком, действие меди на прооксидантно-антиоксидантный статус

организма зависит от ее концентрации в тканях и видовых особенностей процессов детоксикации.

As относят к условно эссенциальным, иммунотоксичным элементам. Он взаимодействует с тиоловыми группами белков, цистеином, глутатионом, липоевой кислотой, оказывает влияние на окислительные процессы в митохондриях и принимает участие во многих других важных биохимических процессах [18]. В наших исследованиях сильная связь установлена между уровнем этого элемента в мышцах и активностью СОД (-) и ПЕР (+), с продуктами нейтрального и альдегидопроизводными основного характера связь значительная положительная. Для шести черноморских видов рыб значительная отрицательная связь установлена между концентрацией мышьяка в мышцах и активностью ГР [17], тогда как с доминирующими продуктами окисления (D 346; 370; 430) связь умеренная положительная [20].

Pb является канцерогенным и тератогенным элементом, его токсическое действие обусловлено способностью образовывать связи с производными цистеина, сульфгидрильными, имидозольными и карбоксильными группами [18]. У бычка-кругляка установлена сильная и значительная корреляционная зависимость между активностью ПЕР, СОД, КАТ в крови и содержанием свинца в мышцах. Концентрация этого элемента в наибольшей степени повлияла на процессы окислительной модификации белков, о чем свидетельствуют высокие коэффициенты корреляции при всех длинах волн, кроме D 530. Так же как и у бычка-кругляка, существенное влияние свинец оказывал на активность АО ферментов [17] и процессы окислительной модификации сывороточных белков в крови ерша, налима, султанки, мерланга и ставриды [20]. У карпа ионы свинца вызывали окислительный стресс уже при низких его концентрациях. В печени снижалась активность СОД и КАТ, что приводило к значительному увеличению окислительного повреждения белков и липидов [3].

Токсичное действие ртути на организм обусловлено ее высоким сродством к функциональным группам белков (-SH, -NH₂, -COOH, -OH), что объясняет максимальные концентрации этого элемента в мышечной ткани животных [2]. У кругляка ртуть существенно ингибировала активность практически всех АО ферментов, в том числе глутатионзависимых, что привело к интенсификации процессов окислительной модификации белков, о чем свидетельствуют высокие коэффициенты корреляции. Для других черноморских рыб значительная отрицательная связь была установлена между активностью КАТ и ГР и содержанием этого элемента в их тканях [17]. Корреляционная зависимость с продуктами окисления белков слабая или умеренная [20].

В водоемах ТЭ обычно присутствуют в достаточно низких концентрациях, и как правило, гидробионты подвергаются воздействию либо смеси нескольких металлов, либо отдельного металла в комбинации с органическими загрязнителями [24]. В наших исследованиях высокую чувствительность к общему содержанию ТЭ (Σ ТЭ) в мышечной ткани проявили глутатионзависимые ферменты крови, с другими ферментами Σ ТЭ коррелировал слабо. Сильная и значительная положительная корреляция была установлена между этим показателем и содержанием продуктов основного и альдегидопроизводных нейтрального характера. В работах других авторов также отмечено влияние смеси металлов на прооксидантно-антиоксидантный статус организма. В исследованиях на шести черноморских видах рыб наиболее чувствительными к общему содержанию металлов оказались ПЕР и ГР, тогда как значительная корреляционная зависимость установлена только с продуктами окисления белков, регистрируемых при

D 530. Действие смеси солей меди, кадмия, железа и никеля на пятнистого змеоголова (*Channa punctata*) в течение 30 дней вызвало снижение в тканях активности глутатион-трансферазы и восстановленного глутатиона [25].

Для того чтобы определить, какой элемент в большей степени оказывает влияние на АО ферментативную систему и какой фермент является наиболее чувствительным к содержанию токсичных элементов, нами была составлена таблица, в которой типы связей между исследуемыми параметрами обозначили в соответствии со значением коэффициентов корреляции (табл. 6).

Таблица 6. Степень зависимости между содержанием токсичных элементов в тканях и активностью антиоксидантных ферментов в эритроцитах крови черноморского бычка-кругляка

Фермент	Cu	Pb	Zn	As	Hg
КАТ	-	++	+++	+	+++
СОД	++	+++	+++	+++	++
ПЕР	++	+++	+++	+++	++
ГР	-	+	++	-	+++
ГТ	-	-	++	-	+++

Примечание. «-» — слабая связь ($0 < r < 0,3$); «+» — умеренная ($0,3 < r < 0,5$); «++» — значительная ($0,5 < r < 0,7$); «+++» — сильная ($0,7 < r < 0,9$). То же для табл. 7.

По степени воздействия на ферментативную АО систему кругляка тяжелые металлы можно распределить следующим образом: Hg, Zn > Pb > As > Cu. По степени чувствительности к ТЭ АО ферменты расположились в следующей последовательности: СОД, ПЕР > КАТ > ГР > ГТ.

Выявленная в наших исследованиях высокая чувствительность СОД к действию ТЭ согласуется с данными других исследователей [3, 17]. При ослаблении ее функции концентрация супероксид-аниона возрастает. В условиях избытка ионов металлов переменной валентности возможно неферментативное каталитическое превращение O_2^- с образованием перекиси водорода, выступающей субстратом и активатором КАТ. Разбалансировка системы СОД—КАТ приводит к накоплению АФК и продуктов окислительной модификации биомолекул, что индуцирует активность ПЕР, обезвреживающей H_2O_2 , и гидроперекиси жирных кислот. С этим, вероятно, и связаны высокие коэффициенты корреляции между содержанием ТЭ и активностью перечисленных выше ферментов.

В то же время сильная отрицательная корреляционная зависимость между активностью глутатионзависимых ферментов и содержанием ТЭ установлена только для Hg. Было показано подавление активности ГТ в цитозольной фракции печени остроноса *Liza saliens* при действии ТЭ, среди которых наиболее токсичным для этого фермента оказалась ртуть [26], что согласуется с нашими данными.

По аналогии с АО ферментами была составлена таблица, позволяющая определить степень влияния каждого из элементов на процессы окислительной модификации белков (табл. 7).

Таблица 7. Степень зависимости между концентрациями окисленных форм белков в сыворотке крови и токсичных элементов в мышечной ткани черноморского бычка-кругляка

Длина волны, нм	Cu	Pb	Zn	As	Hg
346	++	+++	++	++	+++
370	++	+++	++	++	+++
430	++	+++	+	++	+++
530	-	+	+	-	-

Так же как и для АО ферментов, наибольшее влияние на процессы окислительной модификации белков, за исключением Zn, оказывали Pb и Hg (Pb > Hg > Zn, Cu, As). Эссенциальные и условно эссенциальные элементы занимали третье место, причем Zn способствовал снижению окислительной модификации белковых молекул.

Таким образом, воздействие как низких, так и высоких концентраций ТЭ способно моделировать АО ответ. Индукция активности АО ферментов является адаптивной реакцией организма на окислительный стресс. Однако тяжелые металлы в высоких концентрациях способны подавлять защитные ферментные системы клетки, приводя к усилению окисления белков и липидов.

Выводы

1. Уровень ТЭ в мышечной ткани бычка-кругляка существенно влияет на прооксидантно-антиоксидантный статус крови рыб, что подтверждают значения коэффициентов корреляции.

2. Влияние ТЭ на АО ферментативную систему и уровень окислительной модификации белков крови зависит от концентрации, токсичности / биофильности элемента и эффективности механизмов его детоксикации, определяющих адаптационные возможности вида.

Литература

1. Кузьминова Н. С., Костова С. К., Плотичина О. В. Содержание ртути в тканях рыб прибрежного комплекса г. Севастополь в 2005–2007 гг. // Рыбное хозяйство Украины. 2009. № 2–3. С. 29–36.
2. Голованова И. Л. Влияние тяжелых металлов на физиолого-биохимический статус рыб и водных беспозвоночных // Биология внутренних вод. 2008. № 1. С. 99–108.
3. Столяр О. Б. Роль металогіонеїнів в детоксикації йонів міді, цинку, марганцю та свинцю в організмі прісноводних риб і молюсків: автореф. дис. ... д-ра біол. наук: 03.00.04. Львів, 2004. 33 с.
4. Борвинская Е. В., Смирнов Л. П., Немова Н. Н. Лутатион-S-трансферазы рыб — потенциальные эколого-биохимические индикаторы антропогенного воздействия на водную среду (обзор) // Тр. КарНЦ РАН. 2009. № 3. С. 8–9.
5. Liu H., Wang W., Zhang J., Wang X. Effects of copper and its ethylenediaminetetraacetate complex on the antioxidant defenses of the goldfish, *Carassius auratus* // Ecotoxicol. Environ. Saf. 2006. Vol. 65, N 3. P. 350–354.
6. Сырье и продукты пищевые. Атомно-абсорбционный метод определения токсичных элементов: ГОСТ 30178-96 (Межгосударственный стандарт), [Действующий от 1998-01-01]. М.: Ин-т пит. РАМН, 1998. 12 с.
7. Сырье и продукты пищевые. Методы определения токсичных элементов: ГОСТ 26929-86, ГОСТ 26930-86, ГОСТ 26934-86 (Государственный стандарт Союза ССР), [Действующий от 1989-01-07]. М.: Ин-т пит. РАМН, 1986. С. 3–81.

8. Методические рекомендации по обнаружению и определению общей ртути в пищевых продуктах методом беспламенной абсорбции: № 5178-90, [Действующий от 1990-21-06]. М.: Ин-т пит. РАМН, 1990. С. 97–102.
9. Троицкая О. В. Электрофорез гемоглобинов на ацетилцеллюлозе // Современные методы в биохимии. М.: Медицина, 1977. С. 241–246.
10. Асатиани В. С. Ферментные методы анализа. М.: Наука, 1969. 611 с.
11. Nishikimi M., Rao N. A., Jagik K. The occurrence of superoxide anion in the reaction of reduced phenazine // Biochim. Biophys. Res. Com. 1972. Vol. 46, N 2. P. 849–854.
12. Практикум по физико-химическим методам в биологии / под ред. Ф. Ф. Литвина. М.: Изд-во МГУ, 1981. 239 с.
13. Переслегина И. А. Активность антиоксидантных ферментов слюны здоровых детей // Лаб. дело. 1989. № 11. С. 20–23.
14. Дубинина Е. Е., Бурмистов С. О., Ходов Д. А., Поротов И. Г. Окислительная модификация белков сыворотки крови человека, метод ее определения // Вопросы мед. химии. 1995. № 1. С. 24–26.
15. Лакин Г. Ф. Биометрия. М.: Высш. школа, 1990. 352 с.
16. Омельченко С. О. Состояние азотистого обмена рыб в условиях загрязнения нитрозамином и токсичными элементами: дис. ... канд. биол. наук. Симферополь, 2009. 162 с.
17. Руднева И. И., Скуратовская Е. Н., Омельченко С. О., Залевская И. Н. Применение биомаркеров крови рыб для экотоксикологической оценки прибрежных морских акваторий // Экологическая химия. 2010. Т. 17, вып. 2. С. 77–84.
18. Скальный А. В. Химические элементы в физиологии и экологии человека. М.: Издательский дом «ОНИКС 21 век»: Мир, 2004. 216 с.
19. Фальфушинська Г. І., Касянчук М. М., Столяр О. Б. Кумуляція міді, цинку, марганцю і свинцю в металотіонінах та інших клітинних компонентах тканин рака за забруднення ними водного середовища // Наук. Зап. Тернопіль. Пед. ун-ту. Сер. Біологія. 2003. № 3–4 (22). С. 105–109.
20. Биоиндикация экологического состояния морских акваторий с помощью биомаркеров рыб / Руднева И. И., Скуратовская Е. Н., Дорохова И. И., Граб Ю. А., Залевская И. Н., Омельченко С. О. // Водные ресурсы. 2011. Т. 38, № 1. С. 92–97.
21. Окислительная модификация белков: окисление триптофана и образование битиروزина в очищенных белках с использованием системы Фентона / Дубинина Е. Е., Гавровская С. В., Кузьмич Е. В., Леонова Н. В., Морозова М. Г., Ковругина С. В., Смирнова Т. А. // Биохимия. 2002. Т. 67 (3). С. 413–421.
22. Moriwaki H., Osborn M. R., Phillips D. H. Effects of mixing metal ions on oxidative DNA damage mediated by a Fenton-type reduction // Toxicol. In Vitro. 2008. Vol. 22. P. 36–44.
23. Столяр О. Б., Грубишко В. В., Михайлиш П. Л., Мищук Е. В. Влияние условий существования на связывание тяжелых металлов и окислительную деструкцию биомолекул в тканях пресноводного двусторчатого моллюска *Anodonta cygnea* // Гидробиол. журн. 2003. Т. 39, № 6. С. 73–82.
24. Eckwert H., Alberti G., Kohler H. R. The induction of stress proteins (hsp) in *Oniscus asellus* (Isopoda) as a molecular marker of multiple heavy metal exposure I. Principles and toxicological assessment // Ecotoxicology. 1997. Vol. 6. P. 249–262.
25. Effects of exposure to multiple trace metals on biochemical, histological and ultrastructural features of gills of a freshwater fish, *Channa punctata* Bloch / Pandey S., Parvez S., Ansari R. A., Ali M., Kaur M., Hayat F., Ahmad F., Raisuddin S. // Chem. Biol. Interact. 2008. Vol. 174, N 3. P. 183–192.
26. Sen A., Semiz A. Effects of metals and detergents on biotransformation and detoxification enzymes of leaping mullet (*Liza saliens*) // Ecotoxicol. Environ. Saf. 2007. Vol. 68, N 3. P. 405–411.

Статья поступила в редакцию 14 октября 2013 г.

Сведения об авторах

Ковыршина Татьяна Борисовна — ведущий инженер
 Омельченко Светлана Олеговна — кандидат биологических наук
 Kovyrshina T. B. — Leading Engineer
 Omelchenko S. O. — Ph.D.