

УДК 577.152.1

ОТВЕТНЫЕ РЕАКЦИИ АНТИОКСИДАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ МОРСКОГО ЕРША (*SCORPAENA PORCUS L.*) НА АНТРОПОГЕННОЕ ЗАГРЯЗНЕНИЕ

Скуратовская Е. Н.

В последнее десятилетие заметно усилилось антропогенное воздействие на морские экосистемы, приводящее к отрицательным изменениям на всех уровнях биологической организации. Однако эти изменения происходят в течение достаточно длительного времени, что не дает возможности получить оперативную информацию о состоянии организмов, находящихся в разных условиях антропогенного воздействия. В связи с этим в настоящее время является актуальным поиск и применение таких биологических индикаторов (биомаркеров), которые позволяют в достаточно краткие сроки оценить ответную реакцию организма на загрязнение. В качестве таких биомаркеров используется активность ферментов антиоксидантной системы [1].

Антиоксидантная система является важнейшей и одной из наиболее эффективных защитных систем организма, участвующих в процессах трансформации и деградации ксенобиотиков. Она включает ферменты и низкомолекулярные антиоксиданты.

Антиоксидантные ферменты характеризуются высокой специфичностью действия, направленного против определенных активированных кислородных метаболитов, специфичностью клеточной и органной локализации, а также использованием в качестве катализаторов металлов, к которым относятся медь, цинк, марганец, железо, селен [2].

Таким образом, исследование активности ферментов антиоксидантной системы позволяет оценить ответную реакцию организма на антропогенное загрязнение. При этом важное значение имеет выбор индикаторных видов (“биомониторов”).

Для прибрежных зон Черного моря, как наиболее подверженных загрязнению, в качестве “биомониторного” вида можно предложить морского ерша *Scorpaena porcus L.* Это широко распространенный прибрежный вид. Он встречается на глубине от 1 до 40 метров, наиболее активен в ночное время. Размножается с конца мая – начала июня до середины сентября [2,3].

В связи с этим целью настоящей работы явилось изучение активности антиоксидантных ферментов – супероксиддисмутазы (СОД), глутатионредуктазы и глутатион-S-трансферазы крови морского ерша, обитающего в прибрежных акваториях с разным уровнем загрязнения.

Материал и методы

Материал был собран в четырех бухтах г. Севастополя: Омега, Стрелецкая, Карантинная и Мартынова.

Активность глутатионредуктазы определяли методом Переслегиной [4] по убыли концентрации НАДФН в течение 10 минут при длине волны 340 нм.

Активность СОД определяли методом Nishikimi et al [5] с использованием системы НАДФ-ФМС-НСТ.

Активность глутатион-S-трансферазы определяли методом Переслегиной [4] по накоплению конъюгата в течение 3 минут при длине волны 340 нм.

Результаты подвергали статистической обработке, сравнение проводили на основе критерия Стьюдента [6].

Результаты и обсуждение

Для оценки факторов, влияющих на физиологическое состояние рыб, необходимо проанализировать уровень загрязнения бухт, в которых они обитают. Согласно данным, представленным Государственной инспекцией по охране Черного моря, бухты Стрелецкая и Карантинная подвергаются постоянному загрязнению, вследствие наличия ежесуточных выбросов в объеме 50 – 350 м³.

В меньшей степени такому воздействию подвержена Мартынова бухта, а наиболее чистой является Омега (таблица 1).

Таблица 1
Загрязнение бухт г. Севастополя (по данным Государственной инспекции охраны Черного моря)

| Наименование бухты | Кол-во выбросов сточных вод, м ³ /сут | Нефтеуглеводороды, мг/л | СПАВ, мг/л | БПК ₅ , мг/л | Взвеш. в-ва, мг/л | Fe, мг/л | NH ₃ ⁺ -N, мг/л | NO ₃ , мг/л |
|--------------------|--|-------------------------|------------|-------------------------|-------------------|----------|---------------------------------------|------------------------|
| Омега | аварийный выпуск | 0,001 | 0,001 | 1 | 1 | 0,02 | 0,02 | 0,002 |
| Мартынова | аварийный выпуск КНС №1 | 0,03 | 0,002 | 2,1 | 1,9 | 0,02 | 0,03 | 0,003 |
| Карантинная | 50 | 0,07 – 0,05 | 0,003 | 2,5 | 3,4 | 0,03 | 0,044 | 0,003 |
| Стрелецкая | 350 | 0,15 – 0,08 | 0,009 | 2,9 | 2,4 | 0,07 | 0,03 | 0,004 |

Таким образом, из данных таблицы видно, что наиболее чистой бухтой является Омега, тогда как три остальные бухты имеют приблизительно одинаковый уровень загрязнения.

Сравнительный анализ активности антиоксидантных ферментов представлен в таблице 2.

Из приведенных в таблице 2 данных можно видеть, что в крови ерша из Стрелецкой, Мартыновой и Карантинной бухт активность СОД более чем в 4 раза ($p < 0,01$) превышает показатели рыб из наиболее чистой бухты Омега.

Активность глутатион-S-трансфераза в крови ерша из Мартыновой бухты достоверно выше (более чем в 2 раза, $p < 0,01$) по сравнению с показателем рыб из бухты Омега. Отмечена тенденция увеличения активности фермента крови рыб в ряду Омега @ Стрелецкая @ Карантинная.

Таблица 2

Активность антиоксидантных ферментов эритроцитов крови рыб из различных бухт г. Севастополя (мг. белка в мин, $M \pm m$)

| Ферменты | Бухты | | | |
|---|-----------------|------------------|-----------------|------------------|
| | б. Омега | б. Мартынова | б. Стрелецкая | б. Карантинная |
| | $M \pm m$ | $M \pm m$ | $M \pm m$ | $M \pm m$ |
| СОД, усл. ед. | $3,32 \pm 0,71$ | $15,15 \pm 0,83$ | $14,0 \pm 0,31$ | $14,34 \pm 0,78$ |
| Глутатионредуктаза, н моль НАДФН | $1,28 \pm 0,81$ | $2,61 \pm 0,3$ | $1,3 \pm 0,44$ | $1,18 \pm 0,16$ |
| Глутатион-S-трансфераза, н моль конъюгата | $5,49 \pm 0,82$ | $12,73 \pm 1,41$ | $6,32 \pm 0,99$ | $7,75 \pm 0,85$ |

Активность глутатионредуктазы крови ерша из Мартыновой бухты в 2 раза ($p < 0,01$) превышает показатели рыб из других бухт.

Таким образом, совершенно очевидно, что активность СОД крови рыб достоверно выше у особей, обитающих в более загрязненных бухтах. Параметры СОД как ключевого фермента антиоксидантной защиты в наибольшей степени отражают состояние организма, находящегося в неблагоприятных условиях.

Аналогичные данные по активности увеличения СОД были отмечены другими исследователями в тканях беспозвоночных [7], в крови морского ерша [1], атерины [8], бычка-кругляка [9], обитающих в акваториях с разным уровнем загрязнения.

Что касается других исследуемых ферментов, то следует отметить повышение активности глутатионредуктазы и глутатион-S-трансферазы в крови рыб из Мартыновой бухты. В связи с неисправностью очистных сооружений г. Севастополя происходят частые аварии на коллекторах, в результате чего тысячи кубометров неочищенных стоков выбрасываются через аварийные выпуски в море. В этом отношении наибольшая нагрузка приходится на аварийный выпуск в Мартыновой бухте.

Ксенобиотики, которые попадают в этом случае в море, вызывают стресс у морских обитателей, включая рыб, и приводят к индукции активности антиоксидантных ферментов (глутатионредуктазы, глутатион-S-трансферазы). Такие же тенденции были выявлены другими исследователями [1,8].

Особо обращает на себя внимание повышение активности глутатион-S-трансферазы в крови рыб, что, вероятно, связано с усилением процессов конъюгации ароматических углеводов.

Выводы

1. Активность СОД достоверно выше в крови рыб, обитающих в более загрязненных акваториях.

2. Активность глутатионредуктазы и глутатион-S-трансферазы существенно выше в крови рыб в Мартыновой бухте по сравнению с показателями особей из других бухт. Однако активность глутатион-S-трансферазы в крови рыб в бухтах Стрелецкая, Мартынова, Карантинная выше по сравнению с показателями особей из бухты Омега.

3. Активность СОД может быть рекомендована в качестве биомаркера для оценки состояния рыб и среды их обитания.

Список литературы

1. Овен Л. С., Руднева И. И., Шевченко Н. Ф. Ответные реакции морского ерша *Scorpaena roquas* на антропогенное воздействие // Вопросы ихтиологии. – 2000. – Т. 40. – № 1. – С. 75 – 78.
2. Меньшикова Е. Б., Зенков Н. К. Антиоксиданты и ингибиторы радикальных окислительных процессов // Успехи современной биологии. – 1993. – Т. 113. – С 442 – 468.
3. Паликин А. Н., Круглов М. В. Распространение морского ерша Крыма на примере бухты Ласпи // Поведение рыб. Тех. докл. 2 – го Всерос. совещ. Борок. – 1996. – 79 с.
4. Переслегина И. А. Активность антиоксидантных ферментов слюны здоровых детей // Лабор. дело. – № 11. – С. 20 – 23.
5. Nishikimi M., Rao N. A., Yagik K. The occurrence of superoxide anion in the reduced phenazine // Biochem. Biophys. Res. Commun. – 1972. – V. 46. – № 2. – P 849 – 854.
6. Лакин Г. Ф. Биометрия. – М.: Высш. школа – 1990. – 352 с.
7. Goksoyr A., Beyer F., Egaas E. et al. Biomarker responses in flounder and their use in pollution monitoring. // Mar. Pollution Bull. – 1996. – V.33. – № 1 – 6. – P. 36 – 45.
8. Руднева И. И. Ответные реакции морских животных на антропогенное загрязнение Черного моря // Автореферат докт. дис. – М.: МГУ. 2000. 55с.
9. Чесалина Т. Л., Руднева И. И. Воздействие тяжелых нефтяных фракций на икру и личинок черноморского бычка-кругляка // Вопр. ихтиологии. – 1998. – Вып. 3. – т. 38. – С. 26 – 29.

Поступила в редакцию 9.04.2003 г.