

АНАЛИЗ СЕЗОННОЙ ДИНАМИКИ АКТИВНОСТИ СЫВОРОТОЧНЫХ ФЕРМЕНТОВ МОРСКОГО ЕРША *SCORPAENA PORCUS*

© 2010 г. О.В. Рощина

Институт биологии южных морей НАН Украины, Севастополь, Украина, 99011

Поступила в редакцию 21.04.2009 г.

Окончательный вариант получен 13.08.2009 г.

Изучена сезонная динамика активности аминотрансфераз (АсАТ и АлАТ), альдолазы и щелочной фосфатазы в сыворотке крови морского ерша *Scorpaena porcus*, обитающего в прибрежных акваториях г. Севастополя. Выявлены вариации активности ферментов, связанные с особенностями физиологического состояния рыб в различные периоды года. Сделан вывод о необходимости учитывать сезонные изменения активности сывороточных ферментов, характеризующих физиолого-биохимический статус рыб, в мониторинговых программах.

Ключевые слова: аминотрансферазы, альдолаза, щелочная фосфатаза, сезонность, морской ерш.

Большинство показателей метаболизма у рыб, включая ферментативную активность, характеризуются значительной сезонной вариабельностью. Одним из ключевых факторов, определяющих направленность и интенсивность обмена у рыб в течение года, является температура окружающей среды (Shulman, Love, 1999). В ряде работ показаны сезонные изменения активности пищеварительных ферментов (пепсина, трепсина, липазы, амилазы) (Багнюкова и др., 2000), основных ферментов катаболизма углеводов (ЛДГ, СДГ, Г6ФДГ) (Эмеретли, Русинова, 2001), ферментов антиоксидантной системы (СОД, каталазы, пероксидазы) в различных тканях рыб (Грубинко, Леус, 2001; Руднева, 2003; Amando et al., 2006). Следует отметить, что, именно, сезонность оказала основное влияние на формирование годового цикла, который можно рассматривать как одно из приспособлений, обеспечивающее устойчивость жизнедеятельности рыб в постоянно меняющихся условиях существования (Шатуновский, 1980; Shulman, Love, 1999).

В тоже время усиливающаяся антропогенная нагрузка на морские акватории приводит к изменению физико-химических свойств среды, которые в свою очередь могут модифицировать эволюционно сформированные годовые циклы рыб (Моисеенко и др., 2006). Это проявляется в нарушении процессов репродукции, роста и развития, снижении жизнеспособности, и, следовательно, сокращении видового биоразнообразия и уменьшении запасов рыбных ресурсов (Соколов, Шатуновский, 1996; Руднева и др., 2005).

В связи с этим остро стоит проблема оценки физиолого-биохимического состояния рыб и их адаптационного потенциала в изменяющихся условиях существования. В этом случае биохимические показатели являются наиболее информативными, так как молекулярные системы наиболее быстро реагируют на происходящие изменения и могут применяться в системах ранней диагностики (Руднева, 2007). К ним можно отнести такие сывороточные ферменты, как аминотрансферазы, альдолаза и щелочная фосфатаза. Изменение их активности имеет диагностическое значение для организма, характеризуя состояние печени, ее биосинтетическую и детоксикационную функции.

На этом основании целью настоящей работы явилось изучение годовой динамики активности некоторых ферментов в сыворотке крови морского ерша

Scorpaena porcus, являющегося биомониторным видом прибрежной части г. Севастополя, для оценки влияния сезонных факторов на состояние рыб.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом исследования служила сыворотка крови морского ерша, отловленного в акватории г. Севастополя (в бухтах Карантинной и Мартынова) в период с 2002 по 2005 гг. Средняя температура воды в бухтах в течение года составила: зимой + 8 °С, весной + 12,2 °С, летом + 22,5 °С, осенью + 18,0 °С.

Биологический анализ рыб, включавший измерение общей и стандартной длины, определение массы рыбы и тушки, пола, стадии зрелости, проводили по общепринятым методикам (Правдин, 1966; Шварц и др., 1968). Всего было исследовано 260 экземпляров морского ерша.

В индивидуальных образцах сыворотки, полученной методом отстаивания на холоду, определяли активность аминотрансфераз унифицированным калориметрическим методом Райтмана и Френкеля (микрометод), альдолазы – методом В.И. Товарницкого и Е.Н. Волуйской в модификации В.А. Ананьева и В.Р. Обуховой и щелочной фосфатазы – методом Кинга-Амстронга (Иванов и др., 1972). Измерение ферментативной активности осуществлялся на спектрофотометре Spekoll – 211 (фирма Carl Zeiss, Iena Германия) при комнатной температуре, так как проводили исследования пойкилотермных организмов в физически адекватных условиях (Хочачка, Сомеро, 1977).

Сравнительный анализ данных осуществляли с использованием t-критерия Стьюдента. Результаты считали достоверными в случае, если $p \leq 0,05$. С целью выявления зависимости между исследуемыми параметрами рассчитывали коэффициент корреляции для каждой пары значений с помощью стандартной программы «EXCEL». При этом считали, что коэффициентам корреляций $0 < r < 0,3$ соответствует слабая связь, $0,3 < r < 0,5$ – умеренная, $0,5 < r < 0,7$ – значительная, $0,7 < r < 0,9$ – сильная (Лакин, 1990).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Установлена динамика активности сывороточных аминотрансфераз в течение года (рис. 1). Наибольшее значение активности АсАТ в сыворотке морского ерша выявлено летом ($4,61 \pm 0,28$ мкмоль/час·мл), что в 2 раза выше по отношению к значениям в остальные сезоны ($p < 0,05$). Осенью отмечено резкое ее уменьшение. Зимой снижение активности продолжалось, однако не столь интенсивно. Весной зафиксировано наименьшее значение данного показателя ($1,03 \pm 0,17$ мкмоль/час·мл).

Иная картина установлена для активности АлАТ. Активность данного фермента была выше зимой по сравнению с таковой в другие сезоны ($2,45 \pm 0,34$ мкмоль/час·мл). Весной она падала, но вновь возрастала летом и оставалась почти на том же уровне осенью. Достоверные отличия установлены только между значениями в летний и зимний периоды ($p < 0,05$).

Высокий коэффициент корреляции выявлен между активностью сывороточной АсАТ и температурой воды ($r = 0,79$), тогда как этот показатель для активности АлАТ был значительно ниже ($r = -0,12$).

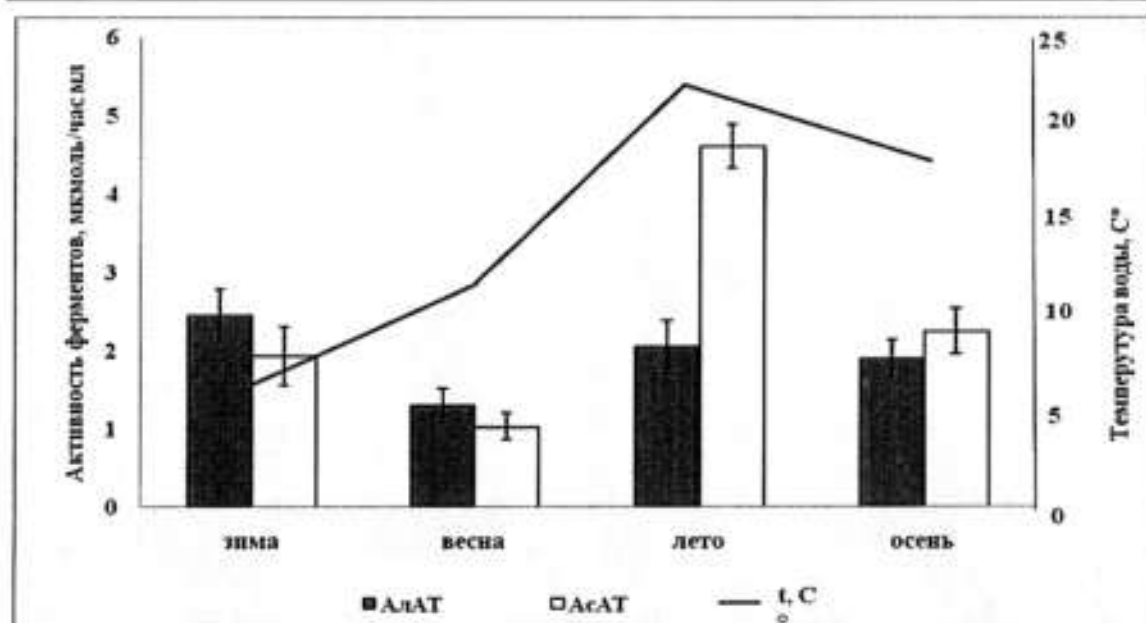


Рис. 1. Активность аминотрансфераз в сыворотке крови морского ерша в разные сезоны года.
Fig. 1. Activity of aminotransferase in blood serum of scorpion fish in different seasons.

Динамика коэффициента де Ритиса приведена на рисунке 2.

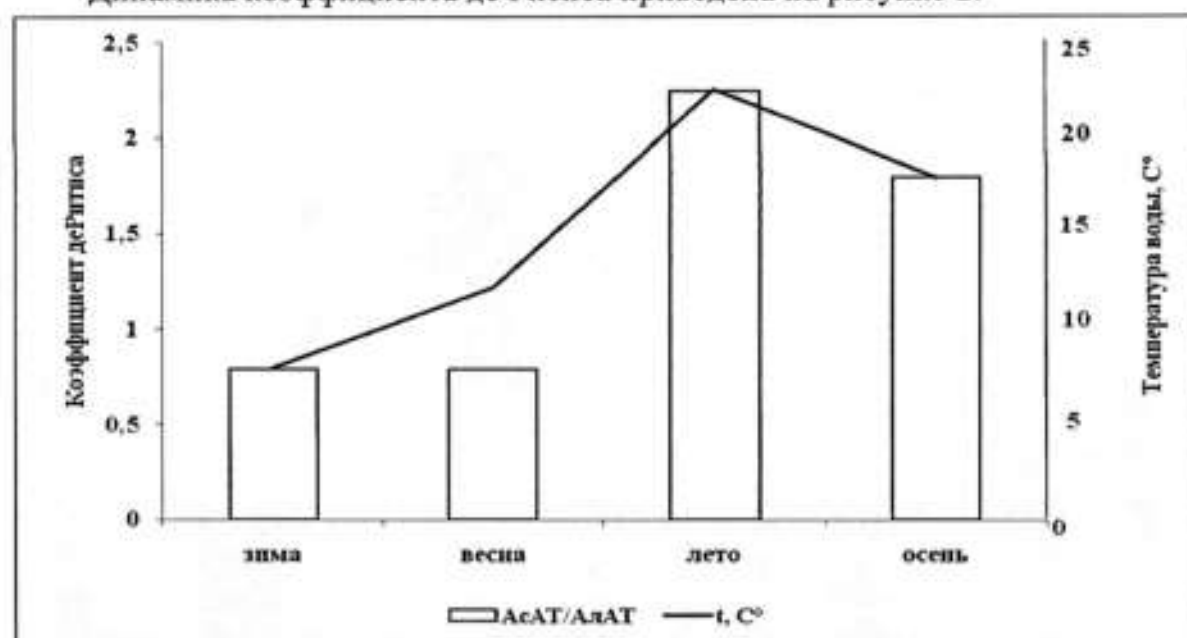


Рис. 2. Значения коэффициента де Ритиса (AsAT/AlAT) морского ерша в разные сезоны года.
Fig. 2. Coefficient de Ritis (AST/ALT) in blood serum of scorpion fish in different seasons.

Установлено увеличение данного показателя летом, а осенью его снижение. В зимний и весенний периоды его значения наименьшие. При этом отмечена высокая корреляция между коэффициентом и температурой воды ($r=0,96$).

Активность альдолазы в сыворотке крови морского ерша подвержена сезонным вариациям (рис. 3). Установлено возрастание активности весной ($0,54 \pm 0,06$ мкмоль·мл/час). Летом и зимой она была на одном уровне, и только осенью отмечено незначительное ее снижение. Различия достоверны только между ее значениями в весенний и летне-осенний периоды ($p<0,05$). Установлена умеренная отрицательная корреляционная связь между активностью альдолазы и температурой воды ($r=-0,42$).

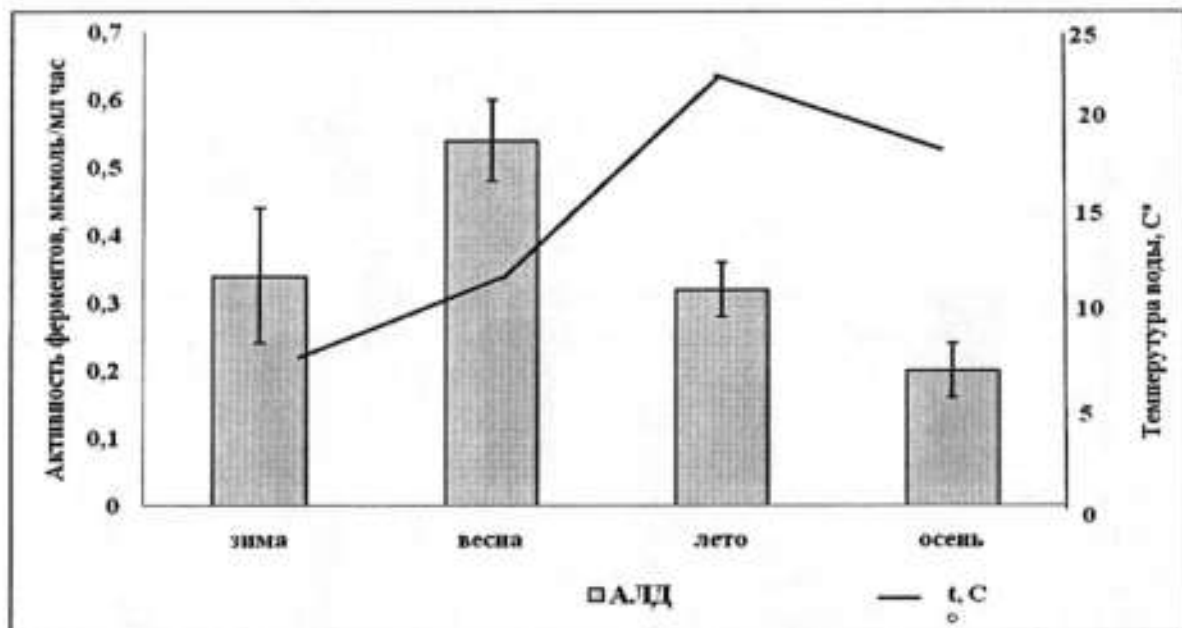


Рис. 3. Активность альдолазы в сыворотке крови морского ерша в разные сезоны года.
Fig. 3. Activity of aldolase in blood serum of scorpion fish in different seasons.

Изменения активности щелочной фосфатазы в течение года представлены на рисунке 4.



Рис. 4. Активность щелочной фосфатазы в сыворотке крови морского ерша в разные сезоны года.
Fig. 4. Activity of alkaline phosphates in blood serum of scorpion fish in different seasons.

Наименьшее значение активности установлено зимой ($1,23 \pm 0,17$ мкмоль/час·мл). Весной она резко возрастала ($p < 0,05$), достигая в этот период максимального значения ($3,45 \pm 0,32$ мкмоль/час·мл). Летом отмечен небольшой спад активности, хотя она продолжала оставаться на достаточно высоком уровне по сравнению с зимним периодом ($p < 0,05$). Осенью происходило значительное ее снижение. В данном случае корреляционная связь между данным показателем и температурой воды умеренная ($r = -0,42$).

Таким образом, результаты исследований позволили установить определенную динамику активности некоторых ферментов в сыворотке крови морского ерша в различные сезоны. По всей видимости, выявленные различия активности ферментов связаны с реорганизацией обмена веществ в течение года. Данный процесс является одним из путей адаптации организма, направленным на эффективное использование потенциальных выгод, связанных с изменением температурного режима среды (Хочачка, Сомеро, 1977). Так основные процессы жизнедеятельности рыб (нерест, рост, накопление энергетических резервов) приурочены к наиболее благоприятным сезонам года (Shulman, Love, 1999).

Увеличение активности АсАТ отмечено летом, когда вода в акваториях максимально прогревается. Значения остальных показателей находились также на достаточно высоком уровне. Как известно, морской ерш относится к группе летне-нерестящихся черноморских рыб с непрерывным типом созревания ооцитов и многопорционным икрометанием. Генеративный рост наблюдается на протяжении всего летнего периода, хотя массовый нерест приходится на июль месяц (Овен, 1976). Возрастание активности сывороточных ферментов обусловлено усилением общего метаболизма во время нереста, так как репродуктивный процесс энергозатратен и требует значительной доли внутренних ресурсов организма. При этом происходит перераспределение энергетического и пластического материала и соответственно интенсификация процессов кровообращения (Shulman, Love, 1999), о чем свидетельствует высокое последнее значение коэффициента де Ритиса в этот период.

В осенний период с понижением температуры воды установлено уменьшение активности всех исследуемых ферментов. В тоже время в середине сентября завершается нерест морского ерша (Овен, 1976), происходит прекращение генеративных процессов, а также наблюдается стабилизация роста, уменьшение интенсивности питания, что приводит к снижению уровня общего обмена (Shulman, Love, 1999).

Далее зимой, в связи с падением температуры воды, метаболизм у рыб понижен, питание прекращено полностью или в значительной мере сокращено, рыбы малоактивны, энергозатраты минимальны, окислительные процессы замедлены (Shulman, Love, 1999). В данный период выявлено значительное уменьшение активности исследуемых ферментов. Исключение составила активность АлАТ, так как наибольшее ее значение зафиксировано зимой. Известно, что печень является основным депонирующим органом морского ерша, хотя составляет всего 2,5% от массы тела. В ней содержится более 50% всех резервных углеводов и липидов тела, которые в основном используются при голодании, значительных энергетических тратах зимой (Shulman, Love, 1999). Повышение активности АлАТ в сыворотке, вероятно, связано с увеличением функциональной нагрузки на печень в этот период. Подтверждением служит снижение коэффициента де Ритиса в зимнее время.

Повышение активности щелочной фосфатазы и альдолазы весной в преднерестовый период морского ерша могут быть обусловлены активизацией процессов гаметогенеза, соматического роста, повышением мышечной активности (Эмеретли, Русинова, 2001).

Таким образом, на основании полученных результатов можно заключить, что активность исследуемых ферментов в сыворотке крови рыб подвержена сезонным изменениям, обусловленным эволюционно сформированными физиологическими ритмами в течение года. В тоже время температура окружающей среды оказывает

непосредственное влияние на активность ферментов, активируя или подавляя обмен веществ у рыб. Наиболее чувствительными к температурным колебаниям воды являются АсАТ, в меньшей степени альдолаза и щелочная фосфатаза, и наименее – АлАТ. Однако необходимо отметить, что изменения ферментативной активности могут быть также обусловлены различным уровнем антропогенной нагрузки в каждый период года.

Полученные результаты еще раз подтверждают тот факт, что физиолого-биохимическое состояние организма подвержено сезонным вариациям, что должно учитываться в мониторинговых программах с использованием биохимических индикаторов действия стрессовых факторов, которыми являются исследованные сывороточные ферменты (Adams, 2005).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Багнюкова Т.В., Русинова О.С., Луцак В.И. Сезонные изменения некоторых физиолого-биохимических и морфологических показателей султанки *Mullus barbatus ponticus* Essipov // Гидробиологический журнал. 2000. Т. 36. №3. С. 23-30.
- Грубинко В.В., Леус Ю.В. Перекисное окисление липидов и антиоксидантная защита у рыб (обзор) // Гидробиологический журнал. 2001. Т. 37. №1. С. 64-78.
- Данилова Л.А. Анализ крови и мочи. С-Пб., 2002. 56 с.
- Иванов И.И., Коровкин Б.Ф., Манкелов И.М. Введение в клиническую энзимологию. Л.: Медицина, 1972. 277 с.
- Лакин Р.Ф. Биометрия. М.: Высшая школа, 1990. 352 с.
- Моисеенко Т.И., Кудрявцева Л.П., Гашикина Н.А. Рассеивание элементов в поверхностных водах суши. Технофильность, биоаккумуляция, экотоксикология. М.: Наука, 2006. 262 с.
- Овен Л.С. Особенности оогенеза и характера нереста морских рыб. Киев: Наукова думка, 1976. 132 с.
- Правдин И.Ф. Руководство по изучению рыб. М.: Пищевая промышленность, 1966. 376 с.
- Руднева И.И. Эколого-физиологические особенности антиоксидантной системы у рыб и процессов перекисного окисления липидов // Усп. совр. биологии. 2003. Т. 123. №4. С. 392-340.
- Руднева И.И. Применение биохимических маркеров для оценки здоровья рыб. Сб. Проблемы иммунологии, патологии и охраны здоровья рыб и других гидробионтов – 2: Расширенные материалы Междунар. научно-практич. конф., 17-20 июня 2007, Борок. М.: Россельхозакадемия, 2007. С. 234-238.
- Руднева И.И., Шевченко Н.Ф., Залевская И.Н., Жерко Н.В. Биомониторинг прибрежных вод Черного моря // Водные ресурсы. 2005. Т. 32. №2. С. 238-246.
- Соколов В.Е., Шатуновский М.И. Можно ли сохранить биологическое разнообразие // Вестник РАН. 1996. Т. 66. №5. С. 422-424.
- Хочачка П., Сомеро Дж. Стратегия биохимической адаптации. М.: Мир, 1977. 384 с.
- Шатуновский М.И. Экологические закономерности обмена веществ морских. М.: Наука, 1980. 288 с.
- Шварц С.С., Смирнов В.С., Дробинский Л.Н. Метод морфофизиологических индикаторов в экологии наземных позвоночных // Тр. Ин-та экологии растений и животных. 1968. Вып. 58. 386 с.
- Эмеретли И.В., Русинова О.С. Активность ферментов основных путей окисления углеводов в тканях рыб // Гидробиологический журнал. 2001. Т. 37. №1. С. 79-86.

Adams S.M. Assessing cause and effect of multiple stressors on marine systems // Mar. Pollut. Bull. 2005. V. 51. №8-12. Pp. 649-657.

Amando L.L., Robaldo R.B., Geracitano L. et al. Biomarkers of exposure and effect in the Brazilian flounder *Paralichthys orbignyanus* (Teleostei: Paralichthyidae) from the Patos Lagoon estuary (Southern Brazil) // Mar. Pollut. Bull. 2006. V. 52. №2. Pp. 199-206.

Shulman G.E., Love R.M. Advances in marine biology. V. 36. The biochemical ecology of marine fishes. Ed. Southward A.S., Tyler P.A., Young C.M. San Diego; San Francisco; New York etc.: Acad. Press, 1999. 351 p.

ANALYSIS OF THE SEASONAL DYNAMICS OF SERUM ENZYME ACTIVITIES IN SCORPION FISH *SCORPAENA PORCUS*

© 2010 y. O.V. Roshina

Institute of Biology of Southern Seas, Ukraine

The seasonal dynamics of enzyme activity (aminotransferase, aldolase and alkaline phosphatase) in blood serum of scorpion fish (*Scorpaena porcus*) inhabiting coastal area of Sevastopol Bay was investigated. Variations of serum enzymes activity associated with the physiological state of fish in different seasons were shown. Thus, seasonal analysis of examined parameters could be used for the evaluation of physiological status in the monitoring programs.

Key words: aminotransferase, aldolase, alkaline phosphatase, seasonality, scorpion fish.