

**МОЛЕКУЛЯРНЫЕ БИОМАРКЕРЫ АНТРОПОГЕННОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ  
В ПЕЧЕНИ БЫЧКА-КРУГЛЯКА *NEOGOBIOUS MELANOSTOMUS*  
ИЗ ТАГАНРОГСКОГО ЗАЛИВА**

© 2011 г. О.Ш. Карапетян<sup>1</sup>, Н.И. Цема<sup>2</sup>, С.И. Дудкин<sup>2</sup>

1 - ФГОУ ВПО «Южный федеральный университет», Ростов-на-Дону 344006

2 - ФГУП «Азовский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства»,  
Ростов-на-Дону 344002

Поступила в редакцию 12.01.2011 г.

Окончательный вариант получен 16.05.2011 г.

Установлена зависимость уровня ферментов биотрансформации и низкомолекулярных антиоксидантов от степени загрязнения и спектра ксенобиотиков в Таганрогском заливе. Предлагается использование биомаркеров печени бычка-кругляка для оценки состояния рыб в условиях хронического действия персистентных ксенобиотиков.

*Ключевые слова:* бычок-кругляк, Таганрогский залив, биомаркер, цитохром P450, глутатион-S-трансфераза, глутатион, каротиноиды, загрязнение.

**ВВЕДЕНИЕ**

Водные экосистемы в настоящее время подвержены влиянию множества стрессорных факторов, среди которых уровень загрязнения занимает ведущую позицию. Большинство загрязнителей поступает в окружающую среду в результате антропогенной деятельности. Накопление поллютантов в водоемах может приводить к снижению рыбопродуктивности.

В связи с тем, что рыбы часто оказываются непосредственными мишенями для ксенобиотиков, они часто используются как индикаторы токсического действия загрязнения (Pavlovic et al., 2010). Биомониторинг с использованием рыб в качестве биоиндикаторов включает множество направлений, от прямого измерения их смертности до анализа популяционной динамики и определения внутриклеточных показателей.

В настоящее время большое внимание уделяется поиску и изучению биологических маркеров у рыб, которые могут быть использованы для обнаружения негативного влияния загрязнения. Молекулярные биомаркеры – это такие генетические и биохимические характеристики, параметры молекулярных защитных систем, которые позволяют оценить отклики организма на действие различных, в том числе неблагоприятных для него факторов, например, активность неспецифических монооксигеназ, антиоксидантных ферментов, показатели перекисного окисления липидов, белковый состав сыворотки крови и т.д. (Руднева и др., 2004). Молекулярные биомаркеры являются наиболее ранними индикаторами токсичности среды и экологического неблагополучия организмов (Anderson et al., 2003), поэтому исследование их динамики может быть использовано для научного обоснования ПДК загрязняющих веществ, для оценки и прогноза состояния популяций промысловых видов, а также при комплексной экотоксикологической характеристике различных акваторий (Ирейкина, 2008).

В качестве молекулярных биомаркеров широко используются ферменты первой фазы детоксикации – цитохромы P450 (Goksoyr, Forlin, 1992) и второй фазы, в частности, глутатион-S-трансферазы (GST) (Olawale, Ikechukwu, 2007; Rees, 1993).

Данные ферменты печени принимают активное участие в связывании и инактивации широкого спектра ксенобиотиков и эндогенных соединений. Для оценки эколого-физиологического состояния гидробионтов также применяются методы по определению количества низкомолекулярных компонентов антиоксидантной системы печени, например, измерение содержания восстановленного глутатиона (Olawale, Ikechukwu, 2007; Van Der Oost et al., 2003) или уровня каротиноидов в печени (Дудкин, Колесникова, 2005).

Целью данной работы было определение уровня молекулярных биомаркеров антиоксидантной системы и системы детоксикации печени бычка-кругляка *Neogobius melanostomus* из прибрежных акваторий Таганрогского залива с разным уровнем антропогенного воздействия.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа выполнялась на базе ФГУП «Азовский НИИ рыбного хозяйства», г. Ростов-на-Дону. Объектом исследований служил бычок-кругляк *Neogobius melanostomus*. Рыб отлавливали осенью (сентябрь-октябрь) 2010 г. в загрязненном районе акватории морского торгового порта г. Таганрога и в менее загрязненном районе – у с. Весело-Вознесеновка (граница России и Украины).

Село Весело-Вознесеновка (КНП «Золотая Коса») имеет GPS координаты: 47°7'24" с.ш. и 38°18'48" в.д.; г. Таганрог (район морского порта) – 47°12'24" с.ш. и 38°57'17" в.д. Расстояние между двумя исследуемыми точками составляет примерно 53 км.

На исследование было отобрано 76 самцов со II стадией зрелости гонад (СЗГ). Основные линейно-массовые показатели бычка-кругляка представлены в таблице 1.

**Таблица 1.** Основные линейно-массовые показатели бычка-кругляка из Таганрогского залива.  
**Table 1.** The basic linearly-mass parameters of the round goby from Taganrog bay.

Место отлова	Кол-во	Возраст	Стадия зрелости	Длина, см	Масса, г	Масса печени, г	Гепатосоматический индекс
с. Весело-Вознесеновка	33	2+,3+	II	$\frac{12,6 \pm 0,3}{9,5-17,0}$	$\frac{53,8 \pm 3,7}{28,5-126,2}$	$\frac{3,7 \pm 0,4}{0,4-11,1}$	$\frac{6,6 \pm 0,3}{1,1-9,9}$
г. Таганрог, порт	43	1+,2+	II	$\frac{10,4 \pm 0,2}{8,2-15,5}$	$\frac{30,2 \pm 2,0}{15,4-95,8}$	$\frac{1,7 \pm 0,1}{0,98-5,8}$	$\frac{5,7 \pm 0,2}{3,7-8,6}$

**Примечание:** Линейно-массовые показатели приведены в виде  $\frac{M \pm m}{lim}$ .

**Note:** Linearly-mass parameters are presented in the form of  $\frac{M \pm m}{lim}$ .

Одновременно в каждой точке залива проводили отбор проб воды и грунта для определения в них уровня основных загрязнителей. Отбор, консервация, условия транспортировки и хранения проб воды, донных отложений и гидробионтов соответствовали действующим методическим руководствам и нормативным требованиям.

Содержание устойчивых ксенобиотиков определяли и в суммарных пробах бычка-кругляка (анализ проводился в теле рыбы, а не в отдельных тканях).

Образцы ткани печени каждой рыбы извлекали при вскрытии и замораживали в жидком азоте при -196 °С в сосуде Дюара. В печени рыб определяли содержание микросомальных цитохромов b5, P450 и P420 по методу

Omura и Sato (1964), активность глутатион-S-трансферазы постмитохондриальной фракции по методике Sen и Kirikbakan (2004), при  $\lambda = 340$  нм, содержание восстановленного глутатиона по методу Ellman (1959), уровень каротиноидов печени (Корниенко и др., 2005), содержание белка – методом Bradford (1976).

Исследования на наличие контролируемых поллютантов проводились на современном оборудовании по аттестованным методикам в лаборатории аналитического контроля водных экосистем Аналитического испытательного центра ФГУП «АзНИИРХ», аккредитованного Госстандартом РФ на техническую компетентность и независимость и зарегистрированного сроком на 5 лет в Госстандартном реестре от 07 июня 2006 г. под №РОСС.RU.0001.510217.

Количество углеводов определялось комбинированным спектрофотометрическим методом, определение смолистых веществ проводилось методом люминесцентной спектроскопии. Хлорорганические пестициды (ХОП) в воде и донных отложениях определялись газохроматографическим методом. Определение тяжелых металлов (ТМ) – железа, меди, марганца, цинка, хрома, свинца и кадмия в воде проводилось методом, основанным на измерении величины абсорбции атомного пара определяемого элемента. Определение валового содержания алюминия, железа, марганца, стронция, ванадия, никеля, меди, цинка, хрома, свинца, мышьяка, бария и ртути в донных отложениях проводилось методом рентгенфлуоресцентного анализа. Кадмий в донных отложениях определялся методом атомной абсорбции. После соответствующей предварительной подготовки проб в органах и тканях гидробионтов проводилось определение содержания следующих контролируемых токсикантов: нефтяных углеводов – люминесцентным методом, ХОП и полихлорированных бифенилов (ПХБ) – методом газожидкостной хроматографии, ТМ – методом атомной абсорбции с электротермической атомизацией.

Статистическую обработку полученных данных проводили, используя стандартный пакет программ MS Office Excel. Достоверность различий между выборками оценивали по t-критерию Стьюдента.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

По данным химического анализа, проведенного отделом аналитического контроля водных экосистем ФГУП «АзНИИРХ», акватория залива в исследуемых районах имела однотипные спектры загрязняющих веществ. В таблице 2 представлены данные по содержанию ХОП, ПХБ, нефтепродуктов (НП), ТМ (Fe, Mn, Ba, V, Zn, Cr, Ni, Cu, Pb, As, Cd, Hg, Sr) в воде, в донных отложениях Таганрогского залива и в суммарных пробах бычков (Дудкин, 2010).

В районе порта был отмечен значительно более высокий уровень загрязнения воды и грунтов такими загрязнителями как ХОП, НП, ПХБ. В донных осадках в районе с. Весело-Вознесеновка были выше концентрации большинства металлов (кроме стронция, марганца и мышьяка), по-видимому, вследствие близости крупнейшего металлургического центра в г. Мариуполь (Украина). Абсолютное содержание бария и никеля в донных отложениях залива в районе с. Весело-Вознесеновка превышало допустимый уровень концентраций. В суммарных пробах бычка концентрации всех контролируемых металлов не превышали минимальный допустимый уровень, но в то же время их содержание было значительным. Сравнение образцов из разных мест вылова показало значительное превышение

содержания цинка и меди (в 2 и 10 раз, соответственно) в образцах рыб, выловленных в районе с. Весело-Вознесеновка, по сравнению с рыбами из района порта.

**Таблица 2.** Содержание ксенобиотиков в суммарных пробах бычка-кругляка.

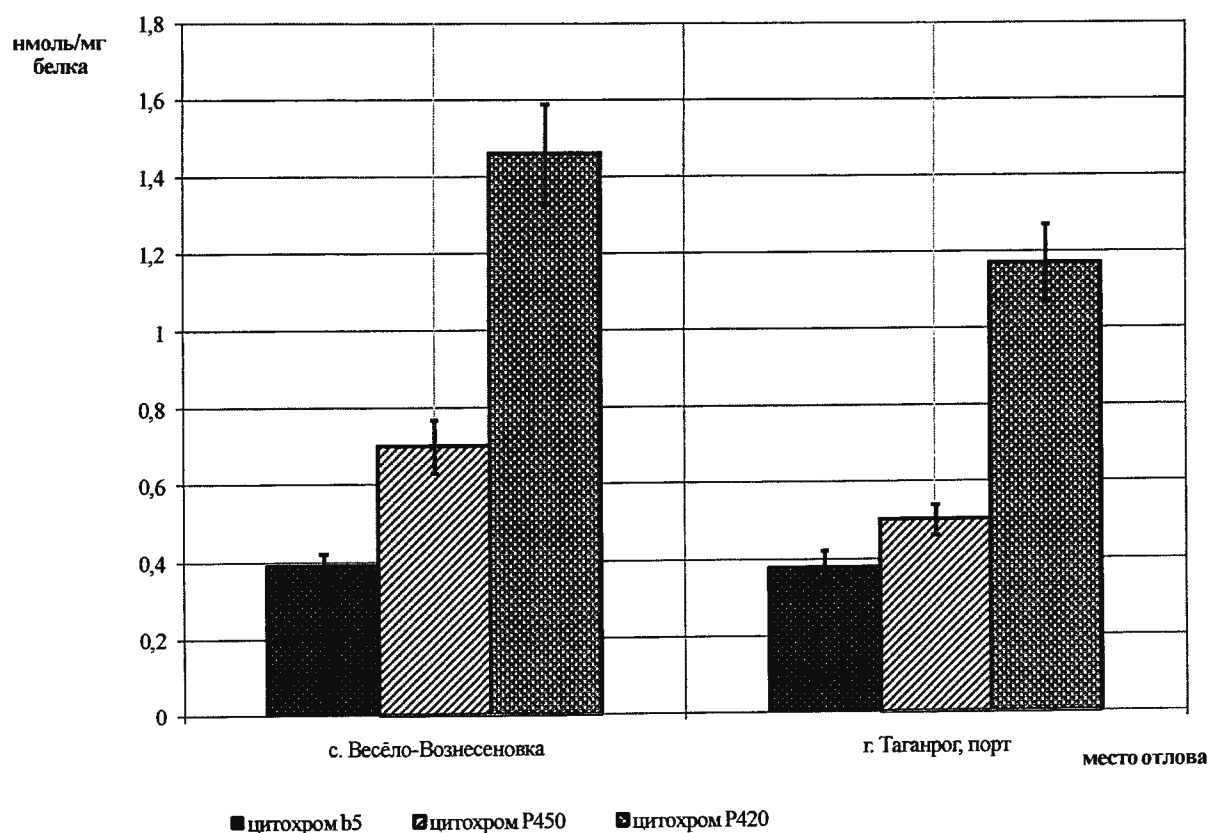
**Table 2.** Content of xenobiotics in integral samples of round goby.

Показатель, ед. измерения	Таганрогский залив	
	с. Весело-Вознесеновка	порт г. Таганрога
НП, мг/кг сырой массы	4	6
ПХБ, мкг/кг сырой массы	<1	2,7
ХОП, мкг/кг сырой массы	1,8-3,1	12,2
Cu, мг/кг сырой массы	2,7	0,26
Zn, мг/кг сырой массы	11	5,2
Cd, мг/кг сырой массы	<0,005	0,007
Pb, мг/кг сырой массы	0,23	0,21

Результаты биохимических исследований показали, что влияние антропогенного загрязнения на биологию бычков остается весомым фактором, снижающим репродуктивную функцию вида. Значения микросомальных цитохромов печени бычка-кругляка, выловленного в выбранных точках Таганрогского залива, не превышали значения прошлых лет (Карапетьян и др., 2010). В то же время у бычков из района порта они были несколько ниже ожидаемых, поскольку в тканях, в том числе и в печени, у рыб данного района были обнаружены аналитически значимые уровни ПХБ, ПАУ, НП – известных индукторов I фазы системы детоксикации. Так, например, содержание активной формы цитохрома P450 в печени бычка-кругляка из залива в районе с. Весело-Вознесеновка на 30% превышало данный показатель у рыб из района порта ( $p < 0,02$ ). Суммарное содержание активной и неактивной форм цитохрома P450 в печени рыб из залива в районе с. Весело-Вознесеновка было выше на 23%, чем у рыб из района порта ( $p < 0,05$ ). По данным ряда авторов (Stegeman, Hahn 1994; Wepener et al., 2005), такой феномен объясняется тем, что присутствие высоких концентраций персистентных органических ксенобиотиков в организме рыб в некоторых случаях может приводить к подавлению их метаболизма в печени и к снижению содержания и активности цитохрома P450. В связи с этим многие исследователи считают, что для более точной оценки здоровья водных организмов, помимо наблюдений за динамикой компонентов микросомальной системы, необходимо использовать дополнительные биомаркеры (Cajaraville et al., 2000).

Анализ полученных данных выявил более высокое содержание в микросомах печени бычков из обоих районов инактивированной формы цитохрома P450 – цитохрома P420, превышающее содержание активной формы в 2 раза ( $p < 0,001$ ) (рис. 1).

Такое соотношение активной и неактивной форм, возможно, является следствием накопления в печени ТМ (например, меди и цинка). Одним из патогенных эффектов, который обнаруживают многие ТМ, является их модифицирующее воздействие на стабильность клеточных мембран. Они способны как напрямую связываться с липидными молекулами, изменяя их заряд и внутреннюю конформацию, так и действовать опосредованно, запуская процесс образования свободных радикалов (Свес, 1990). Токсичность ТМ чаще всего обусловлена их переходной валентностью, которая позволяет вовлекать ионы металлов в окислительно-восстановительные циклы (Борвинская и др., 2009).



**Рис. 1.** Содержание ферментов I фазы детоксикации в печени бычка-кругляка Таганрогского залива, нмоль/мг белка.

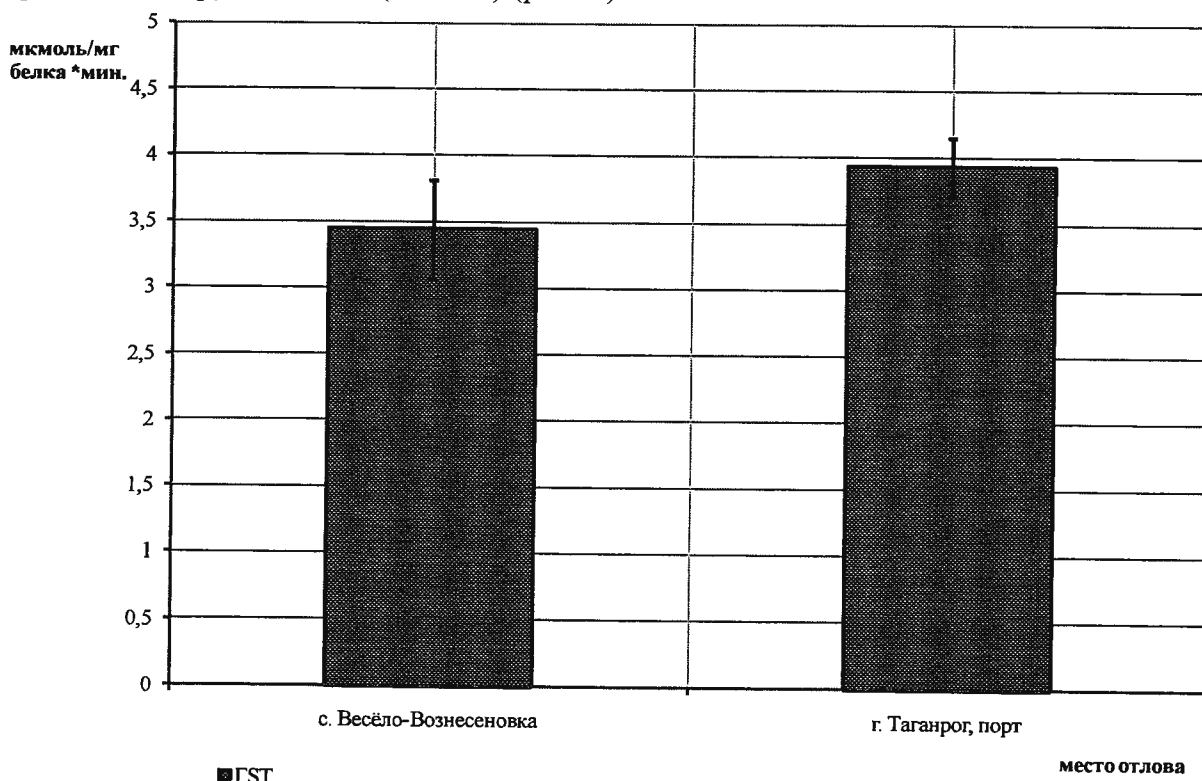
**Fig. 1.** Content of enzymes of I phase of a detoxification in a liver of round goby from Taganrog bay, nmol/mg protein.

Накопление ТМ в организме рыб представляет серьезную угрозу для их репродукции. Было доказано, что ТМ оказывают влияние на работу эндокринной системы, качество и количество гамет, нарушают гаметогенез (Jezierska, Witeska, 2001). Механизм этого вредного воздействия зависит от типа металла, его концентрации в окружающей среде и биодоступности металла для данного вида. Несмотря на то, что цинк и медь в физиологических концентрациях являются необходимыми микроэлементами для рыб, высокие концентрации этих ТМ могут быть опасными для организма. Описано нарушение разных стадий гаметогенеза у рыб под влиянием высоких концентраций цинка (O'Dell, 1992; Ropek et al., 1997; Ropek et al., 2003). Показано, что высокие концентрации меди пагубно влияют на развитие яичников у рыб. Токсический эффект меди нейтрализуется металлотионеинами (Roch et al., 1982). Действие таких ТМ, как кадмий и медь, связано с нарушениями сперматогенеза, ингибированием ряда ферментов и нарушениями в структуре ДНК (Dietrich et al., 2004, 2005; Jezierska, Witeska, 2001). В результате этих нарушений снижается эффективность оплодотворения и количество жизнеспособной икры (Dietrich et al., 2004; Rurangwa et al., 1998). Также показано, что накопление ТМ в головном мозге рыб приводит к нарушению в функционировании гипоталамо-гипофизарной системы и, как следствие, к изменению полового поведения рыб (Atchison et al., 1987) и к снижению эффективности размножения (Ropek et al., 2006).

Токсический эффект ТМ связан также с нарушением синтеза различных форм цитохрома P450 гладкого эндоплазматического ретикулума. ТМ ингибируют

и некоторые звенья второй фазы детоксикации. Эти ферменты участвуют не только в метаболизме ксенобиотиков, но и в метаболизме эндогенных биологически активных веществ – кортикоидных и тиреоидных гормонов, андрогенов, катехоламинов, витаминов группы D, холестерина и др., поэтому нарушение их синтеза или снижение активности может также вызывать нарушения репродуктивной функции и других процессов в организме рыб (Исидоров, 1997; Христофорова, 1989).

Активность GST в цитозоле гепатоцитов печени бычка-кругляка была в 1,5 раза выше значений, полученных в прошлые годы, что свидетельствует об общем напряжении системы детоксикации. Значения активности фермента в печени бычка, выловленного в районе порта, незначительно превышали данную величину у бычка-кругляка из другой точки (на 13%) (рис. 2).



**Рис. 2.** Активность фермента GST в печени бычка-кругляка Таганрогского залива, мкмоль/мг белка × мин.

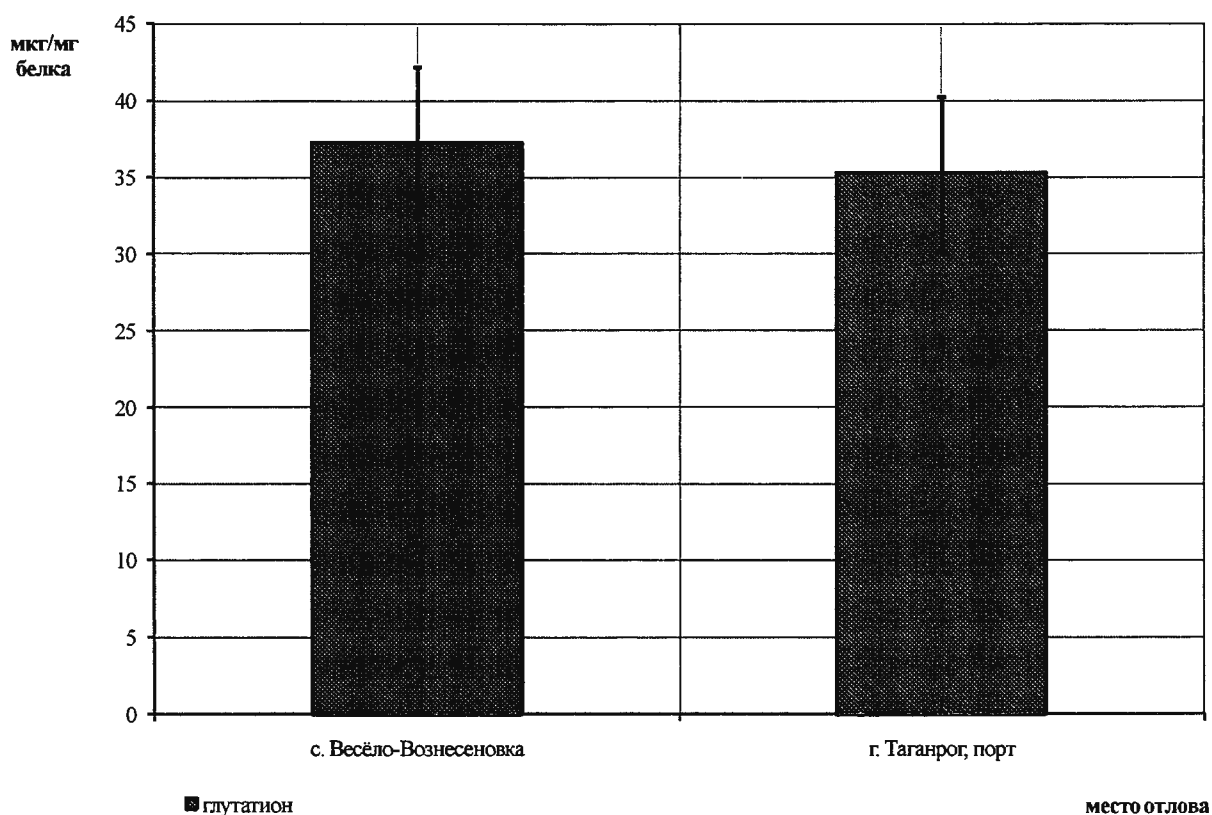
**Fig. 2.** Activity of glutathione-S-transferase in a liver of round goby from Taganrog bay,  $\mu\text{mol/mg protein} \times \text{min}$ .

Коэффициент корреляции между содержанием цитохрома P-450 и активностью глутатион-S-трансферазы составил 0,52 у бычка-кругляка из залива в районе с. Весело-Вознесенка. У бычков из залива в районе порта корреляции между исследованными показателями отмечено не было. Отсутствие корреляции между ферментами первой и второй фаз детоксикации у рыб из района порта может свидетельствовать о преобладании в спектре поллютантов ксенобиотиков, уже имеющих в своем составе реакционную группу для конъюгации.

Отлов рыбы осуществлялся осенью в посленерестовый период, следовательно, можно с уверенностью утверждать, что высокое содержание ферментов биотрансформации не вызвано эндогенными физиологическими факторами, а связано с негативным влиянием ксенобиотиков. Об этом также свидетельствует отсутствие корреляционной зависимости между величиной

гепатосоматического индекса и значениями исследуемых биомаркеров. Невысокая вариабельность гепатосоматического индекса подтверждает значительное сходство физиолого-биохимического статуса рыб, отловленных в течение одного сезона в обеих точках залива. Сезонные изменения гепатосоматического индекса рыб важны с точки зрения взаимосвязи этого параметра с физиологическим состоянием особей, а также уровнем накопления токсикантов в организме (Герман, Козловская, 2001). В период нереста в печени происходит накопление резервных веществ и интенсификация метаболических процессов, необходимых для созревания гамет. Эти процессы сопровождаются гипертрофией клеток и значительным увеличением массы печени, ферментативные системы которой наряду с детоксикацией поллютантов, осуществляют метаболизм физиологически активных веществ, в том числе половых стероидных гормонов (Ирейкина, 2008; Gallagher et al., 2001). В связи с этим, активность ферментов биотрансформации и концентрация компонентов антиоксидантной системы в печени заметно возрастает, причем это связано лишь с физиологическим состоянием рыбы, а не обусловлено негативным воздействием ксенобиотиков (Stoilov et al., 2001).

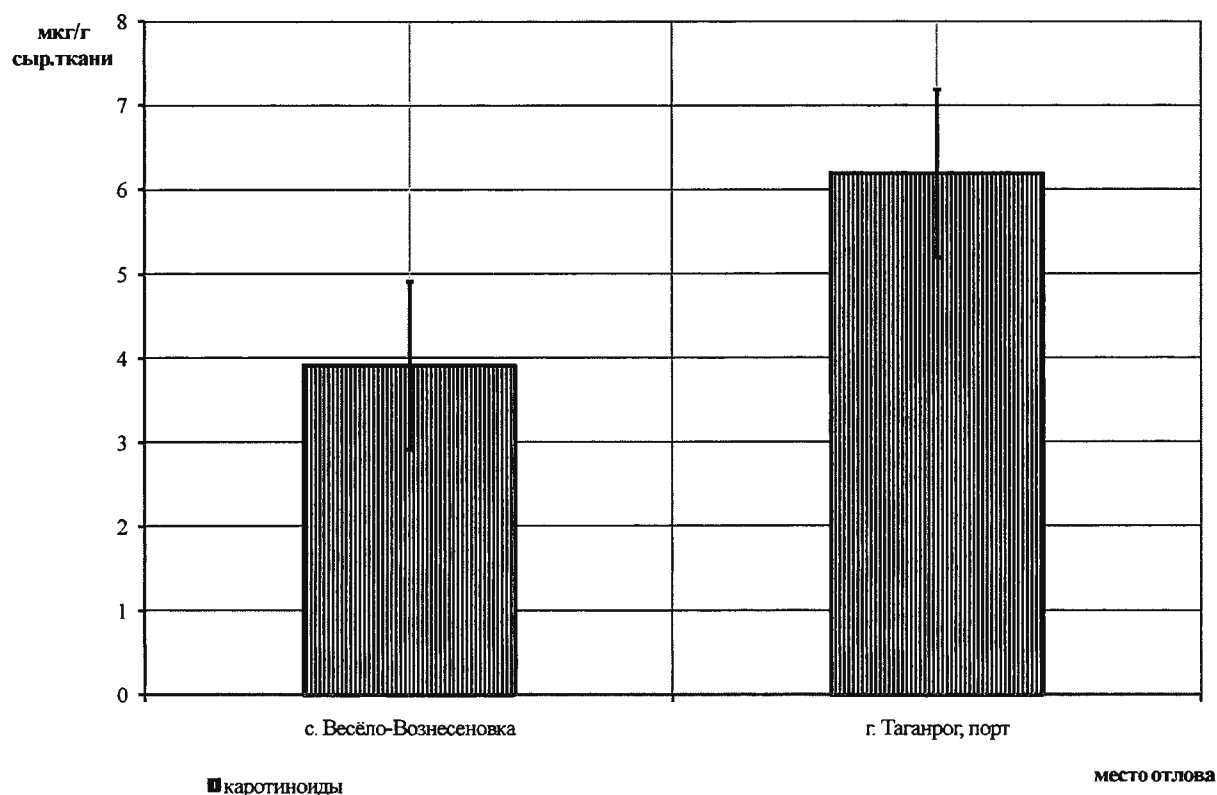
В результате исследований не было получено достоверных различий между содержанием восстановленного глутатиона в печени бычков из районов исследования (рис. 3). Глутатион-S-трансфераза активно использует восстановленный глутатион в реакциях конъюгации с ксенобиотиками. Отсутствие достоверных отличий в уровнях активностей GST в печени может также свидетельствовать о равной степени расходования данного низкомолекулярного антиоксиданта у рыб из разных точек.



**Рис. 3.** Содержание восстановленного глутатиона в печени бычка-кругляка Таганрогского залива, мкг/мг белка.

**Fig. 3.** Content of reduced glutathione in a liver of round goby from Taganrog bay, μg/mg protein.

Анализ содержания другого антиоксиданта и прорепродуктора – каротиноидов, напротив, выявил более высокое их содержание в печени бычков из района порта (рис. 4). Каротиноиды являются необходимым компонентом питания рыб, т.к. животные организмы не способны к их синтезу. Каротиноиды у рыб важны для множества физиологических процессов в связи с тем, что они являются предшественниками ретиноидов (Matsuno, 1991; Schiedt, 1998; Maoka, 2011) – соединений, необходимых для роста организма и развития эпителиальных тканей и зрения, регулирующих процессы эмбриогенеза и сперматогенеза (Zile, 1992). Изменения в гомеостазе ретиноидов могут вызывать большое количество неблагоприятных эффектов, включающих замедление роста, тератогенные эффекты, поражение эпидермиса, нарушение зрения и стерильность (Bhagavan, 1992). Подобные токсические эффекты очень часто наблюдаются у рыб из загрязненных местообитаний (Millera et al., 2000). В то же время присутствие каротиноидов в пище культивируемых лосося и леща значительно увеличивало эффективность их размножения, ускоряло развитие икры, оплодотворение и личиночный рост (Torrissen, Christiansen, 1995). Имеются данные об участии каротиноидов в механизме полового созревания рыб, а также о том, что икра форели, содержащая большее количество каротиноидов, является более жизнестойкой и дает значительно меньший отход при инкубации (Логинова, 1967). Каротиноиды способны откладываться в кожных покровах, где могут участвовать в формировании камуфляжной окраски или сигнализировать о готовности к размножению (Maoka, 2011). Каротиноиды обладают антиоксидантными свойствами и способны эффективно ингибировать процессы перекисного окисления липидов (Nakano et al., 1995, 1999). Основной метаболизм каротиноидов происходит в печени. Многие морские организмы способны накапливать каротиноиды в гонадах.



**Рис. 4.** Содержание каротиноидов в печени бычка-кругляка, мкг/г сыр. ткани.

**Fig. 4.** Content of carotinoids in a liver of round goby from Taganrog bay, μg/g wet tissue.



В связи с тем, что от количества каротиноидов в организме рыб зависит скорость развития гонад, течение гаметогенеза, эффективность оплодотворения и дальнейшее развитие личинок, к ним вполне применим термин «биохимический репродуктор».

Повышенное накопление ТМ в суммарных пробах бычков из залива в районе с. Весело-Вознесеновка сопровождалось более низким содержанием каротиноидов в печени рыб в сравнении с рыбами из района порта. По-видимому, накопление меди и цинка в тканях рыб, отловленных у с. Весело-Вознесеновка, привело к интенсификации свободнорадикальных процессов и, как следствие, к повышенному расходованию каротиноидов.

Разница в уровнях исследуемых низкомолекулярных антиоксидантов, вероятно, связана с тем, что компоненты антиоксидантной системы в различной степени принимают участие в ликвидации последствий окислительного стресса у рыб, индуцированного действием металлов и других ксенобиотиков. В то же время отрицательная корреляция между активностью детоксикационных систем в организме бычков и содержанием одного из основных биохимических репродукторов – каротиноидов, свидетельствует о наличии механизма отрицательного влияния среды обитания на биохимические параметры воспроизводительной системы и возможность подавления репродукции этого вида в условиях загрязнения.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Развитие организма происходит под комплексным, синергетическим воздействием всевозможных комбинаций факторов среды биотической и абиотической природы. В результате, как состояние организма, так и его численность, структура популяции отражает благоприятность состояния окружающей среды.

Малоподвижный придонный образ жизни бычка-кругляка и ряд его морфологических особенностей делают его одним из удобных биоиндикаторных организмов для мониторинга реакции ихтиофауны на загрязнение. Особенность его морфологии в сравнительно низкой доле подкожного жира, основная масса жира концентрируется в печени. Таким образом, липофильные ксенобиотики не запасаются в организме рыбы, а подвергаются детоксикации непосредственно в ближайшие сроки после поступления в организм. То есть токсические эффекты ксенобиотиков не являются отсроченными.

Бычок-кругляк соответствует всем требованиям, предъявляемым к биологическим индикаторам фоновых уровней загрязнения, и наиболее удобен для биоиндикации загрязнений, т.к. совмещает в себе чувствительность (проявляющуюся в регистрируемых изменениях состава тканей, метаболизма или поведения в ответ на экспозицию небольшими количествами экотоксиканта) и толерантность, т.е. способность функционировать при поступлении больших доз загрязняющих компонентов (Исидоров, 1997).

Совокупность исследованных биомаркеров в печени бычка-кругляка позволила получить объективную информацию о неблагоприятном физиолого-биохимическом состоянии данного вида в Таганрогском заливе. Активность GST и содержание микросомальных цитохромов в печени могут быть использованы в качестве информативных показателей функционального состояния рыб в условиях комплексного загрязнения морских экосистем.

В результате исследования динамики уровня низкомолекулярных биомаркеров было выявлено, что каротиноиды печени являются наиболее чувствительными показателями к действию тяжелых металлов и металлов переменной валентности на гидробионтов.

Таким образом, полученные данные характеризуют напряженное состояние детоксикационной и антиоксидантной систем печени бычка-кругляка обеих исследуемых акваторий залива и свидетельствуют о негативном влиянии среды обитания на физиолого-биохимическое состояние бычка, что может привести к снижению его репродуктивной функции и, как следствие, – к сокращению численности промыслового вида. Результаты исследований позволяют предположить, что неоднотипный характер отклика детоксикационной и антиоксидантной систем печени рыб в обеих точках залива вызван, видимо, различным количественным и качественным сочетанием поллютантов и степенью их токсичности.

#### *Благодарности*

Авторы выражают благодарность заведующей отделом генетико-биохимического мониторинга Г.Г. Корниенко; заведующему лабораторией аналитического контроля водных экосистем ФГУП «АзНИИРХ» А.А. Кленкину и специалистам лаборатории за проведение токсикологического анализа собранного материала.

Мы также благодарим Л.А. Бугаева и И.Л. Левину за помощь в организации сбора материала исследования и ценные методические советы.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

*Борвинская Е.В., Смирнов Л.П., Немова Н.Н.* Глутатион-S-трансферазы рыб – потенциальные эколого-биохимические индикаторы антропогенного воздействия на водную среду (обзор) // Тр. КарНЦ РАН. Сер. Экспериментальная биология. 2009. №3. С. 8-19.

*Герман А.В., Козловская В.И.* Гепатосоматический индекс и биохимический состав печени леща *Abramis brama* Шекснинского плеса Рыбинского водохранилища при различных уровнях накопления органических токсикантов // Вопросы ихтиологии. 2001. Т. 41. №2. С. 249-252.

*Дудкин С.И.* Отчет о НИР. Ростов-на-Дону: ФГУП «АЗНИИРХ», 2010. 334 с.

*Дудкин С.И., Колесникова Л.В.* Сигнальная роль токоферолов и каротиноидов в регуляции биопродуктивности водных экосистем: экотоксикологические аспекты // Современные проблемы водной токсикологии: сб. тез. междунар. конф. памяти д.б.н., проф. Б.А. Флерова. Борок, 2005. С. 38.

*Ирейкина С.А.* Молекулярные биомаркеры антиоксидантной системы и биотрансформации загрязняющих веществ у рыб и моллюсков из импактных районов залива Петра Великого (Японское море). Автореф. диссерт. на соиск. уч. степени канд. биолог. наук. Владивосток: ТИНРО, 2008а. 20 с.

*Ирейкина С.А.* Молекулярные биомаркеры антиоксидантной системы и биотрансформации загрязняющих веществ у рыб и моллюсков из импактных районов залива Петра Великого (Японское море). Диссерт. на соиск. уч. степени канд. биолог. наук. Владивосток: ТИНРО, 2008б. 128 с.

*Исидоров В.А.* Введение в курс химической экотоксикологии. Учебное пособие. С-Пб., 1997. 88 с.

Карапетян О.Ш., Дудкин С.И., Внуков В.В. Микросомальные цитохромы печени бычков Азовского моря как биомаркеры степени загрязнения водной среды // Современные наукоемкие технологии. 2010. №7. С. 182-183.

Корниенко Г.Г., Бойко Н.Е., Бугаев Л.А. и др. Физиолого-биохимические и генетические исследования ихтиофауны Азово-Черноморского бассейна. Методическое руководство. Ростов-на-Дону: Эверест, 2005. С. 48-56.

Логинова Т.А. Каротиноиды радужной форели при развитии гонад и икры // Обмен веществ и биохимия рыб. М.: Наука, 1967. С. 336-340.

Немова Н.Н. Биохимические эффекты накопления ртути у рыбы. М.: Наука, 2005. 165 с.

Руднева И.П., Шевченко Н.Ф., Овен Л.С., Залевская И.К., Скуратовская Е.И. Комплексная оценка качества водной среды с помощью биомаркеров разного уровня. Сб. Актуальные проблемы водной токсикологии. Борок: ИБВВ, 2004. С. 124-150.

Христофорова Н.К. Биоиндикация и мониторинг загрязнения морских вод тяжелыми металлами. Л.: Наука, 1989. 192 с.

Anderson M.J., Cacela D., Beltman D. et al. Biochemical and toxicopathic biomarkers assessed in smallmouth bass recovered from a polychlorinated biphenyl-contaminated river // Biomarkers. 2003. V. 8. №5. Pp. 371-393.

Atchison G.J., Henry M.G., Sandheinrich M.B. Effects of metals on fish behavior: a review // Environmental Biology of Fishes. 1987. V. 18. №1. Pp. 11-25.

Bhagavan N.V. Medical Biochemistry. Boston: Jones and Bartlett, 1992. 145 p.

Bradford M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding // Anal. Biochem. 1976. V. 72. Pp. 248-254.

Cajaraville M.P., Bebianno M.J., Porte C., Sarasquette C., Viarengo A. The use of biomarkers to assess the impact of pollution in coastal environments of the Iberian Peninsula: a practical approach // Sci. Tot. Environ. 2000. V. 247. Issues 2-3. Pp. 295-311.

Cvec G. Membrane electrostatics // Biochem. Biophys. Acta. 1990. V. 1031. №3. Pp. 371-382.

Dietrich G.J., Kowalski R., Wojtczak M., Rzemieniecki A., Ciereszko A., Glogowski J. Computer-assisted sperm motility analysis (CASA) as a tool for monitoring the effects of sublethal doses of heavy metals on sturgeon spermatozoa (in Polish). In: Breeding, rearing and prophylaxis in sturgeons and other fish species. Poland: Ed Z Zakes. Inland Fisheries Institute, 2004. Pp. 43-48.

Dietrich G.J., Szpyrka A., Wojtczak M. et al. Effects of UV irradiation and hydrogen peroxide on DNA fragmentation, motility and fertilizing ability of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) spermatozoa // Theriogenology. 2005. V. 64. №8. Pp. 1809-1822.

Ellman G.L. Tissue sulfhydryl groups // Arch. Biochem. Biophys. 1959. V. 82. Pp. 70-77.

Gallagher E.P., Gross T.S., Sheehy K.M. Decreased glutathione-S-transferase expression and activity and altered sex steroids in Lake Apopka brown bullheads (*Ameriurus nebulosus*) // Aquat. Toxicol. 2001. V. 55. Pp. 223-237.

Goksoyr A., Forlin L. The cytochrome P450 system in fish, aquatic toxicology and environmental monitoring // Aquat Toxicol. 1992. V. 22. Issue 4. Pp. 287-312.

Jeziarska B., Witeska M. Metal toxicity to fish. Monographs №42. Poland: University of Podlasie, 2001. 318 p.

Maoka T. Carotenoids in Marine Animals // Mar. Drugs. 2011. V. 9. №2. Pp. 278-293.

Matsuno T. Xanthophylls as precursor of retinoids // Pure Appl. Chem. 1991. V. 63. Pp. 81-88.

Millera M.G., Kaprona C.M., Metcalfe C.D. Down-regulation of fibronectin in rainbow trout gonadal cells exposed to retinoic acid // Aquatic Toxicology. 2000. V. 48. Issues 2-3. Pp. 119-125.

Nakano T., Kanmuri T., Sato M., Takeuchi M. Effect of astaxanthin rich red yeast (*Phaffia rhodozyma*) on oxidative stress in rainbow trout // Biochim. Biophys. Acta. 1999. V. 1426. Pp. 119-125.

Nakano T., Tosa M., Takeuchi M. Improvement of biochemical features in fish health by red yeast and synthetic astaxanthin // J. Agric. Food Chem. 1995. V. 43. Pp. 1570-1573.

O'Dell B.L. Zinc plays both structural and catalytic roles in metalloproteins // Nutrition Reviews. 1992. V. 50. Issue 2. Pp. 48-50.

Olawale O., Ikechukwu N.E.O. Glutathione-S-transferase (GST) activity as a biomarker in ecological risk assessment of pesticide contaminated environment // African Journal of Biotechnology. 2007. V. 6. №12. Pp. 1455-1459.

Omura A.T., Sato R. The carbon monoxide binding pigment of liver microsomes. Solubilization, purification and properties // J. Biol. Chem. 1964. V. 239. №7. Pp. 2379-2385.

Pavlovic S.Z., Borkovic Mitic S.S., Radovanovic T.B. et al. Seasonal Variations of the Activity of Antioxidant Defense Enzymes in the Red Mullet (*Mullus barbatus* L.) from the Adriatic Sea // Mar. Drugs. 2010. V. 8. №3. Pp. 413-428.

Popek W., Dietrich G., Glogowski J. et al. Influence of heavy metals and 4-nonylphenol on reproductive function in fish // Reproductive biology. 2006. V. 6. Pp. 175-188.

Popek W., Epler P., Bieniarz K., Sokolowska-Mikolajczyk M. Contribution of factors regulating melatonin release from pineal gland of carp (*Cyprinus carpio* L.) in normal and in polluted environments // Archives of Polish Fisheries. 1997. V. 5. Pp. 59-75.

Popek W., Rosciszewska M., Borowiec F., Drag-Kozak E. Influence of zinc and copper on development and maturation of goldfish ovaries // Annals of Animal Science, Suppl. 2003. V. 17. Pp. 683-687.

Rees T.J. Glutathione-S-Transferase as a Biological Marker of Aquatic Contamination. UK: Portsmouth University, 1993. 36 p.

Roch M., McCarter J.A., Clark M.J.R., Olafson R.W. Hepatitis metallothionein in rainbow trout *Salmo gairdneri* as an indicator of metal pollution in the Campbell river system // Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. 1982. V. 39. Pp. 1596-1601.

Rurangwa E., Roelants I., Huyskens G., Ebrahimi M., Kime D.E. The minimum effective spermatozoa to egg ratio for artificial insemination and the effects of mercury on sperm motility and fertilization ability in *Clarias gariepinus* // Journal of Fish Biology. 1998. V. 53. Pp. 402-413.

Schiedt K. Absorption and metabolism of carotenoids in birds, fish and crustaceans // Carotenoids Biosynthesis and Metabolism. 1998. V. 3. Pp. 285-358.

Sen A., Kirikbakan A. Biochemical characterization and distribution of glutathione-S-transferases in leaping mullet (*Liza saliens*) // Biochemistry. 2004. V. 69. №9. Pp. 1322-1336.

Stegeman J.J., Hahn M.E. Biochemistry and molecular biology of monooxygenases: current perspectives on forms, functions and regulation of cytochrome P450 in aquatic species // Aquatic Toxicology: Molecular, Biochemical and Cellular Perspectives. Boca Raton, FL: Lewis Publisher, 1994. Pp. 87-206.

Stoilov I., Jansson I., Sarfarazi M., Schenkman J.B. Roles of cytochrome P450 in development // Drug Metab. Drug Interact. 2001. V. 18. Pp. 33-55.

*Torrissen O.J., Christiansen R.* Requirements for carotenoids in fish diets // *J. Appl. Ichthyol.* 1995. V. 11. Pp. 225-230.

*Van Der Oost R., Beyer J., Vermeulen N.P.E.* Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review // *Environ Toxicol Pharmacol.* 2003. V. 13. Pp. 57-149.

*Wepener V., Van Vuren J.H.J., Chatiza F.P., Mbizi Z., Slabbert L., Masola B.* Active biomonitoring in freshwater environments: early warning signals from biomarkers in assessing biological effects of diffuse sources of pollutants // *Physics and Chemistry of the Earth, Parts A/B/C.* 2005. V. 30. Issue 11-16. Pp. 751-761.

*Zile M.H.* Vitamin A homeostasis endangered by environmental pollutants // *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1992. V. 201. Pp. 141-153.

# **MOLECULAR BIOMARKERS OF ANTHROPOGENIC POLLUTION IN THE LIVER OF ROUND GOBY *NEOGOBUS MELANOSTOMUS* FROM THE TAGANROG BAY**

© 2011 y. O.S. Karapetjan<sup>1</sup>, N.I. Tsema<sup>2</sup>, S.I. Dudkin<sup>2</sup>

*1 - FSOEE HVE «Southern Federal University», Rostov-on-Don*

*1 - FSUE «Azov Scientific-Research Institute of Fish Facilities», Rostov-on-Don*

Dependence is established of the level of biotransformation enzymes and low-molecular antioxidants on the degree of pollution and a spectrum of xenobiotics in the Taganrog Bay. The results suggest that liver biomarkers of the round goby may be used to assess the fish state under conditions of chronic toxicity of small concentrations of persistent xenobiotics.

*Key words:* round goby, Taganrog bay, a biomarker, cytochrome P450, glutathione-S-transferase, glutathione, carotinoids, pollution.