

Ученые записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского  
Серия «Биология, химия» Том 20 (59). 2007. № 3. С. 59-64.

**УДК: 574.64 : 577.112.4**

**СОДЕРЖАНИЕ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ В ТКАНЯХ  
НЕКОТОРЫХ ЧЕРНОМОРСКИХ РЫБ И ИХ ВЛИЯНИЕ НА УРОВЕНЬ  
ОКИСЛИТЕЛЬНОЙ МОДИФИКАЦИИ БЕЛКОВ**

*Омельченко С.О., Граб Ю.А., Залеевская И.Н. , Руднева И.И.*

Приведены данные по содержанию тяжелых металлов в тканях некоторых видов черноморских рыб и интенсивность перекисного окисления белков в сыворотке крови. Показана зависимость уровня окислительной модификации сывороточных белков от содержания тяжелых металлов в организме.

*Ключевые слова:* тяжелые металлы, окислительная модификация белков, рыбы.

**ВВЕДЕНИЕ**

С развитием производства и химизации сельского хозяйства резко увеличилась антропогенная нагрузка на окружающую среду. В связи с этим возникла необходимость в организации специальных наблюдений за изменениями состояния биосфера под влиянием человеческой деятельности. Особенно остро в последнее время стоит вопрос загрязнения гидросферы, так как вследствие этого резко снизилась продуктивность Мирового океана, под угрозой сохранение его биоразнообразия. Среди загрязнителей биосферы, представляющих наибольший интерес, металлы (в первую очередь тяжелые, то есть имеющие атомный вес больше 40) относятся к числу важнейших. В ряду тяжелых металлов одни крайне необходимы для жизнеобеспечения живых организмов и относятся к так называемым биогенным элементам. Другие вызывают противоположный эффект и, попадая в живой организм, приводят к его интоксикации или гибели.

Специалистами по охране окружающей среды среди металлов-токсикантов выделена приоритетная группа. В нее входят кадмий, медь, мышьяк, ртуть, свинец, цинк как наиболее опасные для здоровья человека и животных. Из них ртуть, свинец и кадмий наиболее токсичны. На этом основании первоочередной задачей научных исследований является обнаружение из зон экологического кризиса и экологического бедствия. Есть несколько методов выявления таких зон и, прежде всего это химические методы определения вредных веществ (в особенности тяжелых металлов) в окружающей среде и в биоте [9] и группа методов биотестирования, или биондикации. Биондикация – это методика оценки экологического состояния окружающей среды по реакциям обитающих в ней биологических систем. Она одинаково допустима для выявления вредного действия на биосистемы как физических, так химических и биологических факторов или их

сочетания. Рыбы, как последнее звено трофической цепи, водоемов, в ряде случаев представляют собой удобные тест-объекты [10].

Многочисленные исследования показали, что различные ксенобиотики, в первую очередь тяжелые металлы, стимулируют защитные системы организма, в результате функционирования которых происходит генерация активных форм кислорода. Окислительная модификация белков, вызванная активными формами кислорода, не только модифицирует аминокислотные остатки, но и нарушает пространственную структуру белков, вызывает агрегацию и денатурацию и связана с изменением их структурной организации, сопровождающейся фрагментацией с образованием низкомолекулярных компонентов. В результате снижается или исчезает их многообразная функциональная активность (ферментативная, регуляторная, участие в матричных синтезах, транспорт ионов и липидов), а некоторые из них становятся аутоантигенами или способствуют мутациям [5;15]. Учитывая большую и очень разнообразную функциональную нагрузку белков, их окислительная модификация может носить, в отличие от пероксидации липидов, более избирательный и специфический характер при стрессовых состояниях.

На этом основании целью настоящей работы явилось изучение содержания тяжелых металлов в организме и их влияния на уровень окислительной модификации белков в сыворотке крови некоторых видов черноморских рыб.

#### **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

В исследованиях использовали ихтиологический материал, собранный с декабря 2003 г. по март 2007 г. Материал представлен отделом ихтиологии ИНБЮМ НАН Украины.

Объектом исследования служили следующие виды черноморских рыб: скрпена (придонный), смарида (придонно-pelагический) и скрпена (pelагический), отловленные в районе г. Севастополя (бухты Мартынова и Караантинная).

Материалом исследования служили мышечная ткань и сыворотка крови данных видов рыб. Кровь отбирали из хвостовой вены при помощи пастеровской пипетки. Сыворотку получали методом отстаивания.

Тяжелые металлы: медь, свинец, кадмий, цинк определяли в мышечной ткани полярографическим методом по ГОСТам 26931-26934-86. Содержание мышьяка анализировали фотоколориметрическим методом по ГОСТ 26930-86. Выявление ртути проводили методом беспламенной атомной абсорбции на ртутном анализаторе «Юлия-2» по МУ 51-78-90.

Уровень окислительной модификации белков определяли по методу описанному Дубининой [4]. Оптическую плотность образовавшихся 2,4-динитрофенилгидразонов регистрировали на спектрофотометре СФ-16 при длинах волны  $\lambda = 346, 370, 430, 530$  нм. Рассчитывали в единицах оптической плотности (е.о.п.) на один мл сыворотки.

Полученные экспериментальные данные обрабатывали статистически по Лакину Г.Ф. [7] и с помощью программы «ORIGIN 7.0».

## СОДЕРЖАНИЕ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ В ТКАНЯХ

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Содержание токсичных элементов в мышечных тканях черноморских рыб, отловленных в прибрежной зоне Севастополя, варьирует в широких пределах, но при этом не превышает предельно допустимых концентраций. [Медико-биологические требования (МБТ) – 5061-87] (табл. 1).

**Таблица 1.**  
**Содержание токсичных элементов (мг/кг) в мышечных тканях костистых рыб, разных экологических групп, обитающих в Черном море ( $\bar{x} \pm S \bar{x}$ )**

Объект исследования	Cu	Pb	Cd	Zn	As	Hg
Скорпена	0,60±0,10	0,16±0,04	0,036±0,002	5,14±0,5	0,80±0,05	0,06±0,005
Смарыда	0,58±0,08	0,084±0,007	0,05±0,009	4,59±0,7	1,10±0,2	0,07±0,005
Ставрида	0,53±0,07	0,084±0,006	0,012±0,001	5,41±1,2	0,71±0,05	0,05±0,005
ПДК	10,0	1,0	0,2	40,0	5,0	0,4

Данные результатов исследований показывают, что наиболее высокий уровень токсичных элементов обнаружен в мышечных тканях представителей придонных и придонно-pelагических видов рыб: скорпены и смарида. Уровень меди, свинца и цинка превалирует у скорпены. Максимальное содержание кадмия, мышьяка и ртути выявлено в мышечной ткани смарида. Наименьшая концентрация токсичных элементов отмечена в мышцах пелагической ставриды.

В течение года содержание цинка в мышечных тканях исследуемых видов максимально, а кадмия минимально. Поступая в организм с пищей, свинец у гидробионтов накапливается незначительно, редко присутствует в виде метилированных соединений [13]. Мышьак в основном поглощается рыбой с пищей, морские водоросли зоо- и фитопланктон адсорбирует мышьак из воды. Мышьак обычно не накапливается в больших количествах в мягких тканях рыб, за исключением крайне загрязненных районов. Этот элемент попадает в ткани рыб, скорее всего через пищеварительный тракт. Ртуть занимает второе место среди тяжелых металлов по степени токсичности для гидробионтов. При миграции и трансформации по пищевым цепям в водных экосистемах она накапливается в тканях рыб (как консументов высшего порядка) в концентрациях, в тысячи раз превышающих ее содержание в воде.

Таким образом, анализ среднего содержания токсичных элементов в мышечной ткани рыб согласуется не только с уровнем антропогенной нагрузки на морские экосистемы, но и с биохимической ролью металлов в жизнедеятельности организма и их токсического действия на биомолекулы.

В сыворотке крови исследуемых видов рыб были выявлены продукты окисления белков, которые прореагировали с 2,4 –динитрофенилгидразином. Основное количество образовавшихся динитрофенилгидразонгов относится к альдегидо- и кетонопроизводным нейтрального характера. Уровень альдегидо-, а особенно кетонопроизводных основного характера значительно ниже. У отдельных

особей кетонодинитрофенилпроизводные основного характера не определялись. Уровень кетонодинитрофенилпроизводных основного характера является, по-видимому, индивидуальным показателем, так как крайне сильно варьирует у представителей одного вида и часто не зависит от уровня других производных (табл. 2).

**Таблица 2**  
**Содержание 2,4-динитрофенилгидразонов в сыворотке крови (с.о.п.) разных видов Черноморских рыб ( $\bar{x} \pm S\bar{x}$ )**

Объект исследования	Длина волны, нм			
	346	370	430	530
Скорпена	6,32±0,16	8,57±0,18	4,95±0,15	0,52±0,039
Смарыда	5,70±0,37	7,21±0,50	4,04±0,25	0,58±0,05
Ставрида	5,21±0,18	7,39±0,12	3,85±0,13	0,56±0,02
P <sub>1</sub>	< 0,01	< 0,01	< 0,001	Н/д
P <sub>2</sub>	< 0,01	< 0,01	< 0,01	Н/д

Примечание: P<sub>1</sub> – достоверность изучаемого показателя между ставридой и скорпеной, P<sub>2</sub> – достоверность различий между скорпеной и смаридой.

Из представленных результатов видно, что максимальный уровень окислительной модификации белков наблюдается у скорпены, представителя донных видов рыб. Содержание 2,4-динитрофенилгидразонов в сыворотке крови скорпены достоверно выше соответствующих показателей у смариды и ставриды, за исключением кетонодинитрофенилпроизводных основного характера (530 нм). Достоверных различий в уровне окислительной модификации белков у смариды и ставриды не выявлено, за исключением альдегидопроизводных основного характера (430 нм). При длине волны 370 нм показано повышение уровня динитрофенилгидразонпроизводных у ставриды.

Таким образом, можно предположить, что одной из причин различия в уровне окислительной модификации белков является разная скорость обмена веществ у данных видов рыб, и самая высокая степень перекисного окисления белков характерна, соответственно, для малоподвижных рыб с меньшей скоростью метаболизма, так как и активность антиоксидантных ферментов у этих видов рыб ниже. У более подвижных смариды и ставриды интенсивность метаболизма выше, активность антиоксидантных ферментов выше чем у скорпены, а интенсивность окислительных процессов ниже.

Зависимость уровня окислительной модификации белков сыворотки крови от содержания тяжелых металлов (табл. 1) свидетельствует об инициации окислительного стресса в организме, повышении интенсивности процессов перекисного окисления белков. Механизм действия тяжелых металлов как ксенобиотиков, заключается в основном в стимуляции образования активных форм кислорода и в ингибировании активных групп ферментов, в том числе и антиоксидантных. Так, например, кадмий инактивирует металлоферменты;

## **СОДЕРЖАНИЕ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ В ТКАНЯХ**

---

механизм токсического действия свинца заключается в блокировании функциональных SH-групп белков; основной механизм токсичного действия мышьяка – блокирование тиоловых групп важнейших ферментов.

### **ВЫВОДЫ**

1. Уровень токсичных элементов варьирует в широких пределах в тканях разных видов черноморских рыб, но при этом не превышает ПДК.
2. Содержание тяжелых металлов выше у представителей придонных и придонно-пелагических видов рыб (скорпена и смарида соответственно), чем у пелагических (ставрида).
3. В сыворотке крови черноморских видов рыб выявлены продукты окислительной модификации белков, причем максимальный уровень этих компонентов наблюдается у скорпены, тогда как достоверных различий между смаридой и ставридой не установлено.
4. Уровень окислительной модификации белков в сыворотке крови рыб на прямую зависит от содержания тяжелых металлов в организме.

### **Список литературы**

1. Будников Г.К. Тяжелые металлы в экологическом мониторинге водных систем //Биология. – Казанский госуниверситет. – 1998. – С. 25–31.
2. Гамаюрова В.С. Мышик в экологии и биологии. – М.: Наука, 1993. – 205 с.
3. Гильденшкоид Р.С., Новиков Ю.В., Хамидулин Р.С., Анискина Р.И., Винокур И.Л. Тяжелые металлы в окружающей среде и их влияние на организм // Гигиена и санитария.– 1992. – №6. – С. 6–9.
4. Дубинина Е.Е., Бурмистров С.О., Ходов Д.А., Поротов И.Г. Окислительная модификация белков сыворотки крови человека, метод ее определения // Вопр. мед. химии.– 1995.– Т. 41, № 1. – С. 24.
5. Зенков Н.К., Мельникова Е.Б. Активные кислородные метаболиты в биологических системах //Успехи соврем. биологии. – 1993. – Т. 113, вып. 3. – С. 286.
6. Кулинский В.И. Обезвреживание ксенобиотиков // Успехи современной биологии. – 1999. – С. 35–42.
7. Лакин Г.Ф. Биометрия. – М.: Высшая школа, 1973. – 343 с.
8. Неорганическая ртуть. Гигиенические критерии состояния окружающей среды. Изд–во программы ООН. Всемирная организация здравоохранения. – Женева, 1994. – 143 с.
9. Решетников Ю.С., Попова О.А., Кашулин Н.А., Амудсен П.А., Сталдин Ф.С. Оценка благополучия рыбной части водного сообщества по результатам морфологического анализа рыб //Успехи соврем. биологии. – 1999. – Т. 119., вып. 2. – С.165.
10. Руднева И.И. Влияние антропогенного загрязнения на биохимические показатели черноморских рыб // Современное состояние ихтиофауны Чёрного моря. – Севастополь, 1995. – С. 168–188.
11. Руднева И.И. Эколо-Физиологические Особенности Антиоксидантной Системы Рыб И Процессов Перекисного Окисления Липидов //Успехи соврем. биологии. – 2003. – Т. 123, вып. 4. – С. 391.
12. Себах Л.К., Панкратова Т.М., Авдеева Т.М. Оценка накопления тяжелых металлов в промысловых объектах Азово–Черноморского бассейна // Труды ЮгНИРО. – 1995. – Т. 41. – С. 87–90.
13. Современное состояние ихтиофауны Чёрного моря //Справочник. Отв. редактор Шадрин Н.В. Севастополь: Акватика, 1999. – 240 с.
14. Шибанов С.Э. Экологическо-гигиенические антропологии загрязнения морских вод у побережья Крыма // Вестник физиотерапии и курортологии. – Евпатория, 2000. – №4. – С. 69–74.
15. Halliwell B., Gutteridge J.M. Free radicals in biology and medicine. – Clarendon, 1991. – 272 p.
16. Mee D. The Black Sea in Crisis: a need for concentrated international action // AMBIO. – 1992. – Vol. 4. – P. 278–286.

17. Rudneva I.I. & Petzold–Bradley E. Environmental and security challenges in the Black Sea region // In Environmental conflicts: Implications for Theory and Practice (Petzold–Bradley E., Carius, A., Vince, A., ed). – Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 2001. – P. 189– 202.
18. Rudneva I.I. Blood antioxidant system of Black sea elasmobranches and teleost. – Comparative Biochemistry and Physiology. – 1997. – Vol. 118, № 2. – P. 225–230.

*Омельченко С.О., Граб Ю.О., Залевська І.М., Руднєва І.І. Вміст важких металів у тканинах деяких чорноморських риб і їх вплив на рівень окислювальної модифікації білків //* Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2007. – Т. 20 (59). – № 3. – С. 59-64.

Виконано дослідження рівня окислювальної модифікації сироваткових білків разом з визначенням змісту важких металів в тканинах чорноморських риб, які мешкають в прибережних зонах м. Севастополя. Показано, що важкі метали накопичуються в організмі риб в широких межах, що не перевищують встановлений рівень ГДК, і здатні ініціювати окислювальний стрес в організмі, і зокрема викликати підвищення інтенсивності процесів перекісного окислення білків.

**Ключові слова:** біомоніторинг, , важкі метали, окислювальний стрес, окислювальна модифікація білків, риби.

*Omelchenko S., Grab Y., Zalevska I., Rydneva I. Maintenance of heavy metals in the organisms of some fishes of the Black sea and their influence on the level of oxidative modification of proteins // Uchenye zapiski Tavricheskogo Natsionalnogo Universiteta im. V. I. Vernadskogo. Series «Biology, chemistry». – 2007. – V.20 (59). – № 3. – P. 59-64.*

Research of the level of oxidative modify of blood serum proteins is executed together with determination of maintenance of heavy metals in the organisms of fishes of the Black sea, which dwell in off-shore areas of Sevastopol. It is shown that heavy metals accumulate in the organism of fishes in wide limits, not exceeding the set level of national critical limits, and able to initiate oxidative stress in an organism, and in particular to cause the increase of intensity of processes of oxidative modify of proteins.

**Keywords:** pollutants, heavy metals, oxidative stress, the oxidative modification of blood serum proteins

*Поступила в редакцію 10.08.2007 г.*