

УДК [597.556.31-111.1:542.943](262.5+262.54)

DOI: [10.21072/ecc.2022.21.03](https://doi.org/10.21072/ecc.2022.21.03)

ПОЛОВЫЕ ОСОБЕННОСТИ ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ КРОВИ БЫЧКА-КРУГЛЯКА *NEOGOBIOUS MELANOSTOMUS* (PALLAS, 1814) ИЗ ЧЁРНОГО И АЗОВСКОГО МОРЕЙ*

Сигачева Т. Б.

ФГБУН ФИЦ «Институт биологии южных морей имени А. О. Ковалевского РАН», г. Севастополь,
Российская Федерация,
e-mail: mtk.fam@mail.ru

Аннотация: Проведён анализ показателей прооксидантно-антиоксидантной системы (активности каталазы (КАТ), супероксиддисмутазы (СОД), пероксидазы (ПЕР), глутатионредуктазы (ГР), глутатион-трансферазы (ГТ) и содержания продуктов окислительной модификации белков (ОМБ)) крови разнополых особей бычка-кругляка *Neogobius melanostomus* (Pallas, 1814) из прибрежных районов Чёрного (г. Севастополь) и юго-западной части Азовского морей. Установлены снижение активности КАТ, СОД (в 1,3–2 раза) и увеличение содержания продуктов ОМБ в крови самцов из севастопольских акваторий по сравнению с аналогичными показателями самок. У рыб из Азовского моря межполовые различия были выражены слабо. Анализ биомаркеров крови однополых рыб из двух морей показал более высокий уровень ОМБ и низкую активность КАТ, СОД и ГТ в крови самцов бычка-кругляка из Чёрного моря. Полученные результаты позволяют рекомендовать проведение биоиндикационных исследований с применением показателей прооксидантно-антиоксидантной системы крови бычка-кругляка на особях одного пола, предпочтительно на самцах.

Ключевые слова: бычок-кругляк, кровь, активность антиоксидантных ферментов, уровень окислительной модификации белков, Чёрное море, Азовское море.

Введение

Одним из перспективных направлений, позволяющих получить адекватную информацию о статусе морских акваторий, является оценка состояния рыб с использованием неспецифических параметров прооксидантно-антиоксидантной системы, реагирующих на действие любых достаточно сильных стресс-факторов. Необходимым условием проведения биоиндикационных исследований является унификация выборки, позволяющая исключить влияние физиологического состояния особей на анализируемые биомаркеры. Согласно литературным данным, соотношение прооксидантно-антиоксидантных реакций в тканях самок и самцов некоторых видов рыб могут в значительной степени отличаться [Руднева, 2000; Руднева, Скуратовская, 2009], что обусловлено особенностями строения половых гормонов — эстрогенов и тестостерона [Persky et al., 2000]. Таким образом, изучение особенностей прооксидантно-антиоксидантной системы крови самок и самцов бычка-кругляка позволяет определить особенности ответных реакций особей разного пола на действие неблагоприятных факторов среды, а также параметры унификации выборки для проведения биоиндикационных исследований с применением вышеперечисленных биомаркеров крови этого вида [Руднева, Скуратовская, 2009].

В связи с этим цель работы — изучить активность некоторых антиоксидантных (АО) ферментов и содержание продуктов окислительной модификации белков (ОМБ) в крови разнополых особей бычка-кругляка из прибрежных районов Чёрного (г. Севастополь) и юго-западной части Азовского морей.

* Работа выполнена в рамках государственного задания ФИЦ ИнБЮМ по теме: «Закономерности формирования и антропогенная трансформация биоразнообразия и биоресурсов Азово-Черноморского бассейна и других районов Мирового океана», регистрационный № 121030100028-0.

Материалы и методы

Ихтиологический материал — бычок-кругляк *Neogobius melanostomus* (Pallas, 1814), был получен в прибрежных районах Чёрного моря (г. Севастополь) (139 экз.) и юго-западной части Азовского моря (183 экз.) в 2003 г. В ходе биологического анализа определяли размерно-массовые характеристики рыб, пол и стадию зрелости гонад. Возраст рыб определяли по отолитам [Правдин, 1966]. Основная масса рыб была отобрана весной и летом, что соответствовало преднерестовой и нерестовой стадиям репродуктивного цикла. В уловах доминировали возрастные группы 1+ и 2+.

Материалом исследований служила кровь рыб, отобранная из хвостовой артерии. В гемолизатах крови определяли активность пяти АО-ферментов (каталазы (КАТ), супероксиддисмутазы (СОД), пероксидазы (ПЕР), глутатионредуктазы (ГР) и глутатион-трансферазы (ГТ)) методами, описанными нами ранее [Kovyrshina, Rudneva, 2018]. В сыворотке крови анализировали уровень ОМБ по реакции взаимодействия окисленных аминокислотных остатков белков с 2,4-динитрофенилгидразином. Оптическую плотность образовавшихся 2,4-динитрофенилгидразонов регистрировали при следующих длинах волн (λ): при 356 и 370 нм — альдегидные (C₃₅₆) и кетонные (C₃₇₀) продукты нейтрального характера, при 430 и 530 нм — альдегидные (C₄₃₀) и кетонные (C₅₃₀) продукты основного характера [Дубинина и др., 1995]. Все биохимические показатели определяли на спектрофотометре Spocol-211 (Carl Zeiss, Jena, Germany).

Статистический анализ данных осуществляли с использованием t-критерия Стьюдента. Результаты считали достоверными в случае, если $p \leq 0,05$ [Лакин, 1990].

Результаты и обсуждение

Сравнительный анализ активности АО-ферментов крови разнополых особей бычка-кругляка из районов исследования в Чёрном и Азовском морях позволил установить более низкую активность отдельных ферментов в эритроцитах крови самцов бычка-кругляка по сравнению с таковой у самок. Активность КАТ ($p \leq 0,01$) и СОД ($p \leq 0,01$) была достоверно ниже в эритроцитах крови самцов из севастопольских акваторий, а ПЕР ($p \leq 0,001$) — у самцов из юго-западной части Азовского моря (табл. 1).

Таблица 1

Активность антиоксидантных ферментов (мг гемоглобина / мин, $M \pm m$) в крови разнополых особей бычка-кругляка из Чёрного и Азовского морей

пол	n	КАТ, мг H ₂ O ₂	СОД, усл. ед.	ПЕР, опт. ед.	ГР, нмоль НАДФН	ГТ, нмоль конъюгата
Чёрное море						
самки	28	0,65 ± 0,06	320,20 ± 61,19	10,20 ± 1,44	8,21 ± 1,65	69,52 ± 44,43
самцы	130	0,49 ± 0,02*	148,80 ± 13,58*	11,83 ± 0,94	5,28 ± 0,71	19,24 ± 1,91
Азовское море						
самки	121	0,84 ± 0,03	462,80 ± 65,01	6,59 ± 0,46	7,71 ± 0,96	45,89 ± 5,93
самцы	48	0,94 ± 0,06	498,91 ± 122,02	4,50 ± 0,50*	7,31 ± 1,27	50,92 ± 13,67

Примечания: * — достоверность различий между активностью ферментов у самок и самцов; **жирным** шрифтом обозначена достоверность различий у однополых особей из двух морей.

Сравнительный анализ активности АО-ферментов у однополых рыб из районов исследования позволил установить определённые отличия (табл. 1). Активность КАТ была достоверно ниже ($p \leq 0,01$) в крови самок из севастопольских акваторий, а ПЕР — у самок из юго-западной части Азовского моря ($p \leq 0,05$). Для других параметров достоверных различий не выявлено. В то же время активность КАТ ($p \leq 0,001$), СОД ($p \leq 0,01$) и ГТ ($p \leq 0,05$) была достоверно ниже, а ПЕР — выше ($p \leq 0,001$) в крови самцов рыб из Чёрного моря по сравнению с аналогичными показателями рыб из юго-западной части Азовского моря (табл. 1).

Согласно данным таблицы 2, содержание кетопроизводных нейтрального и альдегидопродуктов основного характера было достоверно выше ($p \leq 0,05$) в эритроцитах крови самцов бычка-кругляка из Чёрного моря по сравнению с таковым у самок. Содержание продуктов ОМБ в сыворотке крови разнополых особей из Азовского моря достоверно не отличалось, за исключением кетопроизводных основного характера, содержание которых было достоверно выше у самцов ($p \leq 0,05$) (табл. 2).

Таблица 2

Содержание продуктов окислительной модификации белков в сыворотке крови разнополых особей бычка-кругляка из Чёрного и Азовского морей (опт ед. / мл сыворотки, $M \pm m$)

пол	n	продукты нейтрального характера		продукты основного характера	
		альдегидные 346 нм	кетонные 370 нм	альдегидные 430 нм	кетонные 530 нм
Чёрное море					
самки	8	4,62 ± 0,74	6,33 ± 0,96	3,52 ± 0,62	0,57 ± 0,13
самцы	33	5,98 ± 0,51	8,89 ± 0,71*	5,28 ± 0,40*	0,83 ± 0,07
Азовское море					
самки	38	3,30 ± 0,18	4,45 ± 0,27	2,58 ± 0,17	0,26 ± 0,02
самцы	22	3,38 ± 0,36	4,36 ± 0,42	2,98 ± 0,43	0,66 ± 0,16

Примечания: обозначения те же, что в таблице 1.

Таким образом, исследование показателей прооксидантно-антиоксидантной системы крови разнополых особей бычка-кругляка из двух морей позволило выявить определённые особенности. Установлены снижение активности КАТ, СОД и увеличение содержания продуктов ОМБ в крови самцов рыб по сравнению с соответствующими показателями самок бычка-кругляка из севастопольских акваторий (табл. 1, 2). Согласованная работа КАТ и СОД обеспечивает поддержание концентрации активных форм кислорода на безопасном для организма уровне [Karadag, Firat, Firat, 2014]. Снижение их активности (КАТ, СОД) в эритроцитах крови самцов бычка-кругляка привело к усилению процессов свободикального окисления (СРО) белков сыворотки крови. Половые различия показателей прооксидантно-антиоксидантной системы были также показаны в гонадах шести видов рыб Чёрного моря: катрана (*Squalus acanthias*), ставриды (*Trachurus mediterraneus ponticus*), спикары (*Spicara flexuosa*), султанки (*Mullus barbatus ponticus*), бычка-кругляка и морского ерша (*Scorpaena porcus*) [Руднева, 2000]. Уровень перекисного окисления липидов (ПОЛ) был достоверно выше в семенниках акулы и спикары по сравнению с аналогичными показателями в яичниках рыб. Активность СОД и ПЕР была выше в гонадах самцов по сравнению с аналогичными показателями самок, тогда как активность КАТ и ГР имела противоположную зависимость. Таким образом, автором было установлено преобладание АО-реакций над процессами ПОЛ в яичниках всех исследуемых видов рыб по сравнению с таковыми в семенниках [Руднева, 2000]. Активность АО-ферментов (СОД, КАТ) в печени самок

кумжи (*Salmo trutta*) была также достоверно выше по сравнению с аналогичными показателями самцов этого вида [Parolini et al., 2019]. Выявленные закономерности, вероятно, зависят от особенностей структуры женских половых гормонов (эстрогенов), обладающих АО-свойствами. Являясь фенольными соединениями, эстрогены ингибируют СРО липопротеинов биологических мембран, защищают печень [Huh et al., 1994], скелетную и сердечную мускулатуры [Persky et al., 2000]. В тканях мозга эту же функцию выполняет прогестерон [Pajović et al., 1999]. В то же время мужской половой гормон — тестостерон вызывает снижение активности СОД, КАТ и глутатионпероксидазы, приводя к усилению СРО в тканях [Chainy, Samantaray, Samanta, 1997].

Сравнительный анализ активности биомаркеров крови однополых рыб из двух морей показал более высокий уровень ОМБ и низкую активность большинства АО-ферментов в крови самцов бычка-кругляка из Чёрного моря (табл. 1, 2). Это свидетельствует о смещении прооксидантно-антиоксидантных реакций в сторону процессов СРО сывороточных белков и, соответственно, менее экологически благополучном состоянии севастопольских акваторий. Отсутствие выраженных отличий между анализируемыми показателями крови самок бычка-кругляка из двух морей (табл. 1, 2), вероятно, свидетельствует о большей их устойчивости к уровню комплексного загрязнения среды обитания. Большая чувствительность самцов к уровню комплексного загрязнения в среде обитания и отдельным токсикантам была также показана в работах других авторов [Суховская и др., 2020; Чеснокова, 2017].

Таким образом, результаты исследований показали более выраженные половые различия биомаркеров крови бычка-кругляка из севастопольских акваторий по сравнению с аналогичными показателями рыб из юго-западной части Азовского моря. Выявленные у черноморского бычка-кругляка межполовые различия могут быть связаны с избирательностью ответных реакций в тканях рыб разного пола и большей чувствительностью самцов к уровню комплексного загрязнения севастопольских акваторий. В связи с этим биоиндикационные исследования с применением показателей прооксидантно-антиоксидантной системы крови бычка-кругляка рекомендовано проводить на особях одного пола, предпочтительно на самцах.

Список литературы

1. Дубинина Е. Е., Бурмистов С. О., Ходов Д. А., Поротов И. Г. Окислительная модификация белков сыворотки крови человека, метод её определения // Вопросы медицинской химии. – 1995. – № 1. – С. 24–26.
2. Лакин Г. Ф. Биометрия. – 4-е изд., перераб. и доп. – Москва : Высш. шк., 1990. – 352 с.
3. Правдин И. Ф. Руководство по изучению рыб (преимущественно пресноводных) / под ред. П. А. Дрягина, В. В. Покровского. – 4-е изд., перераб. и доп. – Москва : Пищ. пром-сть, 1966. – 376 с.
4. Руднева И. И. Ответные реакции морских животных на антропогенное загрязнение Чёрного моря : дис. ... д-ра биол. наук : 03.00.29. – Севастополь, 2000. – 329 с.
5. Руднева И. И., Скуратовская Е. Н. Половые особенности активности антиоксидантных ферментов крови некоторых прибрежных видов рыб Чёрного моря // Вопросы ихтиологии. – 2009. – Т. 49, № 1. – С. 125–128. – <https://doi.org/10.1134/S0032945209010159>
6. Суховская И. В., Смирнов Л. П., Немова Н. Н., Комов В. Т. Влияние ртути на фракционный состав низкомолекулярных пептидов мускулатуры речного окуня *Perca fluviatilis* // Вопросы ихтиологии. – 2001. – Т. 41, № 5. – С. 699–703.

7. Чеснокова И. И. Биомаркеры черноморских рыб как показатели экологического состояния среды их обитания : автореф. дис. ... канд. биол. наук : 03.02.10. – Севастополь, 2017. – 22 с.
8. Chainy G. B. N., Samantaray S., Samanta L. Testosterone-induced changes in testicular antioxidant system // *Andrologia*. – 1997. – Vol. 29, iss. 6. – P. 343–349. – <https://doi.org/10.1111/j.1439-0272.1997.tb00328.x>
9. Huh K., Shin U. S., Choi J. W., Lee S. I. Effect of sex hormones on lipid peroxidation in rat liver // *Archives of Pharmacal Research*. – 1994. – Vol. 17, iss. 2. – P. 109–114. – <https://doi.org/10.1007/BF02974233>
10. Karadag H., Firat Ö., Firat Ö. Use of oxidative stress biomarkers in *Cyprinus carpio* L. for the evaluation of water pollution in Ataturk Dam Lake (Adiyaman, Turkey) // *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. – 2014. – Vol. 92, iss. 3. – P. 289–293. – <https://doi.org/10.1007/s00128-013-1187-0>
11. Kovyrshina T. B., Rudneva I. I. The Response of blood biomarkers of the round goby *Neogobius melanostomus* (Pallas, 1814) (Perciformes: Gobiidae) to chronic coastal pollution in the Sea of Azov // *Russian Journal of Marine Biology*. – 2018. – Vol. 44, № 4. – P. 328–333. – <https://doi.org/10.1134/S1063074018040065>
12. Pajović S. B., Sačić Z. S., Spasić M. B., Petrović V. M., Martinović J. V. Effects of progesterone and estradiol benzoate on glutathione dependent antioxidant enzyme activities in the brain of female rats // *General Physiology and Biophysics*. – 1999. – Vol. 18, iss. 1. – P. 35–44.
13. Parolini M., Iacobuzio R., Felice B., Bassano B., Pennati R., Saino N. Age- and sex-dependent variation in the activity of antioxidant enzymes in the brown trout (*Salmo trutta*) // *Fish Physiology and Biochemistry*. – 2019. – Vol. 45, iss. 1. – P. 145–154. – <https://doi.org/10.1007/s10695-018-0545-6>
14. Persky A. M., Green P. S., Stublely L., Howell C. O., Zaulyanov L., Brazeau G. A., Simpkins J. W. Protective effect of estrogens against oxidative damage to heart and skeletal muscle in vivo and in vitro // *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*. – 2000. – Vol. 223, iss. 1. – P. 59–66. – <https://doi.org/10.1046/j.1525-1373.2000.22308.x>
15. Winzer K., Winston G. W., Becker W., Van Noorden C. J. F., Köehler A. Sex-related responses to oxidative stress in primary cultured hepatocytes of European flounder (*Platichthys flesus* L.) // *Aquatic Toxicology*. – 2001. – Vol. 52, iss. 2. – P. 143–155. – [https://doi.org/10.1016/S0166-445X\(00\)00137-5](https://doi.org/10.1016/S0166-445X(00)00137-5)

**SEX FEATURES OF PROXIDANT-ANTIOXIDANT BLOOD SYSTEM OF ROUND GOBY
NEOGOBIOUS MELANOSTOMUS (PALLAS, 1814) FROM THE BLACK SEA
AND THE SEA OF AZOV**

Sigacheva T. B.

*A. O. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas of RAS, Sevastopol, Russian Federation,
e-mail: mtk.fam@mail.ru*

Abstract: The analysis of indicators of the prooxidant-antioxidant system parameters (activity of catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD), peroxidase (PER), glutathione reductase (GR), glutathione-S-transferase (GST) and oxidized protein levels) in the blood of round goby *Neogobius melanostomus* (Pallas, 1814) specimens of different sexes from the coastal regions of the Black Sea (Sevastopol) and the Sea of Azov was carried out. A decrease in the activity of CAT, SOD (by 1.3–2 times) and an increase in the oxidized protein levels in the blood of males from the Sevastopol waters in comparison with similar indicators of females were found. In fish from the Sea

of Azov, the sex differences were weakly pronounced. Analysis of blood biomarkers in the fish specimens of different sexes from two seas showed a higher level of oxidized proteins and low activities of CAT, SOD and GST in the blood of round goby males from the Black Sea. The results obtained make it possible to recommend carrying out bioindication studies using prooxidant-antioxidant blood system parameters of round goby on the same sex specimens, preferably males.

Keywords: round goby, blood, antioxidant enzyme activities, oxidized protein levels, Black Sea, Sea of Azov.

Сведения об авторе

Сигачева
Татьяна
Борисовна

кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отдела ихтиологии ФГБУН ФИЦ «Институт биологии южных морей имени А. О. Ковалевского РАН», mtk.fam@mail.ru

*Поступила в редакцию 31.01.2022 г.
Принята к публикации 04.03.2022 г.*