

ции (V) соответственно 9% и 18%. В пластических веществах наиболее подвижной частью оказались – липиды (V=38%) и минеральные вещества (V=31%). Наименее подвижными были белки (V=10%).

При зимнем голодании сеголетков карпа соотношение воды и суммы пластических веществ в их убывающей массе приблизилось к 1:1 (V=14–15%). Внутри пластических веществ, использовавшихся на поддерживающий обмен, наиболее лабильной была минеральная часть (V=72%). Вариабельность трат липидов была значительно меньшей (V=27%); Утилизация белка колебалась в наиболее узких пределах (V=10%).

У питающейся молоди форели по сравнению с карпом соотношение воды и пластических веществ в прирастающей массе было несколько шире – 2,5:1 (V=34% и 9%). Наиболее подвижная часть – минералы (V=43%), наименее – в равной степени белки и жиры, соответственно (V=23% и 20%).

ON INFLUENCE OF FEED QUALITY ON METABOLISM IN FISH

M.A. Shcherbina

All-Russian Research Institute of Freshwater Fisheries, Rybnoe, Moscow Region, Russia
vniprh@mail.ru.

A new methodical approach to evaluate metabolic alterations in starved or fed fish has been suggested. It consists in determining the ratio of water and organic substances in the unit of body weight, increased or decreased. It is very important that determination of fish weight and sampling for chemical analysis should be performed strongly simultaneously, both in the beginning and end of an experiment. For calculations the following equation is used: $K_{np} = 10 (M_t P_t - M_o P_o) / (M_t - M_o)$, g, MJ/kg of body weight increment, were M_o , M_t and P_o , P_t are average fish weights and content of some substance or energy in their body in the beginning and the end of an experiment, respectively (% or kJ/100 g). The combination of the data obtained with the daily average growth rate [$C_{w,\%} = 200 (M_t - M_o) / (M_o + M_t) t$, were t is the experimental period, days] allows us to realize the integral feed effect (or effect of conditions before starvation) on metabolism and growth of fish. Appropriate corroborated data are presented in the table.

АКТИВНОСТЬ ЭТОКСИРЕЗОРУФИН-О-ДИЭТИЛАЗЫ (ЭРОД) РЫБ КАК БИОМАРКЕР ЗАГРЯЗНЕНИЯ ВОДНОЙ СРЕДЫ СТОЙКИМИ ОРГАНИЧЕСКИМИ ЗАГРЯЗНЯЮЩИМИ ВЕЩЕСТВАМИ

В.В. Юрченко, Г.М. Чуйко

ИБВВ РАН, Борок, Россия
viksapiksa@mail.ru

CYP1A-dependent monooxygenases are known to be metabolizing enzymes of many xenobiotics, such as PCDDs, PCDFs, PCBs, PAHs and structurally related compounds. EROD activity in fish is used as an indicator of CYP1A-induction, resulted by environmental contaminants exposure. EROD activity approach is based on the measurement of ethoxyresorufin deethylation product, resorufin. In 1976 (Payne) EROD activity was suggested to serve as a biomarker of environmental pollution.

Органические загрязнители водных объектов неизбежно попадают в организм рыб. Большинство из них являются липофильными ксенобиотиками, что делает их легко переносимыми через клеточные мембраны жабр, кожи, пищеварительной системы. Их последующая судьба и биологические эффекты в значительной степени зависят от способности к биотрансформации. Биотрансформация этих соединений как процесс состоит из двух фаз. В первой фазе (phase I), оксидативной, главная роль принадлежит оксигеназным системам, которые, окисляя гидрофобные молекулы ксенобиотика, увеличивают его водорастворимость. Во второй фазе (phase II) продукты оксигеназных реакций конъюгируют с различными водорастворимыми эндогенными соединениями посредством трансфераз (и некоторых других групп ферментов) и удаляются экскреторными органами (Di Giulio et al., 1995).

Индукция ферментов-трансформаторов в общем смысле рассматривается как адаптивный ответ организма на загрязнение среды обитания, приводящий к выведению чужеродных соединений (Bock et al., 1990).

Биотрансформация ксенобиотиков является функциональным звеном более общего процесса в живой системе – увеличения полярности окисляемых молекул, по этому пути происходит превращение гидрофобных эндогенных соединений (стероидов, длинноцепочечных жирных кислот и др.). Поэтому оксигеназы также получили название «оксидазы смешанных функций». Универсальной оксидазой, обнаруженной у представителей животного, растительного и бактериального миров, является цитохром P450. К настоящему времени выделено множество форм цитохрома P450. Известно, что P450-содержащие ферментные системы обладают выраженной субстратной специфичностью, между тем, некоторые из них трансформируют относительно широкий спектр субстратов (Арчаков, 1983; Katagi, 2010).

Возможно, никаким другим монооксигеназам не было уделено такого большого внимания как подсемейству CYP1A-содержащих оксигеназ (cytochrome P450 family 1 subfamily A), так как оно играет ключевую роль в биотрансформации ПХДД, ПХДФ, ПХБ, ПАУ и структурно сходных соединений. Попадая в организм рыб, эти ксенобиотики вызывают индукцию CYP1A, которая проявляется в повышении активности этоксирезорифин-О-диэтилазы (ЭРОД) (Whyte et al., 2000).

ЭРОД, как и остальные P450-содержащие ферменты, является мембраноассоциированным белком эндоплазматического ретикулаума (микросомальная фракция) и митохондрий. Монооксигеназная система микросом, вероятно, состоит из трёх компонентов: НАДФН-специфичный протеид, цитохром b5 и цитохром P450 (Арчаков, 1983).

На субклеточном уровне наибольшая ЭРОД-активность отмечается в микросомальной фракции. На клеточно-тканевом – максимальную индукцию CYP1A демонстрирует эндотелий (Smolowitz et al., 1991; Stegeman et al., 1991). На уровне органов и их систем в организме рыб CYP1A-содержащие ферменты концентрируются главным образом в печени, но они обнаружены также в почках, селезёнке, жабрах, коже, пищеварительном тракте, коре надпочечников, сердце, гонадах, обонятельной системе, мозге, красной мускулатуре (Di Giulio et al., 1995; Sarasquete, Segner, 2000).

Использование каталитической активности ЭРОД в качестве индикатора количества CYP1A основано на определении скорости диэтилирования этоксирезорифина. ЭРОД-активность измеряется как количество резорифина, приходящегося на мг белка в образце микросомальной фракции печени рыбы в минуту времени реакции (моль/мг/мин) (Pohl, Fouts, 1980: цит. по Whyte et al., 2000).

Так, например, у окуня при базовом уровне ЭРОД 440 пмоль/мг/мин внутрибрюшные инъекции в дозе 500мг/кг Clophen 50 (ПХБ) и 50 мг/кг β-нафтофлавона (ПАУ) вызвали индукцию 1100 пмоль/мг/мин и 2560 пмоль/мг/мин, соответственно. У щуки после инъекции β-нафтофлавона в такой же дозе уровень ЭРОД возрос с 480 пмоль/мг/мин до 4660 пмоль/мг/мин (Förlin, Celander, 1993: цит. по Whyte et al., 2000).

Ферментная активность ЭРОД является очень нестабильной и чувствительной к манипуляционным процедурам. Поэтому с момента отлова рыбы до извлечения печени не должно проходить более 10 минут. Если получение печени и определение ЭРОД-активности разделены во времени (например, в полевых условиях) следует замораживать печень в жидком азоте (-196°C), что позволяет сохранять активность фермента. Проведения ЭРОД-анализа подразумевает наличие следующего лабораторного оборудования: гомогенизатор, центрифуга и ультрацентрифуга – для получения микросомальной фракции, спектрофлуориметр – для измерения конечного продукта реакции.

Индукцированная ЭРОД-активность может многократно возрастать по сравнению с базовым уровнем. В целях сравнения результатов исследований сложилась условная градация ЭРОД-индукции на «слабую» (ЭРОД-активность возрастает до 10 раз по сравнению с контролем), «умеренную» (от десяти- до стократного повышения уровней ЭРОД) и «сильную» (активность фермента увеличивается более чем в 100 раз) (Whyte et al., 2000).

Прежде чем говорить о качестве среды на основании данных ЭРОД-анализа и использовать активность фермента в целях биомониторинга необходимо установить, в каких пределах она изменяется у массовых видов рыб и от каких факторов зависит в нормальных условиях.

Ранее установлено, что ЭРОД-активность рыб зависит от концентрации индуктора (-ов), либо от соотношения индуктора (-ов) и ингибитора (-ов), температуры воды, индивидуального физиологического состояния (Whyte et al., 2000).

Ключевым аспектом в выборе вида для мониторинговых исследований является не сама по себе индуцированная ЭРОД-активность, а в большей степени – устойчивая конститутивная ЭРОД-активность и значительная амплитуда между конститутивной и индуцированной ЭРОД-активностью, что позволяет однозначно интерпретировать результаты (Flamarion, Garric, 1997).