

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
«ИНСТИТУТ МОРСКИХ БИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ
ИМЕНИ А.О. КОВАЛЕВСКОГО РАН»

на правах рукописи

ЧЕСНОКОВА ИРИНА ИГОРЕВНА

**БИОМАРКЕРЫ ЧЕРНОМОРСКИХ РЫБ КАК ПОКАЗАТЕЛИ
ЭКОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ СРЕДЫ ИХ ОБИТАНИЯ**

03.02.10 – гидробиология

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель -
Руднева Ирина Ивановна
доктор биологических наук, профессор

Севастополь – 2017

СОДЕРЖАНИЕ

	Стр.
ВВЕДЕНИЕ.....	4
РАЗДЕЛ 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	13
1.1 Эндогенная интоксикация и средномолекулярные олигопептиды в тканях человека и животных	13
1.2 Окислительная модификация белков в тканях	16
1.3 Характеристика антиоксидантной системы рыб	21
1.4 Особенности активности аминотрансфераз в тканях рыб	28
РАЗДЕЛ 2 МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ	33
2.1 Экологическая характеристика районов исследований	33
2.2 Материал исследований	39
2.3 Методы исследований	42
2.3.1 Ихтиологические методы (морфофизиологический анализ)	42
2.3.2 Биохимические методы	42
2.3.3 Статистическая обработка	45
РАЗДЕЛ 3 ОСОБЕННОСТИ СОДЕРЖАНИЯ СРЕДНОМОЛЕКУЛЯРНЫХ ОЛИГОПЕПТИДОВ И УРОВЕНЬ ОКИСЛИТЕЛЬНОЙ МОДИФИКАЦИИ БЕЛКОВ В ТКАНЯХ ЧЕРНОМОРСКИХ РЫБ	46
3.1 Видовые особенности содержания средномолекулярных олигопептидов и уровень окислительной модификации белков в тканях черноморских рыб	46
3.2 Половые особенности содержания средномолекулярных олигопептидов в тканях черноморских рыб	49
3.3 Возрастные особенности содержания средномолекулярных олигопептидов в тканях черноморских рыб	50
3.4 Сезонные особенности содержания средномолекулярных олигопептидов в тканях черноморских рыб	53
3.5 Содержания средномолекулярных олигопептидов и уровень окислительной модификации белков в тканях черноморских рыб, обитающих в бухтах с различной антропогенной нагрузкой	59

РАЗДЕЛ 4 АКТИВНОСТЬ АНТИОКСИДАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ В ТКАНЯХ ЧЕРНОМОРСКИХ РЫБ	68
4.1 Видовые особенности активности антиоксидантных ферментов в тканях черноморских рыб	68
4.2 Половые особенности активности антиоксидантных ферментов в тканях черноморских рыб	71
4.3 Возрастные особенности активности антиоксидантных ферментов в тканях черноморских рыб	73
4.4 Сезонные особенности активности антиоксидантных ферментов в тканях черноморских рыб	77
4.5 Активность антиоксидантных ферментов в тканях черноморских рыб, обитающих в бухтах с различным уровнем антропогенной нагрузки	81
РАЗДЕЛ 5 ОСОБЕННОСТИ АКТИВНОСТИ АМИНОТРАНСФЕРАЗ В ТКАНЯХ ЧЕРНОМОРСКИХ РЫБ	89
5.1 Видовые особенности активности аминотрансфераз в тканях черноморских рыб	89
5.2 Половые особенности активности аминотрансфераз в тканях черноморских рыб	91
5.3 Возрастные особенности активности аминотрансфераз в тканях черноморских рыб	92
5.4 Сезонные особенности активности аминотрансфераз в тканях черноморских рыб	96
5.5 Активность аминотрансфераз в тканях черноморских рыб, обитающих в бухтах с различной антропогенной нагрузкой	99
РАЗДЕЛ 6 ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ	108
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	141
ВЫВОДЫ	144
ПЕРЕЧЕНЬ УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ	146
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ	147

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы. В настоящее время одна из ключевых проблем биологии, в том числе гидробиологии – поиск информативных и надежных биомаркеров оценки состояния организмов и среды их обитания в естественных и трансформированных человеком экосистемах. В гидробиологических исследованиях для определения состояния популяций животных используются разные методы оценки, в частности анализ ее размеров, воспроизводства, выживаемости, динамики численности. Однако следует отметить, что эти методы позволяют распознать так называемые "негативные" тенденции только при исследовании значительного числа особей и в течение длительного времени. Поэтому в настоящее время все большее значение приобретают биохимические методы, позволяющие выявить нарушения на самых ранних этапах повреждения и создать систему «раннего оповещения неблагополучий» в экосистеме («early warning system») [112, 189, 288].

С этой целью широко используют биомаркеры, к которым относятся гематологические и клинико-патологические параметры органов и тканей. Однако в природных популяциях водных организмов они сильно варьируют, в связи с чем возникает необходимость стандартизации методов исследования, выявления адекватных биомаркеров и факторов, на них влияющих [133, 155]. Информация по этим вопросам остается достаточно ограниченной. Для некоторых видов хозяйственно-полезных животных существуют хорошо известные значения гематологических и клинико-патологических показателей их статуса. Сравнительно меньше данных, характеризующих состояние животных (в том числе водных) диких популяций, в то время как такие исследования позволили бы оценить как «здоровье» отдельных особей и их сообществ, так и идентифицировать органы-мишени, в наибольшей степени подверженные воздействию болезней (бактериальных, вирусных и пр.), токсинов (тяжелых металлов, нефтеуглеводородов, пестицидов) и других факторов, в том числе трофических [155, 226, 263].

Известно, что биохимические показатели метаболизма зависят от среды обитания, видовой принадлежности рыб, возраста, стадии зрелости половых желез и состояния «здоровья». Принимая во внимание тот факт, что костистые рыбы прошли длительный эволюционный путь и характеризуются широким спектром адаптаций к различным экологическим условиям, можно полагать, что ни один вид не может быть универсальной моделью для всех остальных видов [155]. В связи с этим интерпретация значений биомаркеров является проблематичной, учитывая видовое разнообразие рыб. Для ряда костистых рыб были исследованы некоторые гематологические параметры, однако значения их сильно варьируют в разных работах ввиду отсутствия стандартных методов отбора и измерений. Тем не менее, исследование данных показателей позволяет понять связь биохимических характеристик и механизмов адаптации видов к среде обитания, установить пределы толерантности и оценить устойчивость организмов в изменяющихся условиях [105, 141, 156].

Другая проблема связана с разработкой методов оценки экологического состояния окружающей среды по реакциям обитающих в ней живых организмов. Она может рассматриваться в одном ключе при выявлении воздействий на биосистемы как отдельных факторов так и их суммы, независимо от их генеза - физических, химических, биологических [7, 43, 73, 81, 98, 138, 145, 218]. Для анализа морских объектов выбирают соответствующие биоиндикаторы – компоненты системы (виды или сообщества), наличие или статус, а также поведение которых служат показателями протекания естественных процессов, состояния среды или антропогенного воздействия на нее. К индикаторам прямого действия (биоиндикаторам) относятся некоторые показатели иммунитета, обмена липидов, изменения активности ферментов, гистопатологии, свидетельствующие о поражении отдельных органов (например, изменение активности аминотрансфераз, характеризующее поражение печени, сердца и пр.) [112].

В настоящее время в мировой литературе имеется немало работ, посвященных изучению метаболизма гидробионтов, изменяющегося под воздействием природных и антропогенных факторов. Результаты таких

исследований получены, как правило, для какого-то одного вида, в то время как все еще недостаточно данных о биомаркерах состояния нескольких представителей сообщества того или иного класса животных, относящихся к различным экологическим группам.

Способность разных видов гидробионтов регулировать и поддерживать свой гомеостаз отличается, что также проявляется в интенсивности и направлениях ответных реакций на одно и то же негативное воздействие. Для понимания особенностей экологии разных видов рыб и механизмов их адаптаций к природным и антропогенным факторам крайне важно изучение параметров жизнедеятельности и метаболических реакций, играющих ключевую роль в поддержании "благополучия" как отдельно взятой особи, так и вида в целом. Такой подход к определению состояния гидробионтов позволяет комплексно оценить сложную картину взаимодействий между отдельными видами, воздействующими природными и антропогенными факторами, а полученные результаты могут иметь значение при разработке системы диагностики, мониторинга и охраны водоемов с учетом конкретных условий исследуемого региона.

Цель и задачи исследования

Основная цель работы – исследовать некоторые биомаркеры физиолого-биохимического состояния четырех массовых видов черноморских рыб разных экологических групп и их зависимость от условий среды обитания.

В соответствии с целью исследования были поставлены следующие задачи:

1. Выявить видовые особенности значений биомаркеров у 4-х видов рыб, относящихся к разным экологическим группам: донной (морской ерш), придонной (султанка), придонно-пелагической (спикара) и пелагической (ставрида)
2. Выявить влияние пола и возраста на исследуемые биомаркеры у рыб, принадлежащих к данным экологическим группам.
3. Установить влияние сезонных изменений на биомаркеры рыб, относящихся к разным экологическим группам.

4. Сравнить ответные реакции на уровне биомаркеров у рыб из акваторий с различным уровнем комплексного хронического загрязнения.

Научная новизна полученных результатов

Впервые проведено комплексное исследование (с учетом видовых, половых, возрастных и сезонных особенностей) уровня эндогенной интоксикации, активности аминотрансфераз в тканях 4 видов черноморских рыб, относящихся к разным экологическим группам. Установлены достоверные видовые отличия, отражающие разнообразие адаптаций видов к определенным условиям существования. Обнаружено, что уровень окислительной модификации белков в крови морского ерша и султанки в 2 раза ниже по сравнению с другими видами. Впервые показано, что активность антиоксидантных ферментов у донных видов рыб максимальна в крови и минимальна в печени, в то время как у придонных, придонно-пелагических и пелагических видов обнаружена обратная зависимость.

Показана неоднородность возрастных изменений всех исследуемых показателей у различных объектов. У большинства видов наблюдается снижение исследуемых параметров с возрастом, но в тканях некоторых рыб они остаются неизменными или возрастают.

Установлены разнонаправленные сезонные изменения значений биомаркеров у черноморских видов. Для донных и придонных рыб исследуемые показатели возрастают в летне-осенний период, у придонно-пелагических и пелагических видов выявлена обратная тенденция, за исключением активности аминотрансфераз в тканях морского ерша, которые повышаются в осенне-зимний период.

Исследуемые виды по-разному реагируют на негативное воздействие среды, реорганизуют свои обменные и защитные реакции. Содержание продуктов патологического белкового обмена в большинстве случаев не отличается у рыб из акваторий с разным уровнем загрязнения. В то же время активность ферментов, участвующих в выполнении защитных функций, таких как антиоксидантные, и активность аминотрансфераз возрастают в тканях особей из акваторий, в большей степени подверженных антропогенному воздействию.

Загрязнения среды обитания неоднозначно влияет на рыб разных полов и возрастных групп. Наиболее уязвимыми являются особи младших возрастных групп.

Полученные результаты имеют теоретическое значение, так как вносят вклад в понимание фундаментальных механизмов адаптаций водных организмов к изменяющимся условиям среды, и могут быть использованы в решении ряда проблем гидробиологии, физиологии, биохимии, экологии и экотоксикологии рыб.

Теоретическое и практическое значение полученных результатов

Результаты работы представляют интерес для гидробиологии при разработке мониторинговых программ биотестирования и биоиндикации водных объектов с помощью биомаркеров состояния рыб. В настоящее время такой подход широко применяется в странах Европы, что позволяет привести в соответствие отечественные разработки с мировыми стандартами.

Критерии анализа состояния рыб, основанные на измерении уровня эндогенной интоксикации и окисления белков, активности ферментов антиоксидантной системы и аминотрансфераз, дают возможность получить адекватную информацию о состоянии популяций гидробионтов в современных условиях, прогнозировать и корректировать хозяйственную деятельность, разрабатывать мероприятия по их оздоровлению и сохранению видового разнообразия в акваториях подверженных активному воздействию человека.

Часть представленных данных была получена при поддержке гранта РФФИ «Поиск критериев оценки состояния морских прибрежных экосистем Севастопольского региона на основе биоиндикаторов рыб» (№ 14-44-01014), включены в программы подготовки аспирантов ФГБУН ИМБИ РАН (курсы лекций «Гидробиология» и «Экотоксикология»), а также могут быть использованы при чтении курса лекций «Экология», «Гидробиология», «Экологическая биохимия» для студентов профильных высших учебных заведений.

Методология и методы исследования

Использован комплекс спектрофотометрических и титрометрических методов определения активности антиоксидантных ферментов (АОФ) – каталазы (КАТ), пероксидазы (ПЕР), активности аминотрансфераз (аланинаминотрансферазы – АлАт, аспартатаминотрансферазы – АсАт), содержание среднемолекулярных олигопептидов (СМО) и уровень окислительной модификации белков (ОМБ), статистический и корреляционный анализ, а также ихтиологические методы определения пола, стадии зрелости гонад и возраста.

Основные положения, выносимые на защиту.

1. Значения биомаркеров (содержание среднемолекулярных олигопептидов (СМО), уровень окислительной модификации белков (ОМБ), активность антиоксидантных ферментов (АОФ) и аминотрансфераз) в тканях рыб (морского ерша, султанки, спикары, ставриды) являются видоспецифичными, не зависят от пола и снижаются возрастом.
2. У донных и придонных видов рыб (морской ерш и султанка) значения биомаркеров возрастают в летне-осенний период, у придонно-пелагических и пелагических видов (спикара и ставрида) – в зимне-весенний.
3. Из всех исследованных биомаркеров значения активности АОФ и аминотрансфераз являются наиболее информативными при оценке состояния рыб и могут быть использованы для анализа качества водной среды.

Личный вклад соискателя

Диссертационная работа является самостоятельным научным исследованием. Автором была разработана методология исследования, проведены эксперименты, выполнены анализ, обобщение и статистическая обработка полученных данных. Полученные результаты были сопоставлены с данными литературных источников.

Апробация результатов диссертации

Основные положения диссертации доложены и обсуждены на III International Young Scientists Conference «Biodiversity. Ecology. Adaptation.

Evolution» (Odessa, 2007), на Международной научной конференции «Современные проблемы морской инженерной экологии» (Ростов-на-Дону, 2008), на международной научной конференции «Современные проблемы гидробиологии. Перспективы, пути и методы решений» (Херсон, 2008), на II Міжнародної конференції «Сучасні проблеми біології, екології та хімії» (Запоріжжя, 2009), на IV Международной научной конференции молодых ученых «Биология: от молекулы до биосферы», (Харьков, 2009 г), на Международной конференции «Современные проблемы физиологии и биохимии водных организмов» (Петрозаводск, 2007, 2010, 2011), на V Международной научно-практической конференции «Человек и животные» (Астрахань, 2010), на международной научной конференции «Водные биоресурсы и аквакультура: современное состояние и перспективы научного обеспечения», (Киев, 2010), на Всеукраїнської науково-практичної конференції студентів та молодих учених «Актуальні проблеми та перспективи розвитку природничих наук» (Запорожье, 2011), на III Международной конференции «Проблемы иммунологии, патологии и охраны здоровья рыб» (Борок, 2011) на VIII международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы экологии – 2012» (Гродно, 2012), на III международной научно-практической конференции «Современные проблемы биологии, экологии и химии» (Запорожье, 2012), на V Международной ихтиологической научно-практической конференции «Современные проблемы теоретической и практической ихтиологии» (Черновцы, 2012), на международной научно-практической конференции «Трансмиссивные болезни животных: актуальные аспекты биобезопасности и контроля» (Алушта, 2012), на Всероссийской конференции с международным участием «Физиологические, биохимические и молекулярно-генетические механизмы адаптации гидробионтов» (Борок, 2012), на VII Международной научной конференции «Биоразнообразие и роль животных в экосистемах» (Днепропетровск, 2013), на V Всероссийской конференции по водной экотоксикологии, посвященной памяти Б.А. Флерова (Борок, 2014), на XIII Международной научно-практической экологической конференции «Биоразнообразие и устойчивость живых систем»

(Белгород, 2014), на Международной научной конференции «Актуальные вопросы рыбного хозяйства и аквакультуры бассейнов южных морей России (Ростов-на-Дону, 2014), на XI Всероссийской научной конференции «Актуальные проблемы экологии и сохранения биоразнообразия России и сопредельных стран» (Владикавказ, 2015), на VI Международной конференции «Проблемы патологии, иммунологии и охраны здоровья рыб и других гидробионтов» (Борок, 2015).

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 179 страницах, состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, результатов исследований и их обсуждения, заключения, выводов, списка литературы, включающего 302 источника, из них 198 иностранных. Текст иллюстрирован 22 таблицами, 46 рисунками.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 40 работ, из них 9 работ в изданиях, рекомендованных ВАК РФ и Украины (вышедшие из печати до 2014г.).

Благодарности

Автор выражает особую благодарность научному руководителю д.б.н., профессору Рудневой И.И. за помощь и консультации при постановке цели и задач исследований, обсуждении полученных результатов.

Особая благодарность выражается экспертам д.б.н., профессору, чл.-корр. НАНУ Шульману Г.Е., к.б.н. Царину С.А., д.б.н., проф. Солдатову А.А., д.б.н., проф. Самышеву Э.З. за критическую оценку работы и ценные замечания.

Благодарность выражается к.б.н., с. н.с. Кузьминовой Н.С. за ценные советы и рекомендации по решению поставленных задач и обсуждению основных положений работы, к.б.н., зав. кафедры биохимии КФУ Залевской И.Н. и н.с. Карадагского заповедника Подунай Ю.А. за консультации по методическим аспектам определения биохимических параметров.

Автор считает своим приятным долгом выразить признательность д.б.н. Овен Л.С., к.б.н. Салеховой Л.П., д.б.н., проф., Зуеву Г.В., к.б.н. Скуратовской Е.Н., вед. инж. Ковыршиной Т.Б., вед. инж. Самотой Ю.В. за консультации и помощь в проведении биологического анализа рыб, а также Шайде В.Г. за помощь в техническом обеспечении научных исследований и всем работникам

малого флота ИМБИ и вед. инж. Завьялову А.В. за доставку ихтиологического материала.

РАЗДЕЛ 1

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Эндогенная интоксикация и среднемолекулярные олигопептиды в тканях человека и животных

Одним из эффективных маркеров состояния организма для человека и животных является уровень эндогенной интоксикации (ЭИ) [36, 37, 96, 100]. Эндогенная интоксикация является типовым системным динамически развивающимся патологическим процессом, склонным к прогрессированию, к возникновению которого, как правило, приводят ряд причин:

- усиленный синтез продуктов тканевого распада как результат смещения обмена веществ в сторону катаболизма и накопления в организме вторичных метаболитов;
- подавление функциональной активности систем детоксикации;
- как следствие накопления токсинов и продуктов жизнедеятельности инфекционных агентов [36, 96].

Существуют следующие стадии развития синдрома ЭИ по В.В. Чаленко, Ф.Х. Кутушеву (1990):

➤ *Нулевая стадия (I)* – поступление и распространение токсинов и метаболитов из патологического очага в кровь, лимфу, интерстициальную жидкость. Защитные системы организма, как правило, в состоянии обезвредить эти вещества.

➤ *Стадия накопления продуктов первичного аффекта (II)* – начинается накопление эндогенных токсинов в организме как следствие декомпенсации защитных и регуляторных систем - выделительной, детоксикационной (микросомального окисления, конъюгации), моно-нуклеарно-макрофагальной.

➤ *Стадия декомпенсации регуляторных систем и ауто-агрессии (III)* - включение, напряжение и последующая декомпенсация регуляторных и защитных систем (регуляции агрегатного состояния крови, калликреин-кининовой, иммунокомпетентной, перекисного окисления) ведут к накоплению этих продуктов в токсически высоких концентрациях и появлению продуктов их аномального функционирования (аутоантител, комплексов фибриногена и гепарина с тромбогенными белками, свободных радикалов, нестабильных гидроперекисей).

➤ *Стадия нарушенного метаболизма (IV)* - токсические продукты I-III стадий проникают в неизмененные клетки, вызывая нарушения внутриклеточного обмена, повреждение биологических мембран и цитоллиз, что ведет к появлению аутоантигенов, нарушению распределения и диссеминации цитолокализованных веществ и появлению патологических метаболитов.

➤ *Стадии дезинтеграции организма как биологического целого (V)* - грубые нарушения регуляции и обменных процессов ведут к нарушению внутренней среды организма.

Практически при любой патологии и любом неблагоприятном (стрессовом) воздействии на организм активируются процессы свободнорадикального окисления, что приводит к накоплению токсических веществ, именуемых эндотоксинами. Повышение в крови продуктов содержания перекисного окисления липидов (ПОЛ), а также увеличение активности ферментов детоксикации активных форм кислорода являются неспецифическими тестами эндотоксикоза [1, 36, 37, 205, 252]. Перекисное повреждение белковых молекул приводит к их деградации и образованию токсических фрагментов, в том числе и молекул средней массы, обладающих физиологической активностью и по молекулярной массе занимающих промежуточное положение между белками и аминокислотами. Концентрация этих молекул средней массы (МСМ) является интегральным показателем токсичности определенной среды организма, и в

первую очередь степени патологичности белкового метаболизма, вызванного активацией протеиназ. В группу среднемолекулярных соединений входят не только вещества белковой природы, но и другие продукты, и промежуточные метаболиты аномального метаболизма (альдегиды, кетоны, многоатомные спирты, карбоновые кислоты и пр.). Основные компоненты ЭИ представлены в таблице 1.1 [1, 36].

Таблица 1.1 Основные компоненты эндогенной интоксикации

<i>Процессы, приводящие к состоянию эндогенной интоксикации</i>	<i>Продукты/компоненты эндогенной интоксикации</i>
Гиперпродукция веществ в нормальном обмене веществ	Лактат, пируват, креатинин
Нарушение обмена веществ	Альдегиды, кетоны, карбоновые кислоты
Продукция иммунологически чужеродных продуктов расщепления пластического материала	Продукты неограниченного протеолиза глико- и липопротеидов, фосфолипидов
Накопление в патологических концентрациях компонентов эффекторов регуляторных систем организма	Ферменты свертывающей, фибринолитической, калликреиновой систем, антитела, циркулирующие иммунные комплексы, медиаторы воспаления, биогенные амины, продукты перекисного окисления липидов
Нарушение распределения и диссеминация органо- и цитолокализованных веществ	Трипсин, амилаза, трансаминазы, миоглобин, лизосомальные белки и ферменты

Молекулы средней массы также следует разделять по растворимости. Водорастворимые токсины фильтруются почками, и их содержание в крови зависит от функциональной полноценности почек и скорости образования токсинов. 80% данной группы – продукты нарушенного белкового обмена и в большинстве своем представляют собой среднемолекулярные олигопептиды (СМО).

Гидрофобные токсины обладают высоким сродством к биологическим структурам и находятся в связанном состоянии с альбумином или

липопротеинами низкой плотности, и их считают наиболее токсичными. Элиминируется эта группа токсинов печенью. Липофильные молекулы токсинов способны проникать через бислой мембран, нарушать их целостность и тем самым влиять на ток ионов и внутриклеточный метаболизм. К этой группе токсинов относятся уробилин, жирные кислоты, некоторые лекарства и другие вещества [1].

Главная особенность МСМ – их высокая биологическая активность; соединения этой группы способны усугублять метаболические нарушения, ставшие причиной их синтеза. Многие МСМ обладают нейротоксической активностью, угнетают процессы биосинтеза белка, способны подавлять активность ряда ферментов, разобщать процессы перекисного окисления и фосфорилирования, они нарушают механизмы регуляции синтеза адениловых нуклеотидов, изменяют транспорт ионов через мембраны, эритропоэз, фагоцитоз, микроциркуляцию, лимфодинамику, вызывают состояние вторичной иммунодепрессии. СМО способны соединяться и блокировать рецепторы любой клетки, неадекватно влияя на ее метаболизм и функции [24, 34, 36, 37, 97].

Однако, несмотря на высокую информативность данного показателя, в тканях гидробионтов он ранее практически не рассматривался.

1.2 Окислительная модификация белков

В настоящее время накоплены многочисленные данные, касающиеся механизмов перекисного окисления липидов. Однако активные формы кислорода (АФК) могут вызывать окислительную деструкцию не только липидов, но и белков [28, 30, 33, 56, 63-65, 160, 161, 220, 274]. Окислительная модификация белков с учетом многообразий их функций в тканях, в отличие от окисления липидов, может носить избирательный и специфический характер. АФК могут не только разрушать боковые цепи аминокислотных остатков, но и вызывать

окисление самого скелета полипептидной цепочки в области α -углеродного атома с последующей фрагментацией молекулы [3, 65, 74, 160, 161]. Окислительная модификация белков сопровождается нарушением не только первичной, но и вторичной и третичной структур белков, что, в зависимости от аминокислотного состава, приводит к агрегации или фрагментации белковой молекулы. В зависимости от интенсивности процессов генерации АФК степень окислительной модификации аминокислотных остатков может быть разной [3, 30, 65, 160, 161].

Одним из последствий окислительного повреждения белков является изменение их ферментативной активности. Это связано с тем, что под действием АФК происходят нарушения в области активного центра, которые могут быть связаны с окислительной модификацией аминокислотных остатков, изменением валентности и нарушением координационной геометрии металлов для ряда металлзависимых ферментов.

Окисление ферментов является маркером оборота белков. Окисленные белки служат субстратом для действия протеолитических ферментов, так как они расщепляются быстрее, чем нативные [30].

Окислительная модификация белка сопровождается также их агрегацией или фрагментацией. Характер модификации зависит от типа АФК. Радикал $\text{OH}^\cdot$ чаще всего вызывает агрегацию белков, а в комбинации с O_2 или супероксидным анион-радикалом – фрагментацию.

Одноэлектронное окисление L-тирозина генерирует долгоживущий тирозил-радикал, который при взаимодействии с таким же радикалом образует битирозиновые сшивки. Появление битирозиновых сшивок за счет взаимодействия тирозил-радикалов разных полипептидных цепей и приводит к агрегации белков. В результате образуется около 90% всех агрегатов белков, тогда как 10% образуют агрегаты за счет ненативных дисульфидных или нековалентных связей [3, 30, 65].

Есть сведения о влиянии синглетного O_2 на белки. Так под действием синглетного O_2 происходит агрегация мембранных белков *E. coli*. Синглетный кислород взаимодействует с определенными аминокислотами в белках

(гистидином, триптофаном и др.), окисляя их. Продукты окисления способны образовывать ковалентные сшивки между собой, что приводит к агрегации мембранных белков [33].

Процесс фрагментации связан с отщеплением H^+ от карбонильной группы аминокислот за счет OH^- и появлением в дальнейшем при взаимодействии с O_2 или с супероксидным анион-радикалом перекисных соединений. Фрагментация сопровождается формированием низкомолекулярных компонентов с молекулярной массой около 5 тыс. дальтон [3, 30, 103].

Известно также, что фрагментацию белков могут вызывать радикалы липидов. Например, гидроксинonenаль, один из продуктов ПОЛ, способен инактивировать многие белки, в частности цитохром P450, который отвечает за биотрансформацию ксенобиотиков.

Взаимодействие биомолекул с малоновым диальдегидом приводит к образованию поперечных сшивок между белками или между белком и другой молекулой, содержащей NH_2 -группу. Аналогично белки реагируют с кетоальдегидами, образующимися при окислении сахаров. Помимо этого, альдегидная группа сахара способна непосредственно взаимодействовать с аминогруппой белковой молекулы, что в дальнейшем приводит к накоплению гликированных продуктов [5].

Окислительным превращениям подвергаются фактически все аминокислоты, но особенно триптофан, тирозин, гистидин и цистеин. А из белков наиболее активно повреждаются те, в состав которых входят гем, железосульфидные центры, медь и т. д. [3, 30, 103]. Окисленные белки способны выступать в качестве источника свободных радикалов, истощать запасы клеточных антиоксидантов, таких как глутатион и аскорбиновая кислота.

Считают, что в состоянии окислительного стресса атаке АФК подвергаются в первую очередь не липиды, а белки плазматических мембран. Подтверждением этого может служить феномен, названный Бергельсоном «молекулярной памятью липидов». Суть его заключается в том, что многие краткосрочные события, протекающие в белковой молекуле клеточной мембраны, влияют на

долговременные параметры функционирования мембранного бислоя. При воздействии соответствующего агента на мембранный белок-рецептор конформация последнего изменяется и в дальнейшем индуцирует изменения белок – липидных контактов, состояние липидов, окружающих белок. Эти изменения состояния липидов сохраняются и после отщепления лиганда от рецептора, т.е. служат способом закрепления рецептора в возбужденной конформации [26].

Таким образом, «память» липидов обеспечивает усиление сигнала, передаваемого из внешней среды на клеточную мембрану. Подтверждением первичности перекисного окисления является наличие выраженных изменений при окислительном стрессе в области аннулярных липидов, что говорит о ведущей роли окислительной модификации в деструкции клеточной мембраны. При инкубации арахидоновой кислоты с окислительно модифицированным белком *in vitro* наблюдалось образование малонового диальдегида и 4-гидроксиноненала, что характеризует модифицированный белок в качестве потенциального стимулятора перекисного окисления липидов [26].

In vitro показано, что продукты свободнорадикального окисления белков способствуют окислительным повреждениям ДНК. При воздействии на гистоны и их октамеры гидроксильными радикалами образуются гидроперекиси этих белков. В присутствии ионов Cu^{2+} гидропероксиды гистонов образуют радикалы, которые взаимодействуют с пуриновыми и пиримидиновыми азотистыми основаниями нуклеиновых кислот [214].

Окислительному повреждению подвергаются и белки митохондрий. Это приводит к снижению функции белков в цепи переносчиков электронов, активности АТФ-азы, избирательности действия транспортных пор. Изменение Red/Ox потенциала мембраны митохондрий может отражаться на дисфункции каскада дыхательной цепи. Однако основная мишень для повреждающего действия радикалов – митохондриальная ДНК (mtDNA). Известно, что митохондриальный геном кодирует в основном субъединицы белков дыхательной

цепи внутренней мембраны митохондрий, поэтому мутации в mtDNA часто приводят к дисфункции ферментов переносчиков электронов [90].

Помимо повреждения ферментов и мембранных белков АФК вызывают разрушение коллагеновых фибрилл. Коллаген под действием супероксидного анион-радикала распадается на ряд пептидов, содержащих 4-гидроксипролин [30, 160, 161].

Продукты окислительной модификации белков при участии продуктов ПОЛ и окислительной модификации нуклеиновых кислот, по сведениям ряда авторов, способны усиливать экспрессию каспаз, которые относятся к семейству IL-1-3 – конвертирующих протеаз, причастных к цепи апоптазы, что может приводить к апоптозу нейронов и ряда других клеток [11, 26].

На организменном уровне усиление процессов окислительной модификации компонентов клеточной мембраны может являться причиной изменений основных свойств клеток как единых функциональных систем. Наиболее опасным является повреждение нейронов. Происходит изменение способности нейронов генерировать, проводить и воспроизводить нервный импульс, нарушение рецепторных, медиаторных и энергетических систем [11, 12, 58, 63, 219].

У рыб процессы окислительной модификации белков были изучены В.И. Лушчаком на примере золотой рыбки. Автором показано, что уровень содержания ОМБ в тканях данного вида возрастает и при тепловом воздействии и гипероксии и остается высоким (или повышается еще больше) при возвращении в нормальные условия [210, 211]. Семидневная экспозиция рыб с ионами железа и известняка приводила к увеличению уровня карбонилированных протеинов в печени и почках [130].

Под воздействием ионов хрома Cr^{3+} в печени и почках золотой рыбки не было отмечено достоверных изменений уровня ОМБ, однако ионы хрома Cr^{6+} при определенных концентрациях приводили к увеличению содержания карбонилированных белков в печени [152, 278, 287]. В мозге и плазме уровень ОМБ возрастал под действием обоих типов ионов [152, 158, 287].

Таким образом, окислительная модификация белков играет ключевую роль в молекулярных механизмах окислительного стресса и является пусковым механизмом окислительной деструкции других молекул (липиды, ДНК) клетки и является хорошим маркером состояния организма животных, в том числе гидробионтов.

1.3 Характеристика антиоксидантной системы рыб

Активные кислородные метаболиты в норме образуются в небольших количествах во всех живых организмах. Для их нейтрализации в организме существует так называемая антиоксидантная система (АОС), представленная специально адаптированными ферментами, витаминами, другими низкомолекулярными соединениями. Антиоксидантные механизмы защиты начинают работать на самых ранних стадиях развития организма, в результате чего устанавливается строго определенный баланс между интенсивностью процессов перекисного окисления биомолекул и антиокислительной активностью [233, 295].

Клетки здорового молодого организма защищены от токсического действия свободных радикалов многоуровневой системой антиоксидантов. Такая система включает элементы первичной и вторичной защиты. Антиоксиданты первичной защиты представлены ферментами и низкомолекулярными соединениями, способными ослаблять реакции образования свободных радикалов и таким образом, уменьшая их концентрацию (рисунок 1.1.). Среди них наиболее исследованы супероксиддисмутаза (СОД), глутатион, аскорбиновая кислота, таурин, гипотаурин, мочевая кислота, α -токоферол, β -каротин и др. [14, 18, 35, 90].

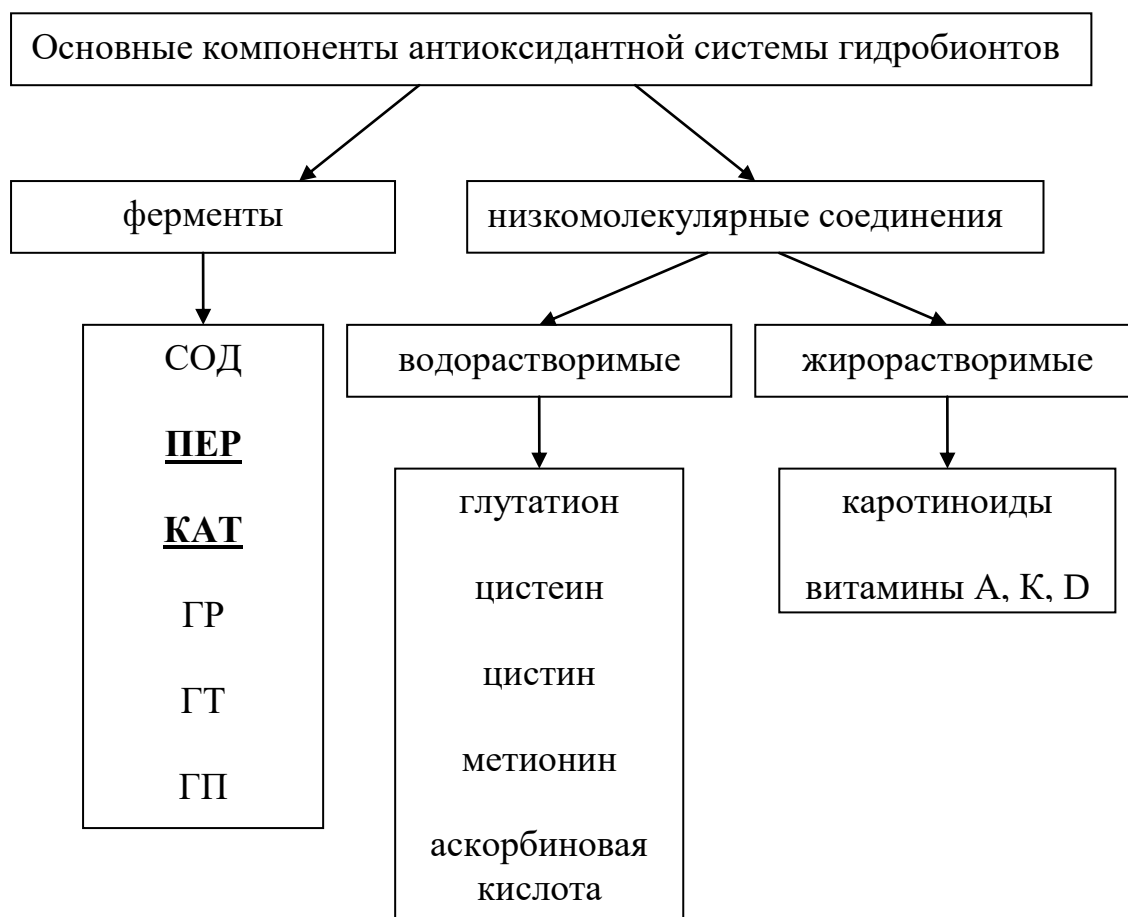


Рисунок 1.1 Основные компоненты антиоксидантной системы гидробионтов

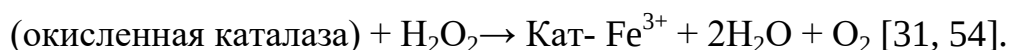
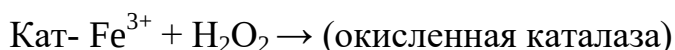
Антиоксиданты второго уровня защиты действуют в направлении улавливания уже образовавшихся радикалов. К ним относятся глутатион-S-трансферазы, обладающие пероксидазной активностью, некоторые оксидоредуктазы, катализирующие реакции восстановления тиоловых и других белковых групп, ферменты ядра, репарирующие ДНК [31, 85, 90, 91, 146].

Согласно литературным данным экстракты различных тканей и органов рыб обладают антиокислительной активностью. Важнейшими антиоксидантами в тканях рыб являются каротиноиды, α -токоферол, глутатион, аскорбиновая кислота, мочевины (у хрящевых рыб) [82].

В тканях рыб присутствуют также все важные антиоксидантные ферменты. В ряду тканей наиболее высока активность каталазы (КФ 1.11.1.6.), разлагающей перекись водорода. Каталаза – гемсодержащий фермент с молекулярной массой около 250 кДа, локализованный преимущественно в пероксисомах клеток.

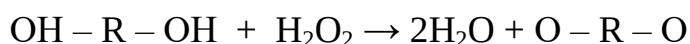
Большая молекулярная масса фермента препятствует его проникновению через клеточную мембрану [32, 118]. По структуре каталаза является тетрамером, содержащим по одной прочно связанной гемовой простетической группе на субъединицу, при этом сами по себе субъединицы не обладают каталитической активностью.

Разложение перекиси водорода каталазой осуществляется в двух реакциях:



Однако следует отметить, что активность каталазы в крови рыб значительно ниже, чем у наземных животных [54, 179, 180]. Максимальная активность КАТ приходится на печень и составляет от 34 до 99% общей каталазной активности в целой рыбе, а минимальная на белые мышцы – 0,01-0,64%. Но, несмотря на разницу в активности фермента между различными органами и тканями, активность КАТ в одноименных тканях разных видов рыб незначительна (в частности глубоководных) [106, 247].

Сходными с каталазой свойствами обладает другой железосодержащий фермент – пероксидаза (КФ 1.11.1.7.), осуществляющий обезвреживание перекиси водорода, а также утилизацию гидроперекисей жирных кислот.



В отличие от каталазы, активность пероксидазы у рыб выше, чем у наземных позвоночных.

Активность антиоксидантных ферментов подвержена множеству факторов как экзогенной природы так и эндогенной [75, 76, 80]. Изучение активности КАТ и ПЕР репродуктивных органов черноморских рыб позволило выявить различия между показателями представителей *разных полов*. Активность ПЕР выше в гонадах самцов, чем у самок, тогда как активность КАТ имеет противоположную тенденцию [76]. Активность КАТ в печени, селезенке и гонадах самок морского ерша выше, чем у самцов. Однако для морского налима подобной тенденции не

отмечено. Значения активности КАТ в тканях самок и самцов не имели достоверных отличий [94]. Аналогичные данные получены и у бразильской камбалы *Paralichthys orbignyanus*, отличий в активности КАТ между самками и самцами не выявлено [144].

Онтогенетические особенности также освещены в литературе - установлено, что антиоксидантная активность тканей молодых рыб выше, чем у особей более старшего возраста, что свойственно и высшим животным [82]. На ранних стадиях эмбриогенеза рыб активируется пероксидазная реакция. По окончании эмбриогенеза и на стадии личинки у бычка-кругляка *Neogobius melanostomus* наблюдали увеличение активности каталазы и пероксидазы [84, 85]. В крови особей бычка-кругляка старшего возраста активность каталазы наоборот снижена по сравнению с более молодыми [16]. Для 1-, 4- и 7-месячных самцов нотобранхиуса Рахова *Nothobranchius rachovii* так же было отмечено снижение активности к 7-мимесячному возрасту [116].

Для рыб умеренной и субтропической зоны характерны значительные **сезонные изменения** метаболизма, обусловленные колебаниями температуры, солености, длиной светового дня, обеспеченности пищей. Для бразильской камбалы не выявлено сезонных отличий в активности КАТ в чистых районах. Однако весной отмечена тенденция возрастания активности КАТ для данного вида, упоминается так же, что аналогичные данные были получены и для других рыб (обыкновенного карася *Carassius carassius*, карпа *Cyprinus carpio*, линя *Tinca tinca*, бразильского земледа *Geophagus brasiliensis*) [144]. В тканях горбыля *Micropogonias furnieri* активность КАТ повышалась в летний период по сравнению с зимним [143].

Наиболее важным фактором, определяющим интенсивность метаболических процессов в тканях пойкилотермных животных, является температура [9, 263]. Например, в эритроцитах сазана и морского лаврака при повышении температуры воды до 16 °С усиливается активность СОД и пероксидазы и снижается активность каталазы. При температуре воды 22 °С

активность первых двух ферментов в эритроцитах рыб была выше, чем при 16 °C [75, 277].

Еще одним немаловажным фактором, влияющим на ферментативную активность тканей, рыб являются **биологические, экологические и филогенетические особенности вида**. Информация, касающаяся антиоксидантной системы хрящевых рыб, немногочисленна. Большинство авторов отмечают более низкую активность АОФ в крови данной группы рыб по сравнению с костистыми [121, 180, 254, 296]. На примере пятнистой акулы *Scyliorhinus canicula* показано, что не только активность ферментов ниже, но и их эффективность нейтрализации гидроксильных радикалов, однако их способность утилизировать ROO^- была сопоставима с таковой для султанки *Mullus barbatus* [121].

Показано, что КАТ присутствует в эритроцитах многих видов рыб, но отсутствует у самых примитивных - таких как ханос *Chanos chanos*. На примере ханоса, полосоглазой рыбы-хирурга *Acanthurus dussumieri*, хирурга оранжевоиглого *Naso lituratus* и рыбы-бабочки *Chaetodon miliaris* показана коррелятивная связь активности КАТ и филогенетического родства данных видов, выдвинута гипотеза о возможной коэволюции каталазы эритроцитов и высших костистых рыб [254, 266].

Меняется активность ферментов и в зависимости от принадлежности вида к той или иной экологической группе. Так активность пероксидазы в печени придонных и придонно-пелагических видов рыб ниже, чем в мышцах, тогда как для подвижных видов отмечена обратная зависимость [82, 83]. При этом активность каталазы не меняется в зависимости от глубины обитания рыб, в то время как активность СОД и глутатионпероксидазы падает. Отмечено, что активность КАТ выше в коже рыб, содержащей фотофоры, по сравнению с видами, не обладающими свечением. По-видимому, это связано с высокой метаболической активностью данной ткани и высокой чувствительностью люциферина к кислороду [247].

В настоящее время все больший интерес вызывает изучение активности ферментов антиоксидантной защиты в условиях *антропогенного воздействия*. Исследования влияния человека на гидросферу и ее обитателей проводятся как в природных условиях, так и в экспериментальных.

Так для африканского сома *Clarias gariepinus*, обитающего в реке Огун, на берегу которой находится 6 крупных производственных заводов, показано снижение активности каталазы в различных органах – на 46% в печени, 41% - в почках – 50% в жабрах и 19% сердце по сравнению с рыбами из чистого водоема [177]. Также снижение активности КАТ отмечено в печени карпа из более загрязненных районов [120].

У султанки, выловленной в загрязненных акваториях западной части Черного моря, повышена активность КАТ в печени в 2-3 раза по сравнению с рыбами из более чистых районов [128]. Пероксидаза в почках змееголова *Ophicephalus punctatus* и обыкновенного длинноперого сома *Clarias batrachus* ингибировалась в районах с сильным антропогенным прессингом [223].

Существенный урон водным акваториям и их обитателям приносят и смывы с полей удобрений, пестицидов и других химических веществ. Уровень активности каталазы в печени плотвы *Rutilus rutilus* под действием диазинона (фосфорорганическое удобрение) не отличался между экспериментом и контролем ($p > 0.05$). Однако установлено что под действием одной и той же концентрации токсина активность КАТ через 24 ч была более высокой, чем после 48 и 96 h ($p < 0.05$). Не найдено связи между активностью КАТ в печени и концентрацией токсина [204].

Гербициды и пестициды хлороагнической природы вызывают повышение активности КАТ в печени; показана положительная корреляция между возрастанием активности КАТ в печени и увеличением содержания токсинов в воде и донных осадках [238]. Гербицид атразин в печени змееголова *Channa punctatus* вызывал увеличение активности фермента с первых по 7-е сутки, а с 7 по 15 сутки отмечалось снижение ферментативной активности [283].

При воздействии нитроароматических смесей на рыб в течение 28 дневного эксперимента отмечено увлечение активности КАТ и ПЕР на третьи стуки, что объясняется их взаимным компенсаторным действием и адаптивным ответом, поддерживающими стабильное состояние организма [272].

Особое место среди ксенобиотиков занимают тяжелые металлы, которые могут инактивировать металлоферменты, нарушая при этом многие метаболические процессы, проницаемость мембран и т.д. [268].

Нильскую тиляпию *Oreochromis niloticus* в течение 96 часов выдерживали при различных концентрациях Ag^+ , Cd^{2+} , Cr^{6+} , Cu^{2+} и Zn^{2+} и затем исследовали активность КАТ в почках, печени, жабрах, мозге и кишечнике. In vivo КАТ стимулировали все металлы кроме Ag^+ в печени и самое высокое увеличение активности (183%) КАТ происходило при 1,0 мг Cd^{2+}/L , тогда как 0,5 мг Ag^+/L приводило к сильному снижению активности (44%). В почках кадмий и цинк не оказывали никакого существенного эффекта на функцию фермента, тогда как концентрация 0,1 мг Cr^{6+}/L снижала активность (44%). Кадмий и цинк также не обладали каким-либо действием на активность КАТ в жабрах; однако 0,5 мг Ag^+/L инициировало увеличение (66%), а 1,5 мг Cr^{6+}/L снижение активности (97%). Все металлы, кроме Cu^{2+} (41% увеличения), приводили к существенному снижению активности КАТ в кишечнике. В мозге, 1,0 мг Zn^{2+}/L приводил к увеличению активности (126%) КАТ, тогда как 1,5 мг Ag^+/L вызвало 54% снижение активности. In vitro, все металлы — кроме Ag^+ и Cu^{2+} в почках — значительно снижали уровень активности КАТ во всех тканях [250].

Сублетальные дозы хлорида кадмия в разных тканях мешкожаберного сома *Heteropneustes fossilis* изучались на 5, 10, 25 и 45 день. В почках, жабрах и мозге происходило ингибирование активности КАТ, в то время как в печени отмечено недостоверное возрастание активности фермента к 20 дню, а к 45 дню — увеличение стало достоверным [244].

Выявлено, что подавление активности КАТ под влиянием алюминия в мозгу ящерицы происходит независимо от возраста, в то время как у контрольных особей активность КАТ увеличивается в группе средневозрастных по сравнению с

молодыми особями и затем снижается [201]. При воздействии $MgCl_2$ активность ПЕР имела другую картину – возрастала с возрастом в печени и мозгу, однако статистически достоверной была только в печени [225].

В литературе также затрагивается вопрос *совместного действия* паразитов и токсикантов на состояние антиоксидантной системы рыб. Так уровень КАТ был выше в печени карпа, зараженного *Ptychobothrium* sp. Медь оказывала менее выраженное ингибирующее действие на зараженных рыб, чем на здоровых [159].

Таким образом, можно заключить, что антиоксидантные ферменты являются биомаркерами, которые реагируют на ксенобиотики различной природы, уровень активности которых зависит в известной степени от вида рыб, ткани и органа, места обитания, питания и ряда других факторов. АОФ могут выступать как самостоятельные биомаркеры, так и в комплексе с другими показателями.

1.4 Аминотрансферазы в тканях рыб

Аминотрансферазы – ферменты из группы трансфераз, переносящие аминогруппы без образования свободного аммиака. Данные ферменты играют центральную роль в обмене белков и связаны с обменом углеводов. Наиболее важными для живых организмов являются аланинаминотрансфераза (АлАт) и аспаратаминотрансфераза (АсАт) [8, 42, 75, 206].

Аланинаминотрансфераза в основном локализована в печени. Аспаратаминотрансфераза менее специфична и содержится во многих тканях, в том числе в сердце, мышцах, почках, головном мозге. Избирательная тканевая специализация позволяет считать их маркерными ферментами – АлАт – для печени, АсАт – для миокарда соответственно. Они относятся к индикаторным ферментам, активность которых повышается при повреждении ткани за счет гибели, разрушения клеток и выхода фермента в циркулирующую кровь. Эти

ферменты обладают значительной чувствительностью к действию как природных, так и антропогенных факторов и принимают участие в ответных реакциях как организма в целом, так и печени как главного органа детоксикации ксенобиотиков на изменение состояния внешней среды [75, 142, 206, 228].

АсАт – глутаматоксалацетаттрансаминаза; L-аспартат-2- оксоглутарат-аминотрансфераза – GOT; КФ 2.6.1.1. АсАт катализирует межмолекулярный перенос аминогруппы между L-аспарагиновой и α -кетоглутаровой кислотами [32].

Установлена его первичная структура, состав активного центра и молекулярная масса [70]. Молекула фермента представляет собой димер, состоящий из двух субъединиц с одинаковым молекулярным весом и содержащими по молекуле пиридоксальфосфата.

В клетке АсАт представлена двумя изоферментами: митохондриальным (м-АсАт), поставляющим аспартат для цикла мочевинообразования, и цитоплазматическим (ц-АсАт), участвующим в процессе глюконеогенеза. Несмотря на различия в локализации и выполняемых функциях, принцип действия данных изоформ одинаков [70, 95].

Для некоторых видов рыб установлены онтогенетические отличия активности фермента [2, 75, 126]. Для леща *Abramis brama* на ранних стадиях развития от оплодотворения до окончания сегментации активность АсАт не выявлена. В то же время у плотвы обнаружена активность АсАт в неоплодотворенных икринках текущих самок и в зародышах на самых ранних стадиях развития, а у синца – на стадии гаструлы [2]. В сыворотке крови морского ерша *Scorpaena porcus* возрастных отличий не выявлено, однако отмечена тенденция увеличения активности АсАт у 3-5-ти летних особей [75]. Достоверных половых отличий активности фермента в сыворотке крови тунца обыкновенного *Thunnus thynnus* не установлено [237], в то время как у самцов морского ерша активность АсАт выше [75].

АлАт – глутаматпируваттрансаминаза; L-аланин-2-оксоглутарат-аминотрансфераза – GPT, КФ 2.6.1.2. АсАт катализирует обратимый перенос

аминогруппы между L-аланином и α -кетоглутаровой кислотой. В качестве кофермента в этом процессе выступает пиридоксаль-5-фосфат [32].

АлАт по сравнению с АсАт менее изучена. Фермент обнаружен в клетке в форме двух изоферментов – цитозольного и митохондриального, но последний является нестабильным и его содержание низкое [95]. ц-АлАт представлена в клетках печени обыкновенного длинноперого сома и роху (индийский карп) *Labeo rohita*, относящихся к различным экологическим группам, двумя субъединицами с молекулярным весом 54 и 56 KDa [75].

В сыворотки крови морского ерша активность АлАт повышается у трехлетних особей. Однако, в отличие от АсАт, половых отличий не выявлено [75].

Немаловажными являются и филогенетические особенности активности аминотрансфераз. Информации, касающейся активности ферментов у хрящевых рыб, немного. Исследования были проведены для американского хвосткола *Dasyatis americana* [147], акулы-лопаты *Sphyrna tiburo* [194], черной акулы *Centroscyllium fabricii*, катрана *Squalus acanthis* [285]. Активность ферментов в тканях примитивной костистой рыбы, дышащей воздухом – панцерника флоридского *Lepisosteus platyrhincus* была ниже, чем в крови озерного осетра *Acipenser fulvescens*, «живого ископаемого» - ильной рыбы *Amia calva*, хрящевого - маленького ската *Leucoraja erinacea*, однако близка к таковой в тканях миноги *Petromyzon marinus* [185].

Одним из приоритетных направлений исследований, связанных с аминотрансферазами, является изучение влияния различных токсикантов на активность ферментов в тканях рыб. Так большое количество работ посвящено влиянию тяжелых металлов на активность данных ферментов в различных органах и тканях рыб.

При проведении 15-суточного эксперимента с Cd на серебряном карасе *Carassius auratus gibelio* выявлено, что увеличение активности АлАт в плазме происходило на 4, 7 и 15 сутки, АсАт на - 7 и 15 сутки [109]. Повышение активности аминотрансфераз в печени и почках карпа установлено при

воздействии кадмия [162]. В сыворотке сома *Clarias albopunctatus* отмечено повышение активности АсАт под действием цинка и ртути [228].

КМnO₄ оказывал стимулирующее воздействие на активность обоих сывороточных аминотрансфераз африканского сома. Было отмечено, что активность АсАт возрастала как с увеличением времени воздействия (до 192 часов), так и с увеличением дозы токсиканта (до 10 мг/л). При 2 мг/л КМnO₄ отмечено начальное ингибирование активности АлАт на 4,47%, и затем последующее возрастание активности на 23,43% [206].

Экспозиция карпа в растворах сырой нефти и дизтоплива приводила к снижению активности аминотрансфераз в печени, мышцах и жабрах пропорционально возрастанию концентрации токсиканта. При концентрации 0,25 мг/дм³ сырой нефти в воде активность АлАт в жабрах карпа возрастала на 32%. Вероятно, это обусловлено тем, что в жаберном аппарате рыб при непосредственном контакте с компонентами нефти для нормального обеспечения его функционирования происходят быстрые адаптивные перестройки [59, 75]. Водорастворимая фракция дизельного масла и бензина вызывала возрастание активности АлАт в печени у европейского угря *Anguilla anguilla* в начале эксперимента, а на 6-й день – снижение [235].

ПХБ и ХОП стимулировали рост активности АсАт в плазме крови карпа, значительных же изменений активности АлАт не отмечено [127]. Установлено, что при низких концентрациях нонилфенола и циперметрина происходила индукция активности аминотрансфераз в печени рыб, а при высоких, наоборот, подавление [137, 150].

Динамика активности трансаминаз при действии малых концентраций купроксата соответствует классической картине адаптационного синдрома. На начальном этапе, характеризующемся повреждением молекулярных структур, отмечено подавление активности ферментов, что свидетельствует о сдвиге белкового обмена в сторону увеличения содержания свободных аминокислот, затем наступает стадия компенсации нарушений и активность АлАт и АсАт

несколько возрастает, и затем при истощении компенсаторных возможностей опять преобладает дальнейшее проявление токсикоза [75].

Показана тканевая специфика реагирования аминотрансфераз на токсиканты. Так, например, при воздействии монокротофоса и этилового эфира 2-бутиеновой кислоты происходило увеличение активности аминотрансфераз в плазме и почках и уменьшение – в печени и жабрах [290-292].

Интересным является влияние токсинов растений на состояние рыб. Среди токсинов растений выделяют сапонины, цианиды, алкалоиды и пр. Эти вещества в организме рыб приводят к общей заторможенности, обездвиживанию, и в ряде случаев, к смерти. Была показана значительная изменчивость активности аминотрансфераз в мышцах, жабрах и печени гибрида сома под действием разных концентраций токсина из листьев *Lepidagathis alopecuroides* [187]. Токсическое влияние некоторых растений на гидробионтов, в том числе и рыб было показано и другими авторами [129, 176, 208, 216, 229, 282].

Наряду с изучением активности трансаминаз, используют метод многовариантного приближения. Бивариабельным приближением является отношение, предложенное де Ритисом (АсАт/АлАт). Данный показатель позволяет оценить функциональную нагрузку на печень и сердце. Резкие изменения коэффициента относительно дискриминационной величины служат индикаторами патологических процессов, происходящих в данных органах, которые вызывают смещение синтеза, высвобождение и метаболические превращения аминотрансфераз. Понижение этой величины свидетельствует о поражении гепатоцитов, повышение – об инфаркте миокарда [95]. Этот показатель широко применяется в медицинской диагностике и может быть использован и в экотоксикологии [75].

Таким образом, аминотрансферазы весьма чувствительны к негативным воздействиям на организм. Они по-разному реагируют в органах и тканях, в зависимости от концентрации, времени воздействия и действующего фактора, и поэтому могут использоваться в качестве биохимических индикаторов при оценке функционального состояния организма.

РАЗДЕЛ 2

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

2.1 Экологическая характеристика районов исследований

Система Севастопольских бухт состоит из нескольких акваторий со сложной береговой орографией: полузамкнутых с ограниченным водообменом, глубоко врезаемых в сушу или же небольших, сообщающихся с глубоководной частью моря (рисунок 2.1).

Бухта Казачья считается наиболее чистой в системе севастопольских бухт по содержанию ртути и полихлорированных бифенилов в донных осадках. Разнообразие и численность донной фауны б. Казачья достаточно высокие, несмотря на то что, в ней функционируют 2 аварийных выпуска неочищенных сточных вод [22].

В акваторию **Стрелецкой бухты** поступают неочищенные сточные воды из двух коллекторов, а в кутовой части функционируют два выпуска ливневой канализации [22]. Стрелецкая бухта имеет разнообразный видовой состав, однако доминирующими являются организмы, хорошо переносящие химическое загрязнение [41].

Бухта Карантинная - самая маленькая по площади и одна из наиболее загрязненных Севастопольских бухт. В кутовой части расположен аварийный выпуск неочищенных бытовых стоков, выпуск ливневой канализации, а также база военных катеров и яхт, отрицательно влияющих на экологическое состояние бухты. Учитывая преобладающие в акватории юго-западные прибрежные течения, воды Карантинной бухты могут загрязнять бухты Стрелецкую, Круглую, Камышовую и даже наиболее удаленную Казачью [22, 88].

Бухта Мартынова представляет собой полузамкнутую акваторию с ограниченным водообменом. Прямых источников загрязнения нет, однако сюда попадают стоки городских коллекторов, расположенных в соседних Карантинной и Александровской бухтах. В Мартыновой бухте так же наблюдаются застойные

явления и эфтрофирование вод, особенно выраженные в летний период времени [75].

Бухта Александровская, как и Мартынова, входит в состав большой Севастопольской бухты и имеет с ней активный водообмен, но ограниченный с открытым морем. В кутовой части расположен сток ливневых вод. Качественный и количественный видовой состав бухт Мартынова, и Александровская (как частей Севастопольской бухты) характеризуется высоким разнообразием, имеющим сходство с относительно чистыми районами открытого побережья Черного моря [93].

В настоящее время Севастопольская бухта является акваторией активного хозяйственного использования. Это торговый и морской порт с соответствующей инфраструктурой и причальными стенками, общая длина которых составляет 11км, сухогрузными и нефтяными терминалами. Здесь также базируется военно-морской и пассажирский флот, располагается ряд промышленных предприятий судоремонтной и судостроительной отраслей [21].

Значительное влияние на экологическое состояние севастопольских бухт и прибрежных вод оказывают сбросы вод, загрязненных коммунальными и промышленными предприятиями, береговыми частями, судами Российской Федерации. В большую Севастопольскую бухту попадают сточные воды из более чем 30 выпусков – временных или постоянно действующих [21].

В прибрежные воды города ежегодно сбрасывается около 60 млн. куб. м. сточных вод, в том числе прошедших только механическую очистку 44 млн. куб. м (73%), без очистки – более 14%, биологически очищенных – около 8 млн. куб. м, то есть 13% от общего количества [45].

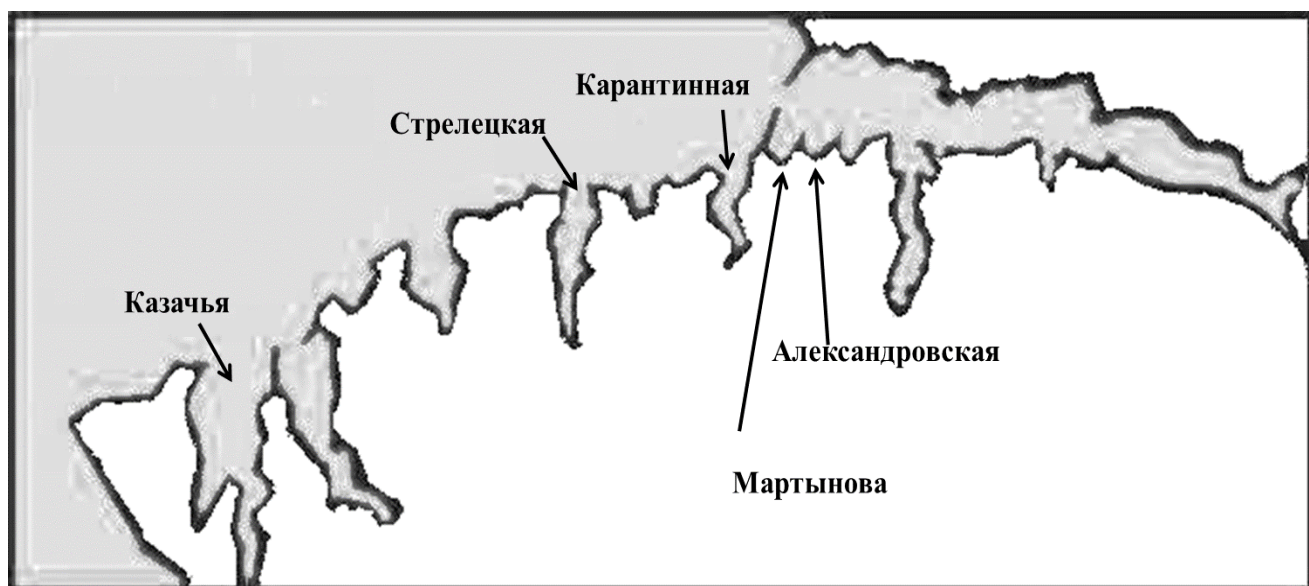


Рисунок 2.1 Схема расположения бухт г. Севастополя

Данные о загрязнителях грунтах и воде исследуемых акваторий представлены в таблицах 2.1. и 2.2.

Таблица 2.1 Гидрохимические и токсикологические показатели воды севастопольских бухт (по данным Инспекции по охране Черного и Азовского морей)

Показатели, мг/л	Мартынова	Карантинная	Стрелецкая
Углев. нефти	0,03-0,01	0,07-0,05	0,15-0,08
СПАВ	0,002	0,003	0,009
БПК ₅	2,1	2,5	2,9
Взвеш. в-во	1,9	2,4	3,4
Fe	0,02	0,03	0,07
NH ₄ ⁺	0,03	0,02	0,02
NO ₃ ⁻	0,003	0,003	0,004

Таблица 2.2 Химические и микробиологические показатели грунтов районов исследования [68]

<i>Показатели</i>	<i>Мартынова</i>	<i>Карантинная</i>	<i>Стрелецкая</i>
Углев. нефти	104	65	705
Суммарные углеводороды	250	119	973
Хлороформный битумоид	264	165	1282
Углеводоподобные соединения	460,3	378,3	1502,3
Белковоподобные соединения	237	73,6	905,7
Липидоподобные соединения	190,8	115,1	509,5
Природные углеводороды	146	54	268
Нефтеразрушающие бактерии	408	122	1374

Качество морских вод севастопольских бухт характеризуется высоким уровнем их загрязнения нефтепродуктами, углеводородами, тяжелыми металлами, фенолами, синтетическими поверхностно-активными веществами (СПАВ), хлорорганическими пестицидами (ХОП), полихлорбифинилами (ПХБ), соединениями азота и фосфора, а также наличием растворенного кислорода.

Основным источником загрязнения прибрежных вод является Государственное коммунальное предприятие «Севгороводоканал», чей объем сбросов хозяйственных стоков (ХБСВ) достигает 54 млн. куб. м. в год. Канализационные сети находятся в критическом состоянии, что приводит к систематическим их прорывам и остановкам канализационных насосных станций, в результате чего неочищенные ХБСВ, содержащие значительное количество биогенов, сбрасываются непосредственно во внутренние воды бухт города [25, 45].

Содержание As и таких токсичных металлов как Cr, Cu, Zn, Co, Ni, Pb значительно выше в бухтах Казачья и Севастопольская по сравнению с фоновыми

значениями этих элементов, характерных для шельфовых зон Черного моря, не подверженных прямому антропогенному прессингу [20, 44]. Следует отметить, что концентрация меди в донных осадках возросла в 10-350 раз в 2008 г по сравнению с 2001 г. [44].

Данные о содержании основных тяжелых металлов в акваториях исследуемых бухт представлены в таблице 2.3.

Таблица 2.3 Концентрация тяжелых металлов в водах Мартыновой, Карантинной и Стрелецкой бухт [67]

<i>Бухта</i>	<i>Cu</i>	<i>Pb</i>	<i>Cd</i>	<i>Zn</i>	<i>As</i>	<i>Hg</i>
<i>Мартынова</i>	0,007	0,02	-	0,03	0,015	0,003
<i>Карантинная</i>	0,006	0,02	-	0,17	0,018	0,0038
<i>Стрелецкая</i>	0,028	0,04	—	0,72	0,07	0,027
<i>ПДК</i>	0,005	0,01	0,01	0,05	0,01	0,0001

Другим важным загрязнителем акваторий г. Севастополя являются нефтеуглеводороды (НУВ) [44, 68]. Показано, что в придонном слое содержание НУВ было ниже пределов обнаружения. В поверхностных водах уровень НУВ был минимальным на входе в бухту и максимальным в центральной ее части, что связано, по-видимому, с базированием флота. Установлено снижение нефтяного загрязнения в акваториях в 2008 по сравнению с 2002-2003 г. [44].

Известно, что азот является одним из факторов, определяющих эвтрофирование водоема. За счет вовлечения разных форм азота в природный круговорот веществ происходит нарушение сбалансированности экосистемы. С ливневыми и хозяйственно-бытовыми стоками в прибрежную зону города Севастополя поступает множество азотистых соединений (таблица 2.4) [22].

Таблица 2.4 Концентрация форм азота, поступающих из отдельных источников загрязнения в Севастопольские прибрежные воды [22]

<i>Источник загрязнения</i>	<i>NH₄, мкг/л</i>	<i>NO₂, мкг/л</i>	<i>NO₃, мкг/л</i>	<i>Нобщ</i>
Речной сток	620-3380	43-440	2800-4620	3230-4730
Ливневый сток в б. Карантинная	54-16800	80-1400	310-1896	4196-14115
ХБСВ (б Карантинная)	2880	2	1	-
ХБСВ (б. Мартынова)	20620	10	6	-

Динамика поступления азота в прибрежные акватории имеет четкую сезонную зависимость. Повышение содержания минеральных азотистых соединений отмечено в бухте Казачья в холодное время года. Наиболее значительными были колебания значений аммонийного азота в прилегающей к Казачьей бухте акватории - 0 - 123 мкг/л. Отмечены два пика повышения значений NH₄ в поверхностном слое в летний период, что, по-видимому, связано с антропогенным прессингом. В бухте Карантинной четкой сезонной зависимости концентраций нитритного и органического азота не установлено, что подтверждает доминирование антропогенного фактора [22].

Таким образом, из-за обилия загрязняющих веществ, изменения их концентрации в течение года невозможно определить, какая из акваторий испытывает больший антропогенный прессинг, однако считается, что бухта Стрелецкая наиболее загрязнена по сравнению с бухтами Мартынова и Карантинной. С другой стороны, грунты бухты Мартынова загрязнены в большей степени, чем Карантинной, тогда как поверхностные слои воды, наоборот, являются более загрязненными в последней, что обусловлено различным расположением данных бухт и наличием в Карантинной бухте выпусков хозяйственно-бытовых сточных вод [49, 91]. Бухта Александровская близка по уровню загрязнения к б. Мартынова, а бухта Казачья предположительно является наиболее благополучным районом.

2.2 Материал исследований

Рыб отлавливали в прибрежных районах Черного моря (г. Севастополь) с помощью донных ловушек в период 2005, 2007-2011 годы в разные сезоны. Полный биологический анализ рыб, включавший измерение общей и стандартной длины, определение массы рыбы и тушки, печени, гонад, пола, стадии зрелости, возраста проводили по общепринятым методикам [71].

Исследования проводили на 4 видах черноморских рыб (таблица 2.5).

Таблица 2.5 Систематическое положение исследованных рыб

Класс	Семейство	Вид	
		латинское название	русское название
Костистые рыбы	<i>Carangida</i>	<i>Trachurus mediterraneus ponticus</i> Aleev	Средиземноморская ставрида
	<i>Centracanthidae</i>	<i>Spicara flexuosa</i> Rafinesque	Спикара, морской окунь
	<i>Mullidae</i>	<i>Mullus barbatus ponticus</i> Essipov	Султанка, барабуля
	<i>Scorpaenidae</i>	<i>Scorpaena porcus</i> Linne	Морской ерш, скорпена

Исследованные виды являются типично морскими и теплолюбивыми, все, кроме ставриды, не совершают длительных миграций и принадлежат к разным экологическим группам, некоторые биологические особенности которых указаны в таблице 2.6.

Таблица 2.6 Некоторые особенности биологии исследуемых черноморских рыб [13, 15, 89]

<i>Вид</i>	<i>Экологическая группа</i>	<i>Нерест</i>	<i>Питание</i>
<i>Морской ерш</i>	донный	май-июнь	Рыбы, ракообразные
<i>Султанка</i>	придонный	май-сентябрь	полихеты
<i>Спи́кара</i>	придон.-пелаг.	май-июль	Рыбы, полихеты, водоросли, моллюски, ракообразные
<i>Ставрида</i>	пелагический	май-август	Рыбы, ракообразные

Для анализа возрастного состава исследованных видов рыб они были объединены в группы: 0+ - 1, 1+ - 2, 2+ - 3 и т.д. (рисунок 2.2). Возраст морского ерша варьировал от 1 до 15 лет. Это наиболее долгоживущий из исследованных видов, однако, доминирующими являются рыбы 4 и 5 лет. Возраст султанки варьировал от 0+(1) до 5+(6) лет. Основную массу составляли особи 2+ - 3-летней группы. Возраст изученной спикары - от 0+ до 5+(6) лет. Доминировали особи 2-4 лет, рыбы старшего возраста встречались единично. Возраст ставриды составлял 0+ до 4+ лет. Более половины исследованных рыб имели возраст 2 года, несколько меньше – 3 года.

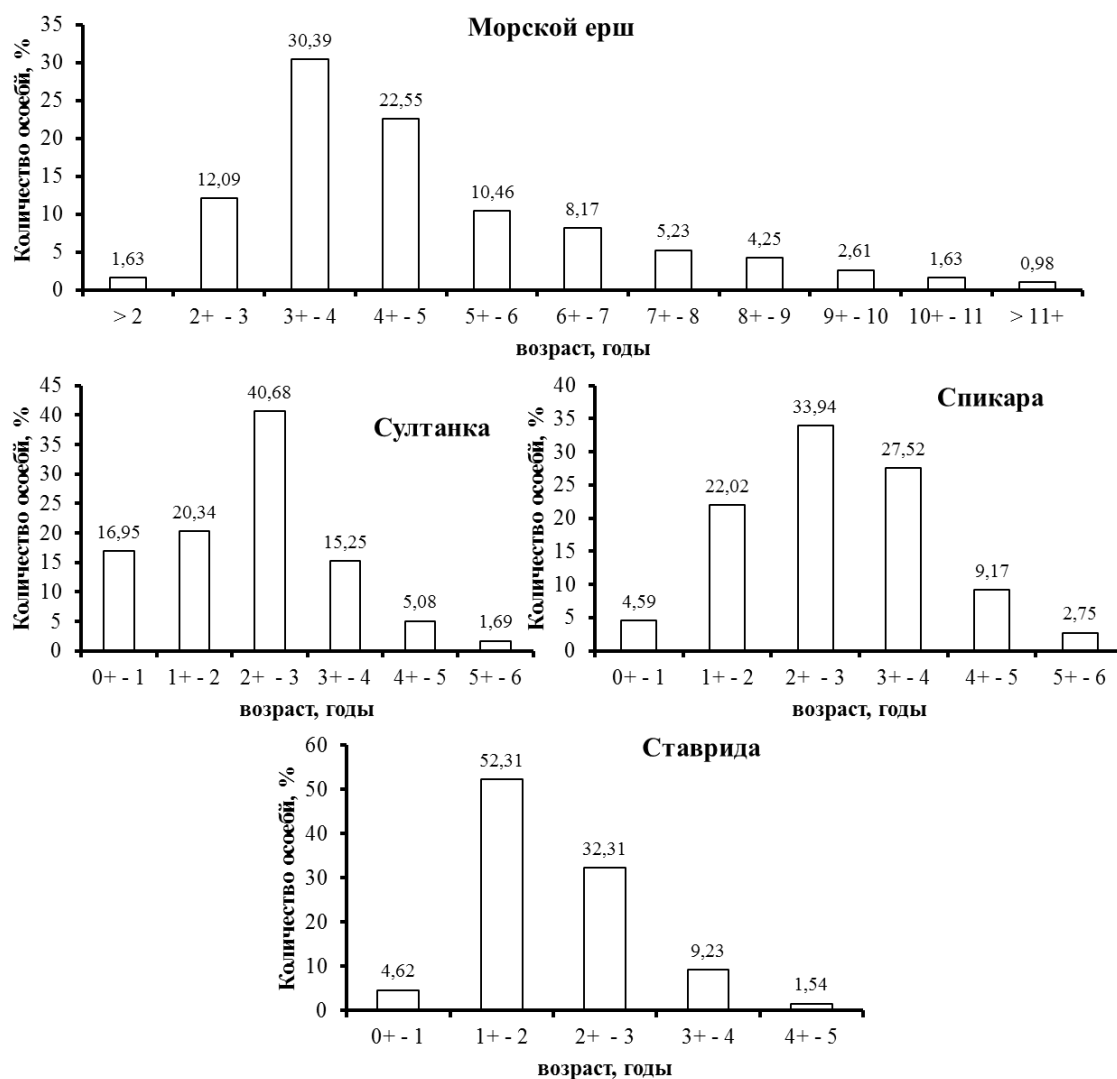


Рисунок 2.2 Возрастной состав исследованных видов черноморских рыб

Для большинства прибрежных видов рыб Черного моря характерно преобладание количества самок над самцами (в нашем случае - ерш и султанка). Для ставриды установлено примерно равное количество особей обоих полов, а доминирование самцов показано у спикары. Рассматриваемые виды встречаются в акваториях г. Севастополя практически круглый год, что дало возможность изучить физиологическое состояние рыб в зависимости от стадии зрелости гонад.

Материалом исследования служили эритроциты, сыворотка крови и печень рыб. Сыворотку получали методом отстаивания на холоду. Эритроциты отмывали путем смешивания с 10-кратным объемом холодного физиологического раствора (0,85% NaCl) и последующего отделения эритроцитарной массы. Для получения гемолизата в основную массу эритроцитов добавляли дистиллированную воду в соотношении 1:4 (по объему), выдерживали сутки при температуре 4°C. Полученные гемолизаты использовали для дальнейших исследований. Печень перфузировали холодным 0,85% NaCl и затем гомогенизировали с последующим центрифугированием при 3000g. Супернатант хранили на холоду до проведения исследований.

2.3 Методы исследований

2.3.1 Ихтиологические методы (морфофизиологический анализ)

Определение возраста, пола и стадии зрелости гонад рыб

Возраст рыб определяли по двум регистрирующим структурам в зависимости от вида - по годовым кольцам на чешуе (султанка, спикара) и на отолидах (морской ерш, ставрида). Пол и стадию зрелости устанавливали с помощью микроскопических методов [71].

2.3.2 Биохимические методы

Исследования биохимических параметров проводили на образцах, полученных от индивидуальных особей.

Определение активности антиоксидантных ферментов

Активность каталазы определяли по разложению перекиси водорода [4]. Реакционная смесь содержала 3,5 мл дистиллированной воды; 0,5 мл пробы; 1 мл 1 %-ной перекиси водорода. Через 30 минут реакцию останавливали 2,5 мл 10 %-ного раствора концентрированной серной кислоты. Титрование проводили 1 н раствором перманганата калия (KMnO_4). Активность фермента рассчитывали по формуле:

$$A = \frac{1,7 \times (V_{\text{конт}} - V_{\text{оп}})}{V \times t \times c}$$

где $V_{\text{конт}}$ и $V_{\text{оп}}$ – объемы KMnO_4 , использованные на титрование контрольной и опытной проб соответственно, мл; 1,7 – каталазное число; V – объем пробы, мл; c – концентрация общего белка, мг/мл.; t – время, мин.; A – активность фермента, мг H_2O_2 /мг белка в мин.

Активность пероксидазы определяли бензидиновым методом [55]. Состав реакционной смеси: 0,6 мл ацетатного буфера pH 5,4; 0,4 мл бензидинового реактива; 0,1 мл пробы; 0,2 мл 0,03%-ной перекиси водорода. Измерения проводили при длине волны 600 нм в течение 1 минуты. Активность фермента вычисляли по формуле:

$$A = \frac{E_{\text{к}} - E_{\text{н}}}{V \times c}$$

где $E_{\text{н}}$ – начальное значение экстинкции; $E_{\text{к}}$ – конечное значение экстинкции; V – объем пробы, мл; c – концентрация общего белка, мг/мл; A – активность фермента, оптические единицы (опт.ед.)/мг белка в мин.

Определение активности аминотрансфераз

Активность аминотрансфераз определяли по методу Райтмана-Френкеля с использованием стандартных наборов «Філісіт» (Украина) - «АсАТ» и «АлАТ» [38]. К 0,04 мл гомогената добавляли 0,2 мл субстратно-буферного раствора и

оставляли на 1 час при комнатной температуре, после этого приливали 0,2 мл 2,4-динитрофенилгидразина и инкубировали еще 20 минут. Затем добавляли 2 мл гидроокси натрия 0,4 Н. Через 10 минут измеряли оптическую плотность исследуемой пробы против холостой (индивидуальной для каждого образца) при длине волны 500-530 нм.

Коэффициент де Ритиса рассчитывали как отношение активности АсАт к активности АлАт.

Определение уровня эндогенной интоксикации

Уровень эндогенной интоксикации в тканях определяли по содержанию средних молекул (молекул средней массы, олигопептидов). К 0,5 мл пробы добавляли 0,25мл 10% раствора трихлоруксусной кислоты и центрифугировали 30 минут при 3000 об/мин. 0,3 мл надосадочной жидкости вносили в 3,7 мл 3% NaOH, добавляли 0,2 мл реактива Бенедикта и инкубировали 15 минут, измеряли оптическую плотность при длине волны 330 нм [72].

Определение уровня окислительной модификации белков

Уровень окислительной модификации белков анализировали на основе реакции взаимодействия окисленных аминокислотных остатков белков с 2,4-динитрофенилгидразином с образованием 2,4-динитрофенилгидразонов [64]. Оптическую плотность образовавшихся 2,4-динитрофенилгидразонов регистрировали при следующих длинах волн: 346 нм и 370 нм (альдегидные и кетонные продукты окислительной модификации нейтрального характера), а также при 430 нм и 530 нм (альдегидные и кетонные продукты окислительной модификации основного характера). Содержание продуктов окисления белков выражали в оптических единицах (опт.ед.) на 1 мл сыворотки.

Активность ферментов и уровень ЭИ вычисляли в пересчете на концентрацию общего белка. Содержание общего белка определяли согласно методу Лоури, описанному [243] с использованием набора «Філісіт» «Загальний білок» (Украина).

2.3.3 Статистическая обработка

Статистическую обработку данных проводили по Г.Ф. Лакину [53]. Вычисляли среднее арифметическое (M), стандартное отклонение (σ), ошибку среднего арифметического (m). Сравнительный анализ данных осуществляли с использованием t-критерия Стьюдента. Различия между сравниваемыми рядами считали достоверными и статистически значимыми при $p \leq 0,05$. С целью выявления зависимости между исследуемыми параметрами рассчитывали коэффициент корреляции (r) с помощью стандартной программы “EXCEL”. При этом считали, что при коэффициентах корреляций $0 < r < 0,3$ имеет место слабая связь, $0,3 < r < 0,5$ – умеренная, $0,5 < r < 0,7$ – значительная, $0,7 < r < 0,9$ – сильная.

Все исследования проводили на оборудовании, прошедшем метрологическую проверку.

Общее количество особей и количество проведенных исследований указаны в таблице 2.7.

Таблица 2.7 Проведенные исследования в тканях черноморских рыб

Вид	Кол-во, n	Печень				Кровь			
		ЭИ	АТ	АОФ	ОМБ	ЭИ	АТ	АОФ	ОМБ
Морской ерш	333	67	51	70		249	49	72	27
Султанка	76		46	42		22	5	12	4
Спи́кара	123	17	46	43		70	8	12	19
Ставрида	98	12	56	24		47	2	24	24

Примечание: ЭИ – эндогенная интоксикация, АТ – аминотрансферазы, АОФ – антиоксидантные ферменты, ОМБ – окислительная модификация белков

РАЗДЕЛ 3

ОСОБЕННОСТИ СОДЕРЖАНИЯ СРЕДНЕМОЛЕКУЛЯРНЫХ ОЛИГОПЕПТИДОВ И УРОВЕНЬ ОКИСЛИТЕЛЬНОЙ МОДИФИКАЦИИ БЕЛКОВ В ТКАНЯХ ЧЕРНОМОРСКИХ РЫБ

3.1 Видовые особенности содержания среднемолекулярных олигопептидов и уровень окислительной модификации белков в тканях черноморских рыб

Содержание среднемолекулярных олигопептидов в крови рыб представлено на рисунке 3.1.

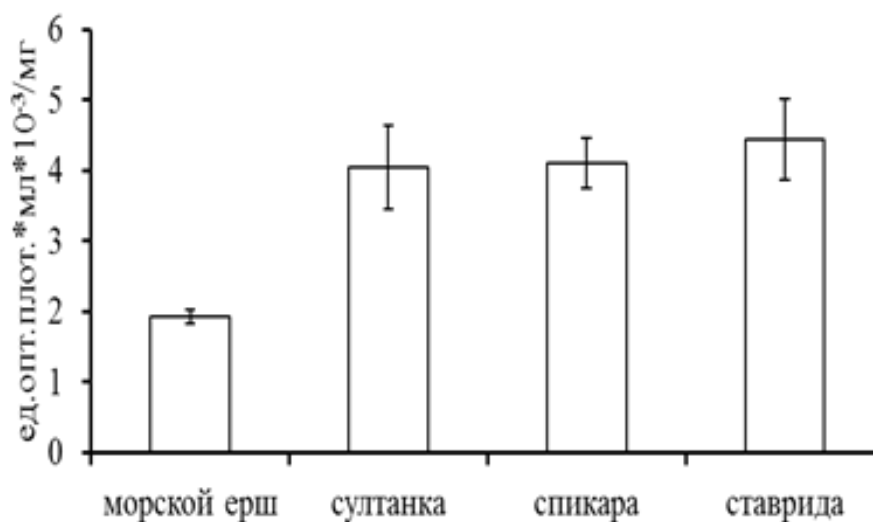


Рисунок 3.1 Содержание среднемолекулярных олигопептидов в крови черноморских рыб, ($M \pm m$)

Минимальное содержание олигопептидов установлено для морского ерша, максимальное – для ставриды. Уровень ЭИ в крови морского ерша достоверно ниже ($p < 0,05$), чем у других исследуемых рыб. Существенных отличий между показателями султанки, спикары и ставриды не обнаружено.

Уровень ЭИ в печени черноморских рыб представлен на рисунке 3.2.

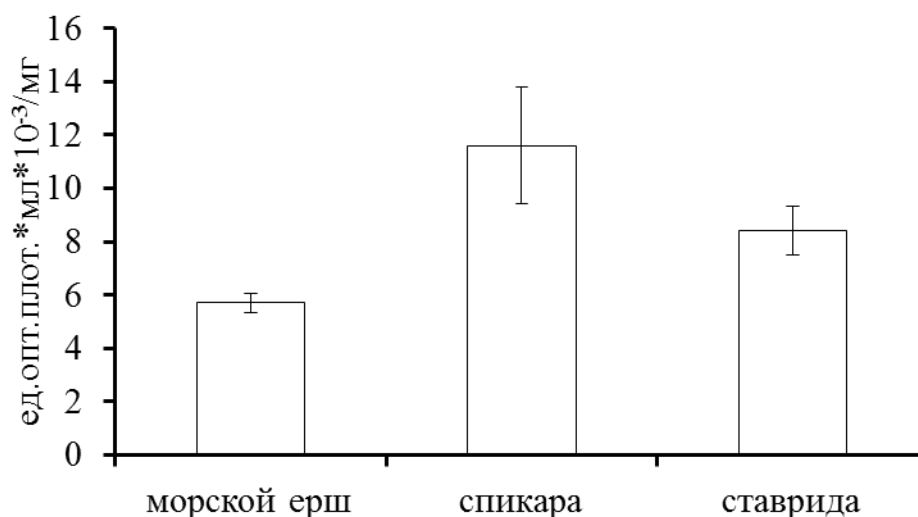


Рисунок 3.2 Содержание средномолекулярных олигопептидов в печени черноморских видов рыб, ($M \pm m$)

Как и в крови, минимальное содержание олигопептидов показано для печени морского ерша, и оно достоверно ниже, нежели у спикары и ставриды ($p < 0,05$). Достоверных отличий в уровне ЭИ в печени спикары и ставриды не обнаружено.

В сыворотке крови исследуемых видов рыб были выявлены продукты окисления белков, которые прореагировали с 2,4 –динитрофенилгидразином. Основное количество образовавшихся динитрофенилгидразонов относится к альдегидо- и кетонпроизводным нейтрального характера. Уровень альдегидо-, а особенно кетонпроизводных основного характера значительно ниже. У отдельных особей кетондинитрофенилпроизводные основного характера не определяются, уровень которых является, по-видимому, индивидуальным показателем, так как существенно варьирует у представителей одного вида и часто не зависит от уровня других производных.

В таблице 3.1 представлены данные об уровне ОМБ в сыворотке крови рыб.

Таблица 3.1 Содержание 2,4-динитрофенилгидразонов в сыворотке крови рыб, (М ± m, ед. опт. плот.)

Объект исследования	Длина волны, нм			
	346	370	430	530
Морской ерш (n=27)	1,87 ± 0,096	3,01 ± 0,19	1,25 ± 0,07	0,21 ± 0,015
	0,62 : 1 : 0,42 : 0,07			
Султанка (n=4)	0,77 ± 0,10*	1,67 ± 0,49*	1,72 ± 0,46	0,49 ± 0,42
	0,46 : 1 : 1,03 : 0,29			
Спикара (n=19)	5,7 ± 0,37*, °	7,21 ± 0,50*, °	4,04 ± 0,25*, °	0,58 ± 0,04*
	0,79 : 1 : 0,56 : 0,08			
Ставрида (n=24)	5,21±0,18*, °	7,39 ± 0,12*, °	3,85 ± 0,13*, °	0,56±0,12*
	0,71 : 1 : 0,52 : 0,08			

Примечание: * - достоверно по сравнению с морским ершом, ° - достоверно по сравнению с султанкой (p < 0,05)

Максимальное содержание окисленных белков установлено в крови спикары и ставриды, минимальные - для султанки. Значения ОМБ в крови морского ерша низки, однако выше чем у султанки (достоверно для 346 и 370 нм). Для основных длин волн уровень ОМБ в крови спикары и ставриды выше, чем у ерша и султанки. Отличий показателей между спикарой и ставридой не обнаружено.

На основании полученных данных было рассчитано общее содержание продуктов ОМБ у разных видов, представляющее собой сумму всех образующихся производных (рисунок 3.3).

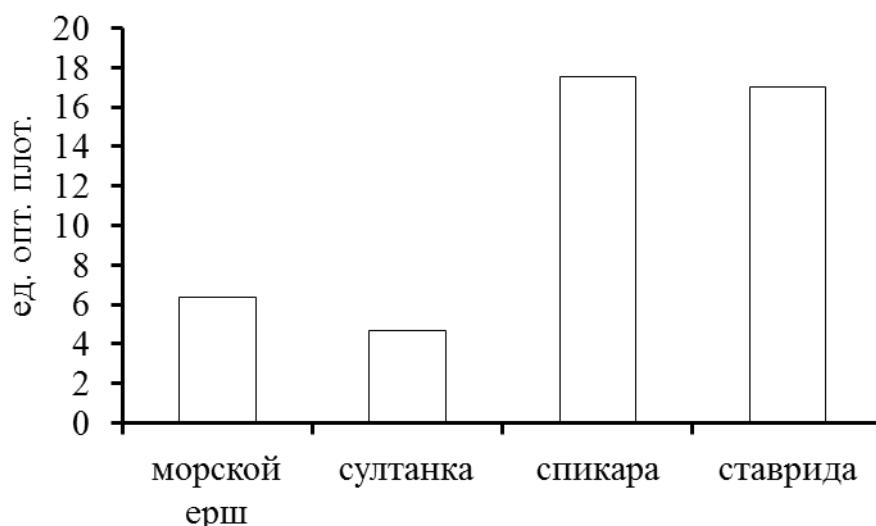


Рисунок 3.3 Суммарное содержание продуктов окислительной модификации белков в крови черноморских рыб, ($M \pm m$)

Как видно из представленных данных, суммарное содержание продуктов ОМБ отличается у исследованных видов.

Таким образом, содержание СМО и уровень ОМБ в тканях черноморских рыб минимальны у представителя донной группы – морского ерша. Виды, принадлежащие к другим экологическим группам, имеют близкие значения уровня ЭИ и ОМБ, за исключением султанки, уровень ОМБ которой близок к показателям морского ерша.

3.2 Половые особенности содержания средномолекулярных олигопептидов в тканях черноморских рыб

Влияние пола на уровень СМО в крови черноморских рыб неоднозначно (таблица 3.2). В крови самок и самцов морского ерша содержание СМО практически одинаковое. У султанки, отмечен более высокий уровень ЭИ в крови самцов ($p < 0,05$). Значения уровня ЭИ у самок спикары ($p < 0,05$) и ставриды выше, чем у самцов.

Таблица 3.2 Уровень эндогенной интоксикации в крови черноморских рыб в зависимости от пола, ($M \pm m$, ед. опт. плот.*мл*10⁻³/мг)

<i>Вид</i>	<i>Самки</i>	<i>Самцы</i>
Морской ерш	1,99 ± 0,15 (n=153)	1,86 ± 0,19 (n=88)
Султанка	3,56 ± 0,61* (n=16)	6,61 ± 0,86 (n=3)
Спи́кара	5,30 ± 0,80* (n=20)	3,48 ± 0,38 (n=47)
Ставрида	5,35 ± 0,87 (n=12)	3,72 ± 0,78 (n=15)

Примечание: * - достоверно по сравнению с самцами (p < 0,05)

Половые особенности содержания среднемолекулярных пептидов в печени черноморских рыб представлены в таблице 3.3.

Таблица 3.3 Уровень эндогенной интоксикации в печени черноморских рыб в зависимости от пола, ($M \pm m$, ед. опт. плот.*мл*10⁻³/мг)

<i>Вид</i>	<i>Самки</i>	<i>Самцы</i>
Морской ерш	5,91 ± 0,47 (n=46)	5,30 ± 0,54 (n=20)
Спи́кара	12,00 ± 3,38 (n=2)	11,50 ± 2,52 (n=15)
Ставрида	9,10 ± 0,90 (n=8)	6,97 ± 2,00 (n=4)

Уровень ЭИ в печени морского ерша, как и в крови, не имеет достоверных половых отличий. В то время как у спикары и ставриды в печени уровень ЭИ в печени самок выше, чем у самцов, но различия недостоверны.

3.3 Возрастные особенности содержания среднемолекулярных олигопептидов в тканях черноморских рыб

Содержание СМО в крови скорпены достоверно повышается у рыб 3-6 лет и снижается у более старших возрастных групп (рисунок 3.4). Выявлена корреляция между возрастом и уровнем ЭИ ($r = - 0,43$).

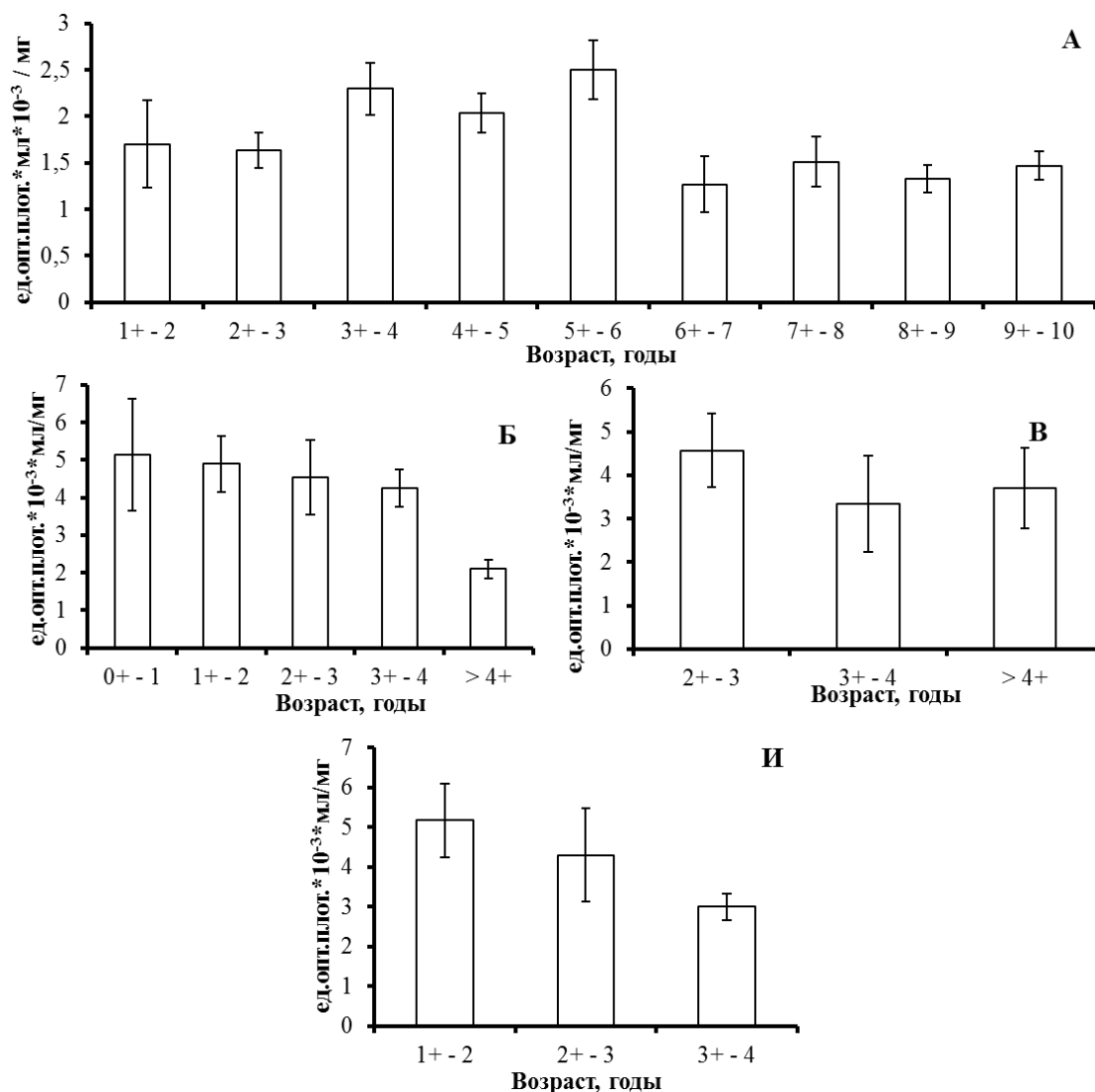


Рисунок 3.4 Возрастные изменения уровня эндогенной интоксикации в крови черноморских рыб (А – морской ерш, Б – спи́кара, В - султанка, Г - ставрида), ($M \pm m$)

Значения ЭИ в крови спи́кары остается примерно на одном уровне в течение 4 лет, лишь незначительно снижаясь. Однако у рыб старшего возраста содержание олигопептидов уменьшается почти в 2 раза. Между возрастом и уровнем ЭИ в крови данного вида выявлена значительная корреляция ($r = -0,87$). Возрастная динамика уровня ЭИ в крови султанки неоднозначна. Содержание СМО несколько снижается у рыб 4 лет и более старшего возраста, однако различия недостоверны. Параметры ЭИ в крови ставриды падают: у 3-летних особей

незначительно, а у 4-летних достоверно по сравнению с 2-летними особями ($p < 0,05$).

Было исследовано влияние возраста на уровень эндогенной интоксикации в печени рыб (рисунок 3.5).

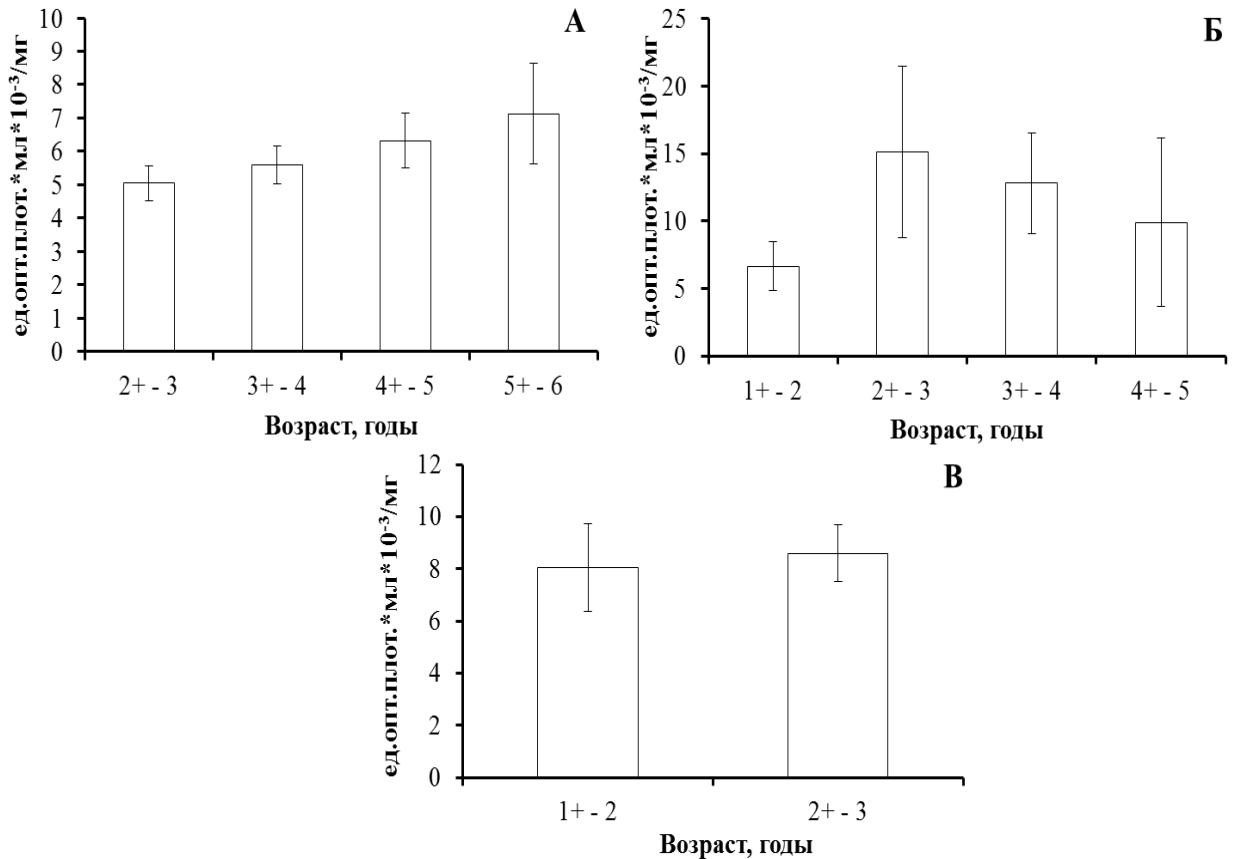


Рисунок 3.5 Возрастные изменения уровня эндогенной интоксикации в печени черноморских рыб (А – морской ерш, Б – спикара, В – ставрида), ($M \pm m$)

Уровень ЭИ в печени морского ерша увеличивается с возрастом: так у 6 летних особей содержание олигопептидов выше, чем у 3 летних ($p < 0,05$). Корреляция между возрастом и уровнем ЭИ значительна ($r = 0,91$). Уровень ЭИ в печени спикары достоверно возрастает у рыб 3-4 лет по сравнению с 2-летними, и затем незначительно снижается у рыб 5-летнего возраста. Выявлена слабая связь

между данным показателем и возрастом спикары ($r = 0,26$). Не обнаружено достоверных изменений уровня ЭИ в печени ставриды двух возрастных групп.

Таким образом, уровень ЭИ в тканях черноморских рыб снижается с возрастом или остается неизменным, за исключением показателя в печени морского ерша, где наблюдается небольшое повышение содержания СМО с возрастом. Установлена как отрицательная корреляционная связь (r от $-0,87$ до $-0,43$), так и положительная (r от $0,26$ до $0,91$) возраста и содержания СМО в тканях черноморских рыб.

3.4 Сезонные особенности содержания среднемолекулярных олигопептидов в тканях черноморских рыб

На рисунке 3.6 представлены данные об изменении содержания СМО в крови черноморских рыб в зависимости от сезона.

Максимальный уровень ЭИ установлен в крови морского ерша в весенний период. Летом и осенью содержание среднемолекулярных олигопептидов снижалось. Зимой показатель достоверно ниже по сравнению с другими сезонами ($p < 0,05$). Установлена умеренная корреляция ($r = 0,49$). В крови султанки максимальные значения исследуемого показателя установлены для летне-осеннего периода, несколько меньше они весной. Зимой содержание олигопептидов достоверно снижается по сравнению с другими сезонами ($p < 0,05$). Для султанки установлена сильная коррелятивная связь показателя и температуры ($r = 0,94$). Отмечено увеличение уровня ЭИ в крови спикары в летний период по сравнению с весенним и последующее снижение в осенний. Зимой у спикары параметры ЭИ продолжают снижаться, однако изменения незначительны. Корреляция для спикары так же существенна ($r = 0,87$). Максимальный уровень ЭИ в крови ставриды показан в весенний период. Летом и осенью происходит резкое снижение содержания СМО в крови данного вида более чем в два раза ($p < 0,05$). Зимой показатель вновь возрастает достоверно по сравнению с осенью, однако остается ниже нежели в весенний период ($p < 0,05$). Установлена

значительная обратная связь между температурой среды и уровнем ЭИ в крови ставриды ($r = -0,52$).

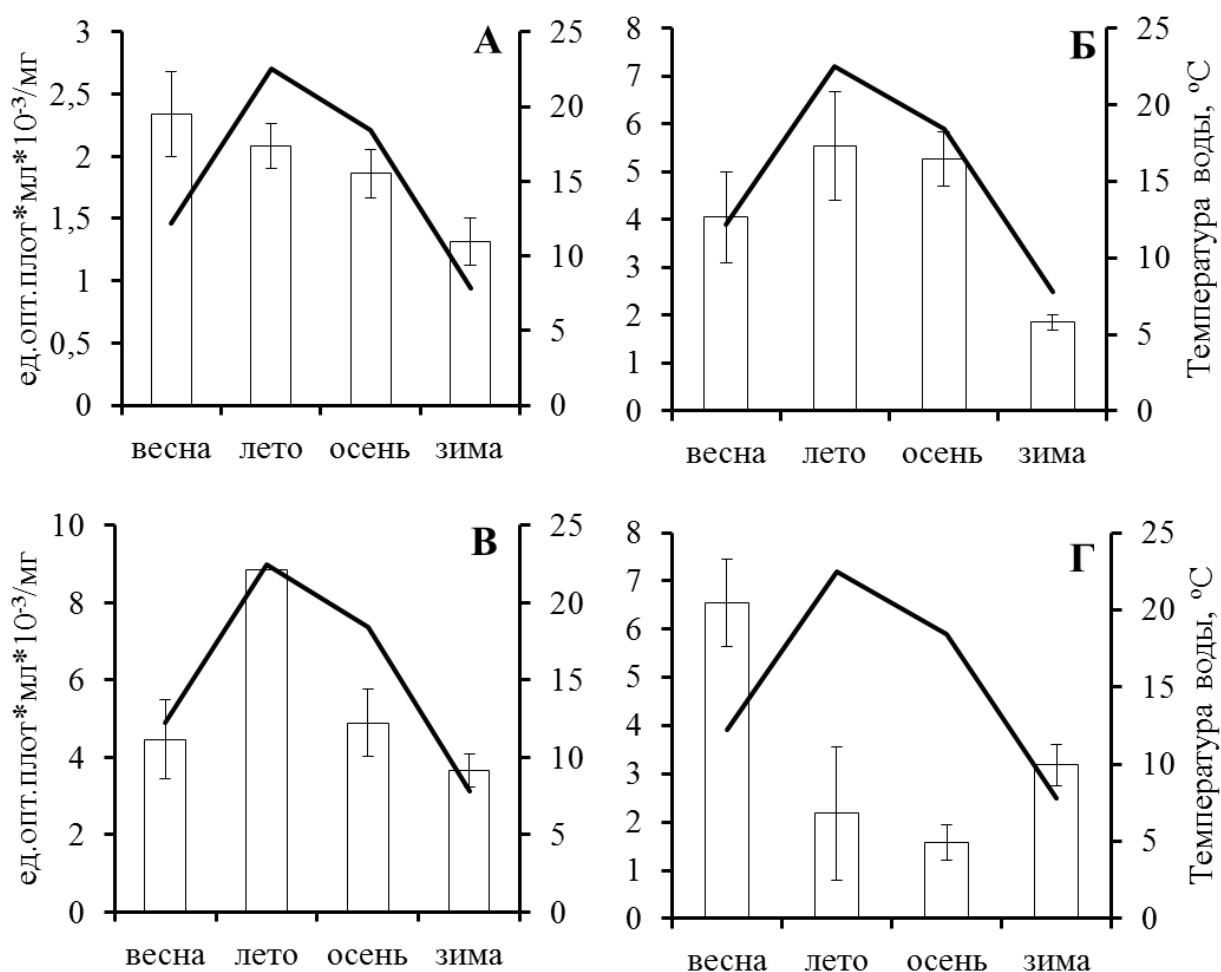


Рисунок 3.6 Сезонная динамика содержания средномолекулярных олигопептидов в крови черноморских рыб (А – морской ерш, Б – султанка, В – спикара, Г – ставрида), ($M \pm m$)

Сезонная динамика содержания СМО в печени была исследована у морского ерша и спикары (рисунок 3.7).

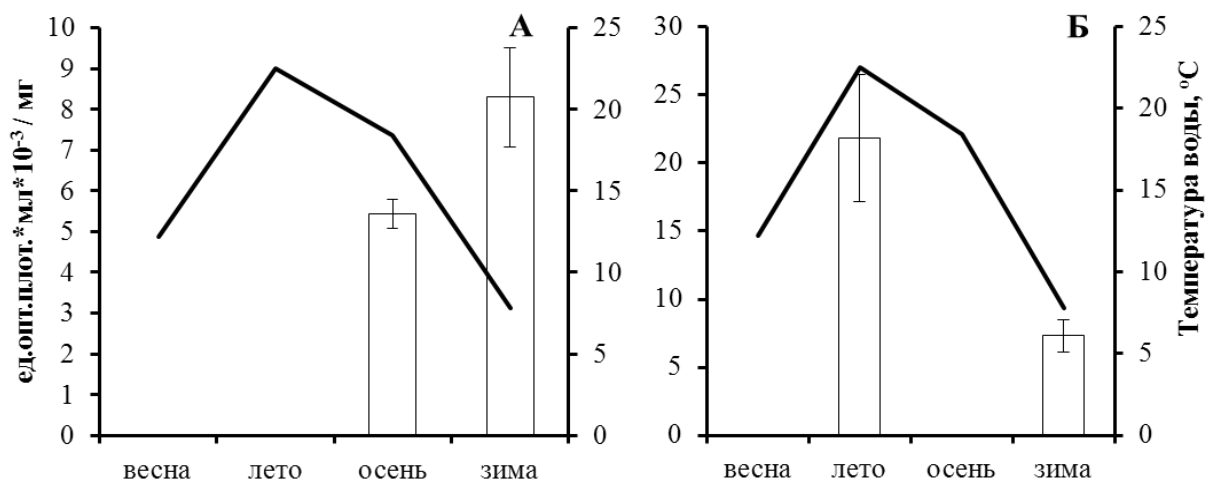


Рисунок 3.7 Сезонные изменения содержания среднемолекулярных олигопептидов в печени морского ерша (А) и спикары (Б), ($M \pm m$)

Выявлены достоверные отличия между сезонами для показателей СМО в печени ерша и спикары. В печени ерша ЭИ была выше зимой, нежели осенью, а у спикары выше летом, нежели зимой.

Известно, что многие биохимические процессы протекают по-разному у особей разного пола в зависимости от сезона; в связи с этим была исследована сезонная динамика уровня ЭИ в крови самок и самцов морского ерша (рисунок 3.8).

Исследования позволили выявить достоверные половые отличия уровня ЭИ в крови скорпены в летний период ($p < 0,05$). В другие сезоны отличий не установлено.

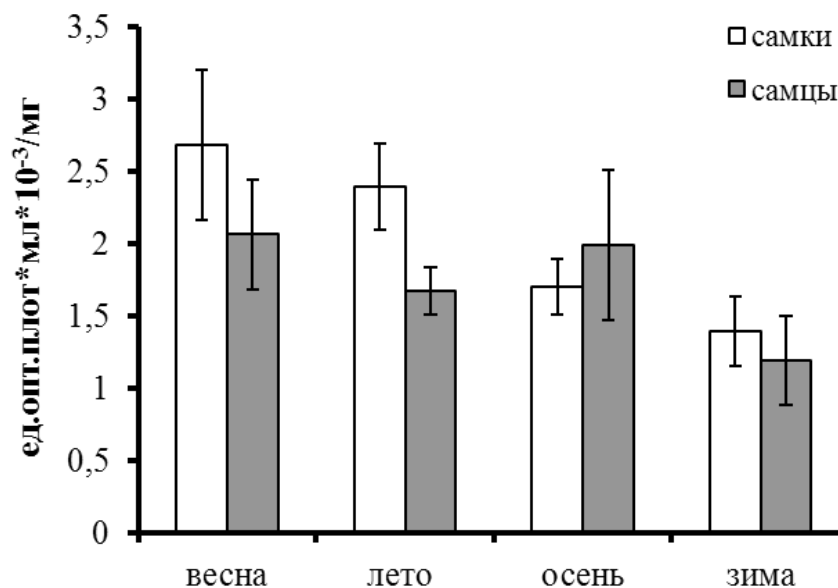


Рисунок 3.8 Сезонная динамика уровня эндогенной интоксикации в крови самок и самцов морского ерша, ($M \pm m$)

Был изучен уровень ЭИ в крови морского ерша из двух исследуемых районов в разные сезоны года (рисунок 3.9)

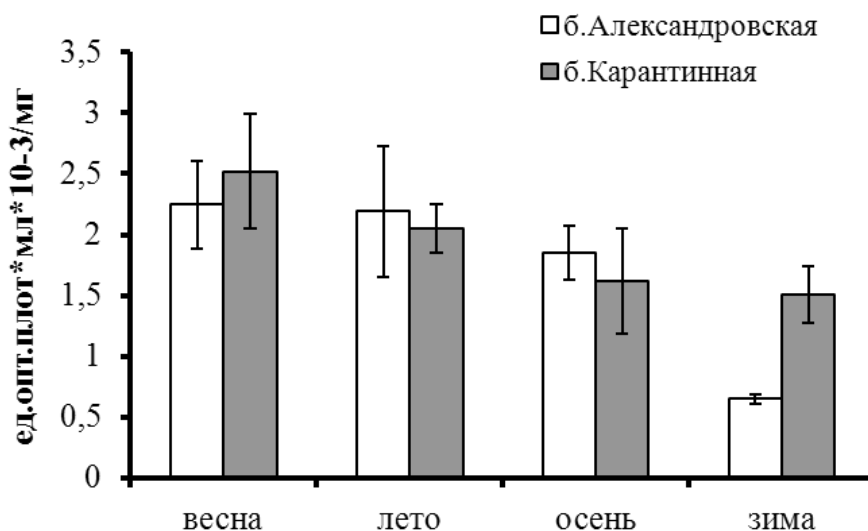


Рисунок 3.9 Уровень эндогенной интоксикации в крови морского ерша в разные сезоны года, обитающего в бухтах с различной антропогенной нагрузкой, ($M \pm m$)

Достоверные отличия в уровне ЭИ в крови морского ерша из двух районов были получены только для зимнего периода. Содержание СМО в крови ершей из б. Карантинная в 2 раза выше, чем в б. Александровская. В другие сезоны года отличий между показателями рыб из двух акваторий не установлено.

Уровень ЭИ в крови морского ерша в разные сезоны в 2008 и 2009 году представлен на рисунке 3.10. В весенний, осенний и зимний период уровень ЭИ в крови морского ерша в 2009 году был выше, чем в 2008 году. Летом 2008 года наблюдается обратная тенденция, но отличия не достоверны. Следует отметить, что в зимний и весенний период 2009 года исследуемый показатель был в 2 раза выше, чем в аналогичные периоды предыдущего года ($p < 0,05$).

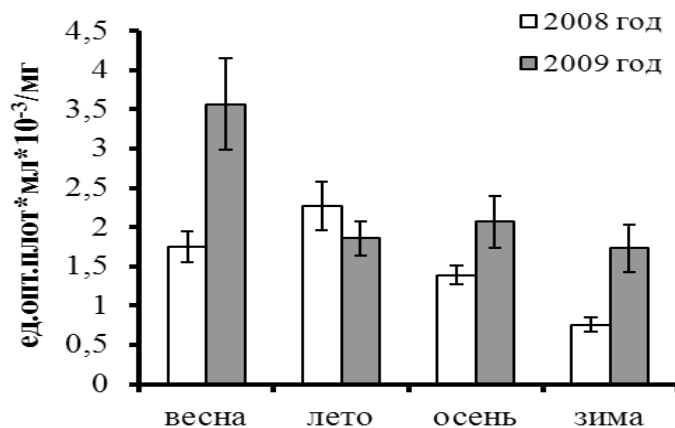


Рисунок 3.10 Сезонная динамика уровня эндогенной интоксикации в крови морского ерша в 2008 и 2009 годах, ($M \pm m$)

Сезонные изменения неоднозначны для всех исследованных возрастов скорпены (рисунок 3.11). Для младшей возрастной группы 2+ - 3 года максимальные значения ЭИ установлены в зимний период, однако отличия с показателями других сезонов недостоверны. В то же время выявлено достоверное снижение значений в осенний период по сравнению с весенним. В группе 3+ - 4 года максимум содержания СМО приходится на лето и весну. К осени, как и у младших особей, наблюдается снижение уровня ЭИ, сохраняющееся на таком уровне и зимой.

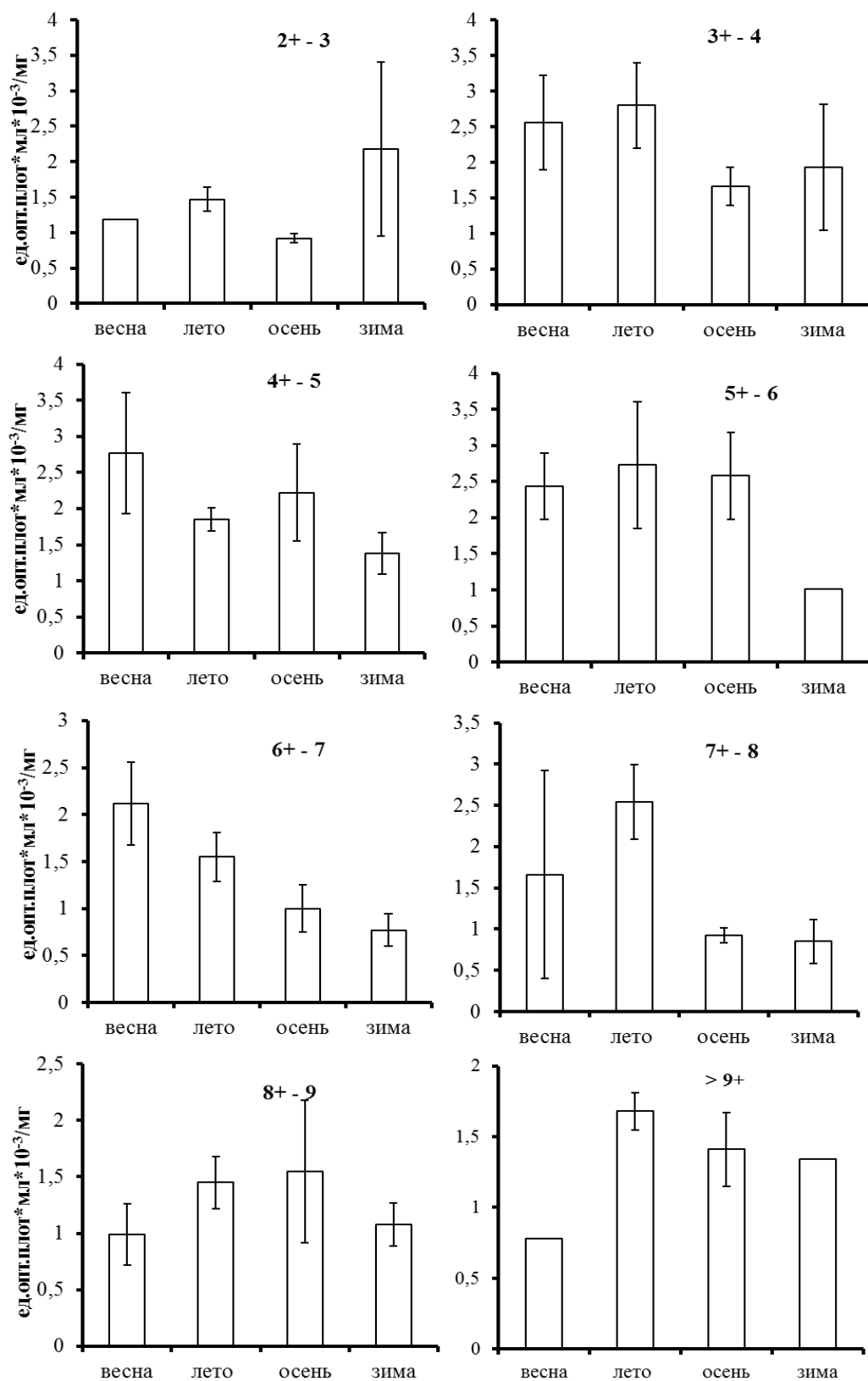


Рисунок 3.11. Сезонная динамика уровня эндогенной интоксикации в крови морского ерша разных возрастов, ($M \pm m$)

Наиболее высокий уровень ЭИ в крови морского ерша в возрастной группе 4+ - 5 установлен для весеннего периода, к лету содержание олигопептидов снижается, несколько возрастает к осени и затем значительно уменьшается зимой. В зимний период уровень ЭИ у рыб в данной возрастной группе ниже такового весной почти в 2 раза ($p < 0,05$). Не выявлено существенных отличий между уровнем ЭИ в весенний, летний и осенний периоды у рыб в группе 5+ - 6 лет. Однако к зиме отмечено снижение показателя. В группе 6+ - 7-летних особей данный показатель снижается в ряду весна $\rightarrow$ лето $\rightarrow$ осень $\rightarrow$ зима. Причем осенне-зимние показатели достоверно ниже весенне-летних ($p < 0,05$). Максимум значений в летний период приходится и для группы рыб 7+ - 8 лет, а к осенне-зимнему времени года уровень ЭИ значительно снижается ($p < 0,05$). Зимние значения уровня ЭИ у рыб в возрасте 6+ - 8 более чем в 2 раза ниже таковых в теплое время. У рыб в возрасте старше 8+ лет существенных сезонных изменений не выявлено.

Для морского ерша, султанки и спикары показано возрастание уровня ЭИ в теплые сезоны, в то время как у пелагической ставриды в летне-осенний период отмечено минимальное содержание СМО. Установлена существенная как прямая связь данного показателя с температурой $r = 0,49-0,94$, так и обратная $r = - 0,52$. Выявлена также некоторая зависимость показателя в различные сезоны в зависимости от пола, района, возраста, однако в целом сезонные колебания уровня ЭИ мало подвержены влиянию данных факторов.

3.5 Содержание среднемолекулярных олигопептидов и уровень окислительной модификации в крови черноморских рыб, обитающих в бухтах с различной антропогенной нагрузкой

Влияние антропогенной нагрузки на уровень ЭИ в крови черноморских рыб представлено на рисунке 3.12.

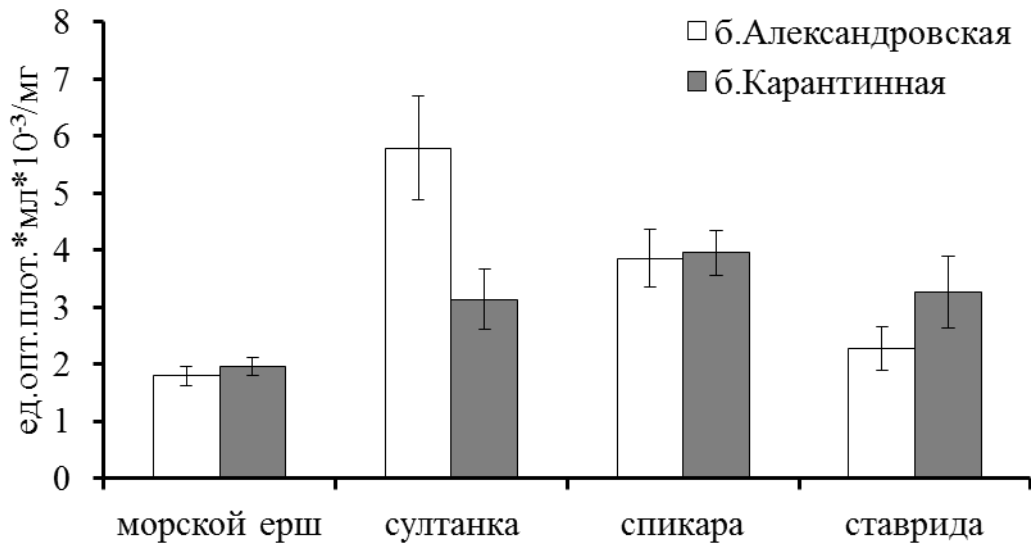


Рисунок 3.12 Уровень эндогенной интоксикации в крови черноморских рыб, обитающих в бухтах с различной антропогенной нагрузкой, ($M \pm m$)

В крови морского ерша из исследуемых бухт значения показателя были сходны. Достоверные различия значений ЭИ в крови султанки в б. Александровская более чем в полтора раза выше, чем у особей из б. Карантинная. У спикары содержание олигопептидов в крови было одинаковым у рыб из двух бухт. У ставриды различия в содержании олигопептидов в крови особей из двух бухт недостоверны.

Максимальные значения ЭИ в крови скорпены обнаружены в б. Казачья. Отличий в содержании олигопептидов в крови рыб из 3-х других районов не обнаружено (рисунок 3.13).

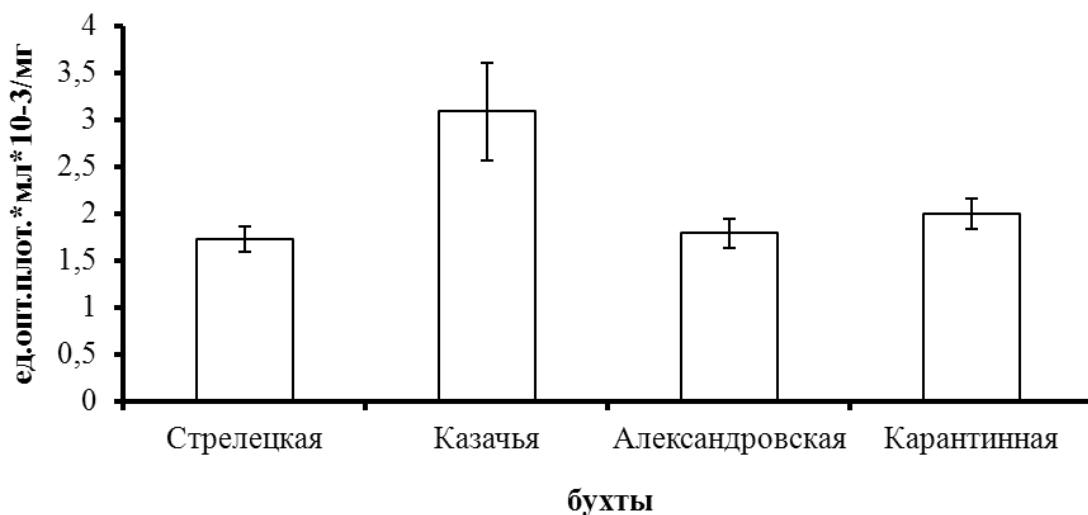


Рисунок 3.13 Уровень эндогенной интоксикации в крови морского ерша из 4 бухт, ($M \pm m$)

Влияние антропогенной нагрузки на уровень ЭИ в печени рыб показано на рисунке 3.14.

Как видно из представленных данных уровень ЭИ в печени морского ерша из б. Карантинная достоверно выше, чем в б. Александровская. Для спикары характерны более высокие значения ЭИ у рыб из б. Александровская, однако, различия с б. Карантинной не достоверны.

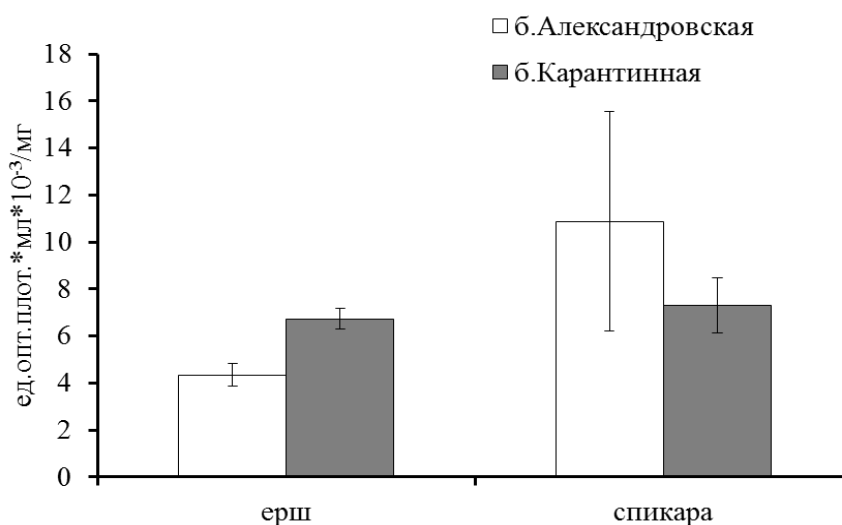


Рисунок 3.14 Уровень эндогенной интоксикации в печени черноморских рыб из разных бухт, ($M \pm m$)

Известно, что самцы и самки рыб могут по-разному реагировать на загрязнение акваторий, но при этом не иметь видимых половых отличий показателей. В связи с этим были проведены исследования ЭИ в крови самок и самцов рыб из разных бухт (рисунок 3.15).

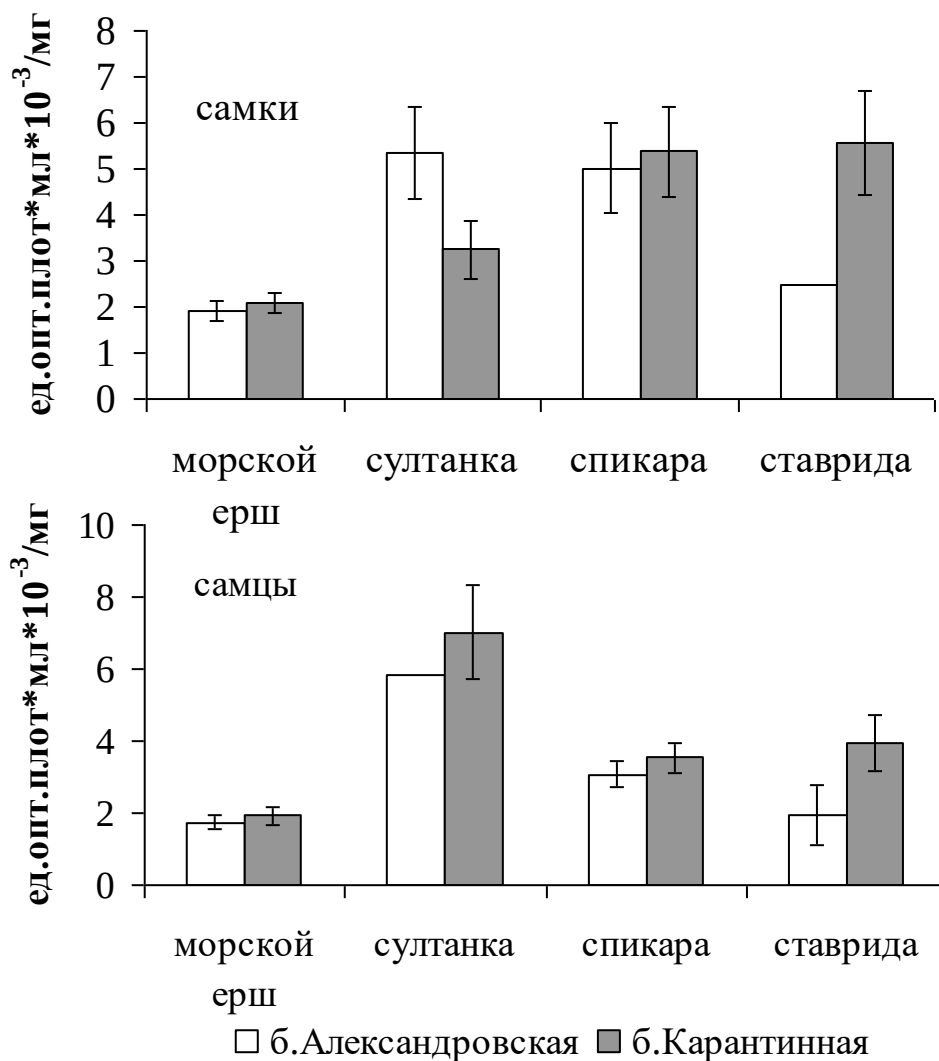


Рисунок 3.15. Уровень эндогенной интоксикации в крови самок и самцов некоторых черноморских рыб из бухт с различной антропогенной нагрузкой, ($M \pm m$)

Половых отличий в крови морского ерша и спикары из двух исследуемых районов не выявлено. У самок султанки и из б. Карантинная содержание среднемолекулярных олигопептидов в крови достоверно ниже, чем у особей из б. Александровской. Для самцов этого вида такой закономерности не установлено. В

крови самцов ставриды и уровень ЭИ выше в б. Карантинная, нежели в б. Александровской.

В печени половые различия уровня ЭИ у рыб из двух акваторий исследовали на примере морского ерша (рисунок 3.16)

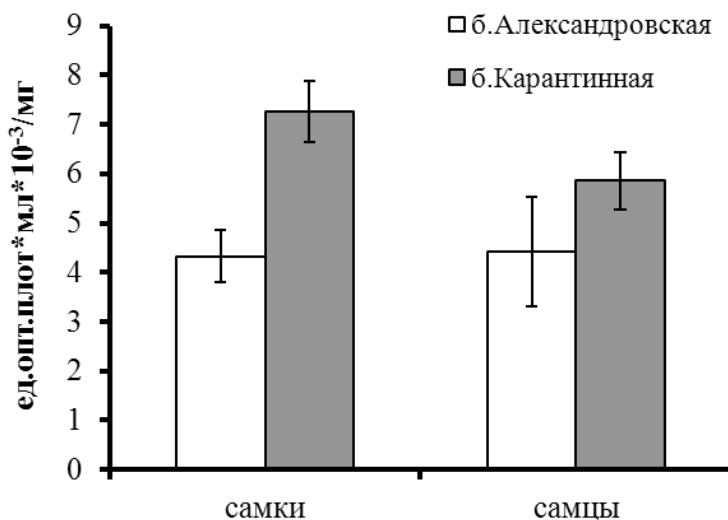


Рисунок 3.16 Уровень эндогенной интоксикации в печени самок и самцов морского ерша из бухт с различной антропогенной нагрузкой, ($M \pm m$)

Достоверных отличий в уровне ЭИ в печени самцов из двух исследуемых районов не обнаружено, однако в б. Карантинная значения показателя несколько выше. Для самок установлено достоверно большее содержание СМО в печени рыб из б. Карантинная.

На примере морского ерша были рассмотрены возрастные изменения уровня ЭИ в крови рыб из двух бухт (рисунок 3.17).

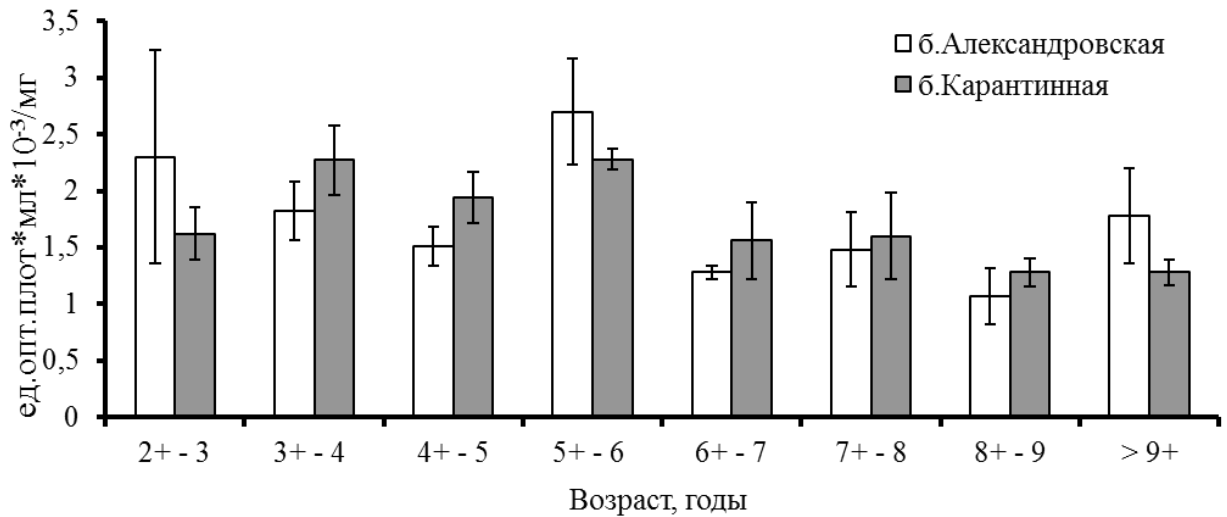


Рисунок 3.17 Уровень эндогенной интоксикации в крови разновозрастных морских ершей из бухт с различной антропогенной нагрузкой, ($M \pm m$)

Существенных достоверных отличий содержания СМО в крови рыб одного возраста, но обитающих в бухтах с различной антропогенной нагрузкой, не выявлено. Однако отмечено, что исследуемый показатель достоверно выше у рыб в возрасте 4+ - 5 лет из б. Карантинная по сравнению с особями из б. Александровская. Для большинства других возрастных групп установлена аналогичная тенденция. У рыб из б. Александровская, данный показатель несколько выше у самых младших и самых старших особей, а также у рыб в возрастной группе 5+ - 6, однако отличия не достоверны.

У морского ерша были рассмотрены возрастные изменения уровня ЭИ в печени рыб из двух бухт (рисунок 3.18).

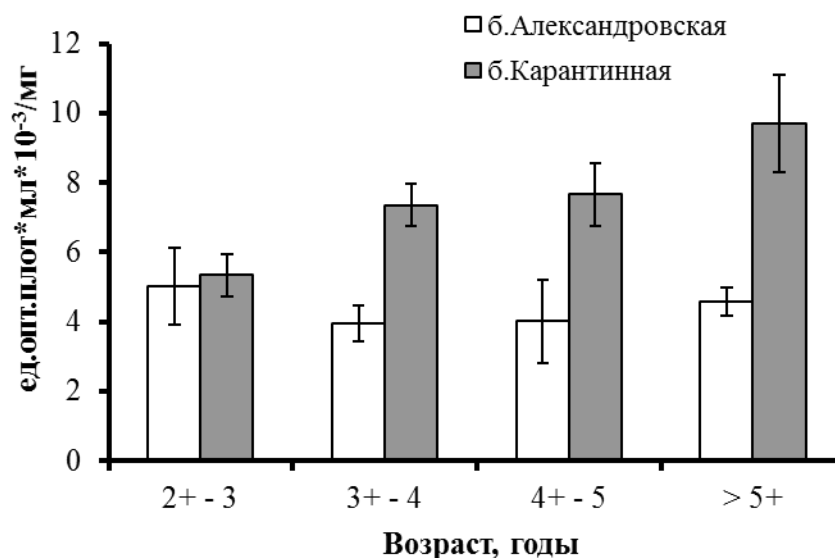


Рисунок 3.18 Уровень эндогенной интоксикации в печени морского ерша в зависимости от возраста и антропогенной нагрузки, ($M \pm m$)

В младшей возрастной группе уровень ЭИ в печени морского ерша из двух исследуемых акваторий одинаков. Но уже у рыб возраста 3+ - 4 года различия в содержании СМО становятся достоверными и сохраняются у старших особей. Значения ЭИ в печени рыб из б. Карантинная выше, чем у особей из б. Александровская. Следует также отметить, что данный параметр в печени ершей из б. Александровская остается на одном уровне, в то время как у рыб из Карантинной бухты этот показатель повышается с возрастом: в группе 3+ - 4 он выше чем, в группе 2+ - 3, а у особей старше 5+ лет достоверно больше, чем у ершей из группы 3+ - 4.

Было исследовано влияние антропогенной нагрузки на уровень ОМБ в крови морского ерша и ставриды, отловленных в бухтах Карантинная и Мартынова (таблица 3.4).

Достоверных отличий уровня ОМБ в сыворотке морского ерша из двух бухт не обнаружено, но у рыб в б. Мартынова данный показатель несколько выше. Уровень ОМБ у ставриды, выловленной из Карантинной бухты, значительно выше, чем у рыб из Мартыновой бухты и различия достоверны для всех производных ($p < 0,05$).

Таблица 3.4 Содержание 2,4-динитрофенилгидразонов в сыворотке морского ерша и ставриды из бухт с различным уровнем антропогенной нагрузки, ($M \pm m$, ед. опт. плот.)

Длина волны, нм	Бухты	
	Карантинная	Мартынова
Морской ерш		
	n=17	n=10
346	$2,46 \pm 0,39$	$2,63 \pm 0,73$
370	$3,60 \pm 0,50$	$3,74 \pm 1,03$
430	$1,80 \pm 0,29$	$1,93 \pm 0,55$
530	$0,36 \pm 0,07$	$0,36 \pm 0,07$
Ставрида		
	n=14	n=10
346	$5,21 \pm 0,18^*$	$1,34 \pm 0,08$
370	$7,39 \pm 0,12^*$	$1,81 \pm 0,14$
430	$3,85 \pm 0,13^*$	$0,9 \pm 0,08$
530	$0,56 \pm 0,12^*$	$0,24 \pm 0,026$

Примечание: * - достоверно по сравнению с рыбами из б. Мартынова.

Таким образом, уровень ЭИ в тканях черноморских рыб в ряде случаев не имеет достоверных отличий у особей из двух районов. Однако у султанки из б. Александровская показатели достоверно выше, чем у рыб из б. Карантинная, а для морского ерша и ставриды показатели выше у особей в б. Карантинная. Уровень ОМБ в сыворотке морского ерша одинаков у рыб из двух районов, однако, у ставриды из б. Карантинная показатели достоверно выше. Установлено некоторое влияние пола и возраста на показатели рыб из двух акваторий.

Содержание СМО и уровень ОМБ в тканях черноморских рыб минимальны у представителя донной группы – морского ерша. Виды, принадлежащие к другим экологическим группам, имеют сходные значения, за исключением султанки, уровень ОМБ которой близок к значениям показателя морского ерша.

Уровень ЭИ в тканях рыб в большинстве случаев не имеет существенных отличий по полу, однако у самок этот показатель выше, за исключением султанки, уровень ЭИ в крови которой достоверно выше у самцов. Содержание СМО снижается с возрастом или остается неизменным, за исключением значений в печени морского ерша, где наблюдается небольшое повышение содержания олигопептидов у особей из старших возрастных групп. Установлена как отрицательная, так и положительная корреляционная связь между возрастом и содержанием СМО. Для морского ерша, султанки и спикары показано возрастание уровня ЭИ в теплые сезоны, в то время как у пелагической ставриды в летне-осенний период отмечено минимальное содержание СМО. Выявлена некоторая зависимость показателя в различные сезоны в зависимости от пола, района, возраста, однако в целом сезонные колебания уровня ЭИ мало подвержены влиянию данных факторов. Уровень ЭИ в тканях черноморских рыб, в ряде случаев не имеет достоверных отличий у особей из двух районов, однако у султанки из б. Александровская показатели достоверно выше, а для морского ерша и ставриды показатели выше у особей в б. Карантинная. Уровень ОМБ в сыворотке морского ерша одинаков у рыб из двух районов, однако, у ставриды из б. Карантинная показатели достоверно выше. Показано влияние пола и возраста на показатели рыб, отловленных в бухтах с различным уровнем антропогенной нагрузки.

РАЗДЕЛ 4

АКТИВНОСТЬ АНТИОКСИДАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ В ТКАНЯХ ЧЕРНОМОРСКИХ РЫБ

4.1 Видовые особенности активности антиоксидантных ферментов в тканях черноморских рыб

Активность каталазы в крови существенно варьировала у исследованных видов рыб (рисунок 4.1).

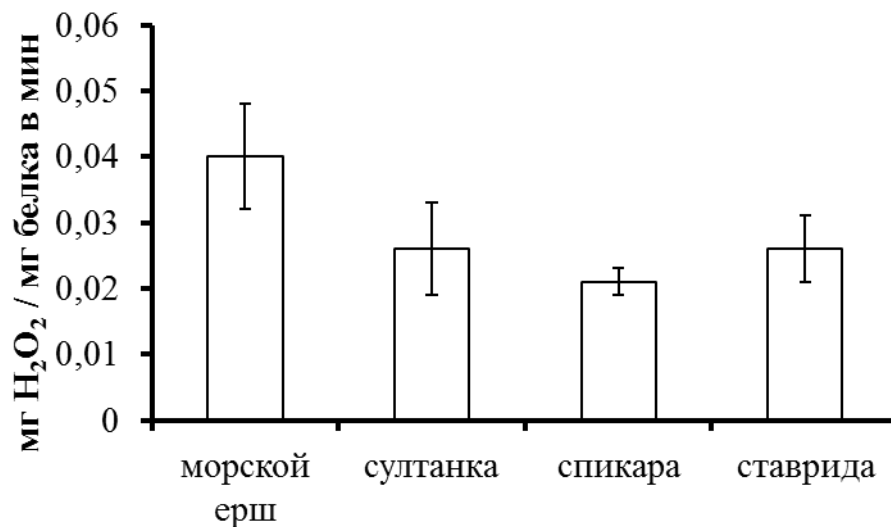


Рисунок 4.1 Активность каталазы в крови черноморских рыб, (M±m)

Минимальные значения активности КАТ обнаружены в крови спикары, максимальные – у морского ерша, при этом различия между ними достоверны ($p < 0,05$). Показатели султанки и ставриды близки значениям активности КАТ в крови спикары.

Активность ПЕР также различалась в крови рыб (рисунок 4.2).

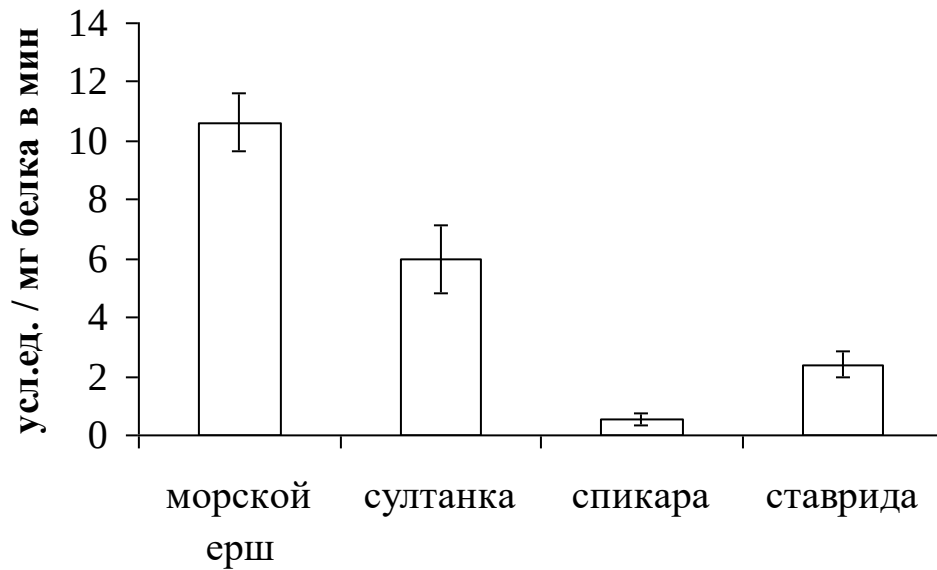


Рисунок 4.2 Активность пероксидазы в крови черноморских рыб, ($M \pm m$)

Максимальные значения активности ПЕР в крови выявлены у морского ерша, минимальные – у спикары. Показатели султанки достоверно ниже чем, у морского ерша ($p < 0,05$), а у ставриды достоверно ниже, чем у султанки ($p < 0,05$).

Активность КАТ в печени черноморских рыб представлена на рисунке 4.3.

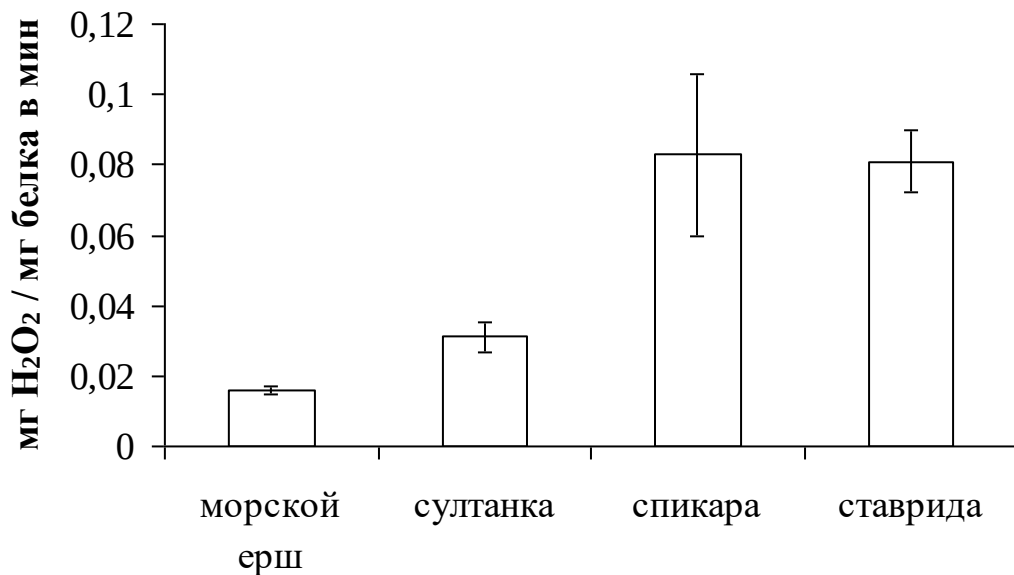


Рисунок 4.3 Активность каталазы в печени черноморских рыб, ($M \pm m$)

Минимальная активность КАТ установлена в печени морского ерша, максимальная – у спикары и ставриды (различия достоверны ($p < 0,05$)). Показатели султанки занимают промежуточное положение – достоверно выше, чем у морского ерша и достоверно ниже, чем у спикары и ставриды.

Активность ПЕР в печени рыб приведена на рисунке 4.4.

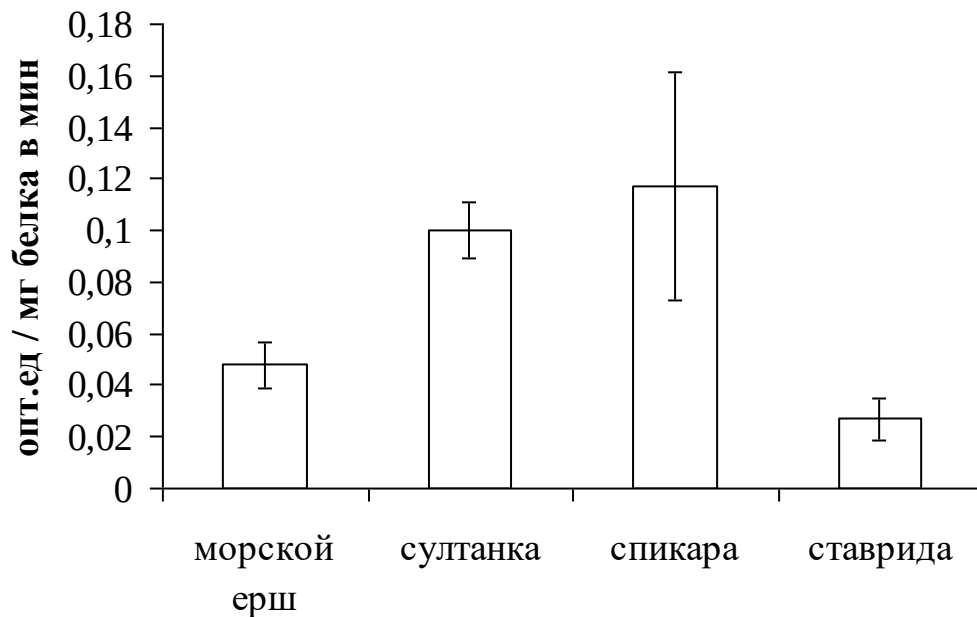


Рисунок 4.4 Активность пероксидазы в печени черноморских рыб, ($M \pm m$)

Максимальные значения активности ПЕР в печени установлены у спикары, минимальные – у ставриды. Несмотря на высокую активность ПЕР в печени спикары, различия с показателями других видов не достоверны. Активность фермента в печени султанки несколько ниже, чем у спикары, однако достоверно выше, чем у морского ерша и ставриды ($p < 0,05$). Показатели морского ерша и ставриды близки.

Таким образом, активность АОФ в некоторой степени зависит от принадлежности рыб к экологической группе: для донных рыб показаны максимальные значения активности КАТ и ПЕР в крови и максимальные в печени. У придонных, придонно-пелагических и пелагических в крови наблюдается меньшая активности АОФ по сравнению с морским ершом, а в печени – более высокая за исключением ПЕР в печени ставриды. Следует

отметить высокий уровень связи активности ПЕР и КАТ в крови исследуемых рыб ($r = 0,94$).

4.2 Половые особенности активности антиоксидантных ферментов в тканях черноморских рыб

Половые особенности активности антиоксидантных ферментов в крови рыб представлены в таблице 4.1.

Таблица 4.1 Активность антиоксидантных ферментов в крови черноморских рыб разного пола, ($M \pm m$)

<i>Вид</i>	<i>Кол-во особей (шт.)</i>	<i>Каталаза (мг H_2O_2/мг белка в мин)</i>	<i>Кол-во особей (шт.)</i>	<i>Пероксидаза (опт.ед./мг белка в мин)</i>
Морской ерш	<u>24</u>	<u>0,041$\pm$0,014</u>	<u>41</u>	<u>10,33$\pm$1,33</u>
	12	0,028 $\pm$ 0,008	19	8,53 $\pm$ 1,52
Султанка	<u>6</u>	<u>0,028$\pm$0,008</u>	<u>10</u>	<u>7,02$\pm$1,13*</u>
	1	0,013	2	0,73 $\pm$ 0,11
Спикара	<u>1</u>	<u>0,028</u>		—
	3	0,019 $\pm$ 0,001		
Ставрида	<u>6</u>	<u>0,025$\pm$0,007</u>	<u>14</u>	<u>2,59$\pm$0,66</u>
	5	0,019 $\pm$ 0,006	9	2,30 $\pm$ 0,35

Примечание: * - достоверно по сравнению с самцами ($p < 0,05$); числитель – самки, знаменатель – самцы

Достоверных половых отличий активности КАТ в крови черноморских рыб не установлено. Однако отмечено, что для большинства видов активность КАТ выше у самок. Для морского ерша и ставриды достоверных отличий активности ПЕР в крови не установлено, но активность фермента несколько выше у самок. Достоверные половые отличия отмечены для султанки: активность ПЕР в крови самок более чем в 9 раз выше, чем в крови самцов ($p < 0,05$).

Активность КАТ в печени самок и самцов морского ерша и спикары одинакова (таблица 4.2). У султанки и ставриды установлены достоверные отличия: активность КАТ в печени самцов увеличена ($p < 0,05$). У морского ерша, султанки и ставриды половых отличий активности ПЕР в печени не отмечено. У ставриды и султанки показатели самок и самцов имели близкие значения, у самок морского ерша активность ПЕР выше, у самок спикары активность ПЕР в 4,5 раза выше, чем у самцов, однако различия не достоверны.

Таблица 4.2 Активность антиоксидантных ферментов в печени черноморских рыб разного пола, ($M \pm m$)

<i>Вид</i>	<i>Кол-во особей (шт.)</i>	<i>Каталаза (мг H_2O_2/мг белка в мин)</i>	<i>Кол-во особей (шт.)</i>	<i>Пероксидаза (опт.ед./мг белка в мин)</i>
Морской ерш	<u>43</u>	<u>$0,016 \pm 0,001$</u>	<u>45</u>	<u>$0,053 \pm 0,013$</u>
	23	$0,015 \pm 0,002$	18	$0,039 \pm 0,012$
Султанка	<u>28</u>	<u>$0,023 \pm 0,002^*$</u>	<u>25</u>	<u>$0,104 \pm 0,016$</u>
	14	$0,049 \pm 0,010$	11	$0,092 \pm 0,011$
Спикара	<u>14</u>	<u>$0,134 \pm 0,063$</u>	<u>6</u>	<u>$0,274 \pm 0,133$</u>
	29	$0,057 \pm 0,014$	13	$0,060 \pm 0,023$
Ставрида	<u>13</u>	<u>$0,063 \pm 0,006^*$</u>	<u>4</u>	<u>$0,021 \pm 0,007$</u>
	11	$0,101 \pm 0,016$	2	$0,027 \pm 0,024$

Примечание: * - достоверно по сравнению с самцами ($p < 0,05$); числитель – самки, знаменатель – самцы

Таким образом, активность АОФ мало зависит от половой принадлежности рыб, за исключением султанки, показавшей разную активность ферментов как в крови, так и в печени особей разного пола. Установлены половые отличия в активности КАТ в печени ставриды.

4.3 Возрастные особенности активности антиоксидантных ферментов в тканях черноморских рыб

На рисунке 4.5 показана активность антиоксидантных ферментов в крови морского ерша и ставриды разных возрастных групп.

Активность каталазы в крови морского ерша имеет максимальные значения у 3-4-летних рыб, а, начиная с 5-летнего возраста, наблюдается снижение данного показателя. У рыб старше 6 лет активность каталазы остается примерно на одном уровне. У особей самой старшей возрастной группы она в 4 раза ниже, чем у 3-летних. Корреляция между возрастом и активностью КАТ высокая ($r = -0,76$).

Активность ПЕР также максимальна в крови молодых рыб. Однако уже у 3-летних особей установлено достоверное снижение активности ПЕР, которое становится еще более выраженным к 4-5 годам. У 6-летних и старших рыб отмечен примерно одинаковый низкий уровень активности данного фермента. Активность ПЕР у рыб старшей возрастной группы более чем в 3 раза ниже показателей 2-летних рыб. Корреляция между возрастом и активностью ПЕР, также как и для КАТ, значительная ($r = -0,77$). Установлена высокая корреляция между активностью обоих ферментов в крови морского ерша разных возрастных групп ($r = 0,88$).

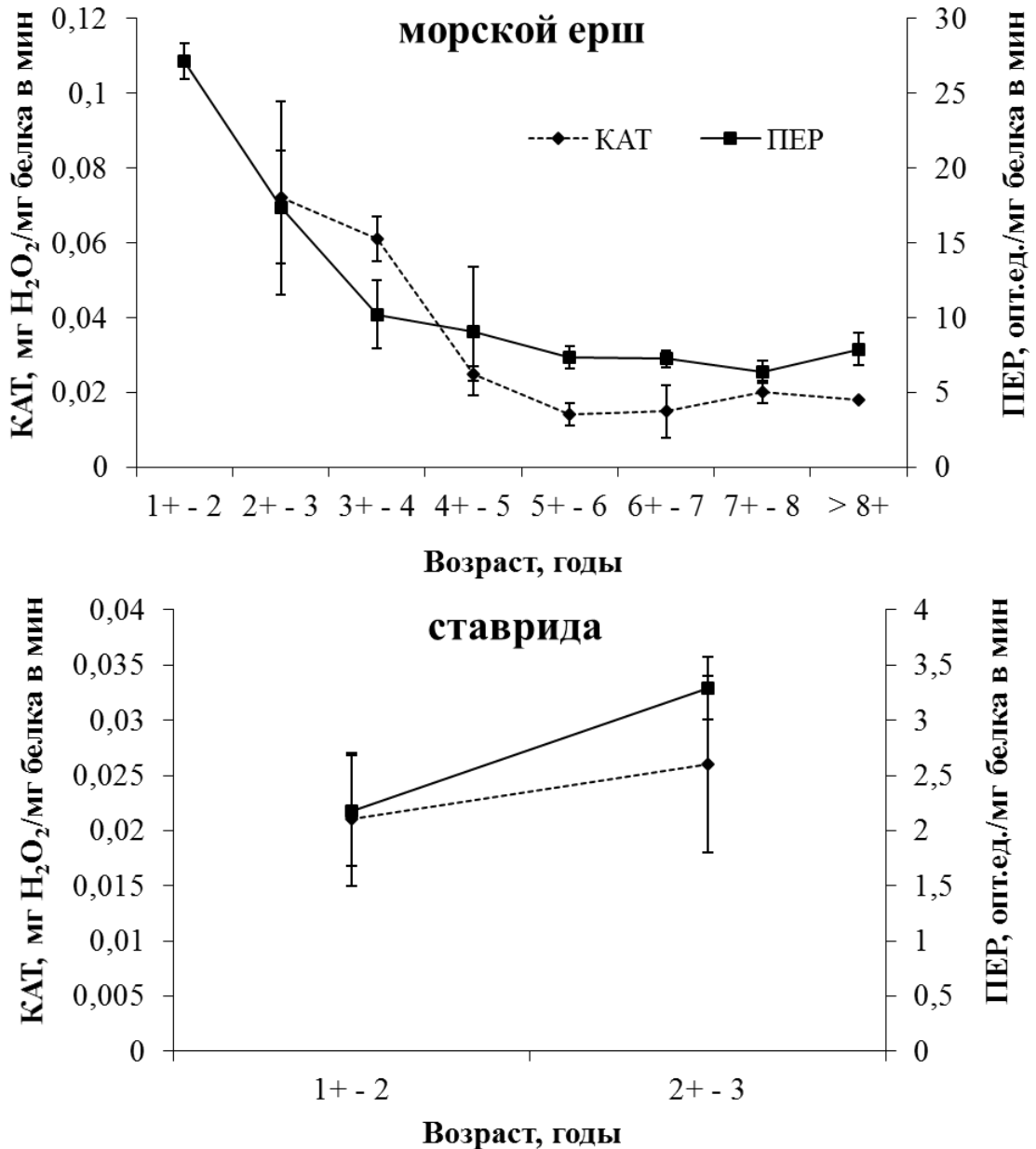


Рисунок 4.5 Возрастная динамика активности АОФ в крови морского ерша и ставриды, ($M \pm m$)

Активность ПЕР также максимальна в крови молодых рыб. Однако уже у 3-летних особей установлено достоверное снижение активности ПЕР, которое становится еще более выраженным к 4-5 годам. У 6-летних и старших рыб отмечен примерно одинаковый низкий уровень активности данного фермента. Активность ПЕР у рыб старшей возрастной группы более чем в 3 раза ниже показателей 2-летних рыб. Корреляция между возрастом и активностью ПЕР, также, как и для КАТ, значительная ($r = -0,77$). Установлена высокая корреляция между

активностью обоих ферментов в крови морского ерша разных возрастных групп ($r = 0,88$).

Достоверных отличий между активностью КАТ в крови ставриды 2-х возрастных групп не установлено, однако отмечена тенденция возрастания активности АОФ у 3-хлетних рыб. Активность ПЕР достоверно повышается у 3-летних рыб по сравнению с 2-летними ($p < 0,05$).

Таким образом, выявлено снижение активности КАТ и ПЕР в крови морского ерша старших возрастных групп, а у ставриды отмечено повышение у 3-летних особей.

В таблице 4.3 представлена активность антиоксидантных ферментов в печени рыб разных возрастных групп. Активность КАТ несколько возрастает у морского ерша к 3-м годам, и затем остается примерно на одном уровне. Однако у рыб старше 6 лет данный показатель достоверно снижается почти вдвое. Корреляция между возрастом и активностью КАТ незначительная ($r = - 0,29$). Показатели активности ПЕР варьируют в широких диапазонах во всех изученных возрастных группах. Минимальные значения для данного фермента установлены для старшей возрастной группы. Корреляция несколько выше, нежели для каталазы и составляет $r = - 0,41$. Связь между активностью каталазы и пероксидазы в печени скорпены разных возрастных групп умеренная ($r = 0,57$).

Для антиоксидантных ферментов печени спикары характерна общая тенденция: активность КАТ и ПЕР возрастает у 3-летних рыб по сравнению с 2-летними (для КАТ достоверно), и затем снижается у старших особей. Несмотря на большую вариабельность значений активности пероксидазы возрастные изменения более выражены для каталазы. Так, активность ПЕР в печени 5-летних рыб в 14 раз ниже, чем у рыб 3 лет, в то время как активность КАТ снижается в среднем в 4 раза. Корреляция между активностями данных ферментов и возрастом также выше для ПЕР (ПЕР $r = - 0,66$, КАТ $r = - 0,31$). Общий характер изменений активности данных ферментов в печени спикары определяет высокую корреляцию между ними ($r = 0,92$).

Таблица 4.3 Возрастная динамика активности антиоксидантных ферментов в печени черноморских рыб, (M±m)

Возраст, годы	Каталаза	Пероксидаза
	(мг H ₂ O ₂ /мг белка в мин)	(опт.ед./мг белка в мин)
Морской ерш		
1+ - 2	0,012 ± 0,004	0,083 ± 0,054
2+ - 3	0,017 ± 0,002	0,043 ± 0,016
3+ - 4	0,017 ± 0,002	0,060 ± 0,021
4+ - 5	0,013 ± 0,001	0,035 ± 0,012
5+ - 6	0,018 ± 0,002	0,090 ± 0,085
> 6+	0,008 ± 0,003*	0,015 ± 0,007
Султанка		
0+ - 1	0,057 ± 0,016	0,097 ± 0,013
1+ - 2	0,037 ± 0,007	0,120 ± 0,026
2+ - 3	0,026 ± 0,002•	0,083 ± 0,014
3+ - 4	0,018 ± 0,003•,••	0,006
Спикара		
1+ - 2	0,043 ± 0,014	0,116 ± 0,098
2+ - 3	0,140 ± 0,034▪	0,227 ± 0,127
3+ - 4	0,046 ± 0,010••	0,080 ± 0,027
4+ - 5	0,035 ± 0,008••	0,016 ± 0,015•••
Ставрида		
0+ - 1	0,100 ± 0,049	-
1+ - 2	0,083 ± 0,012	0,032 ± 0,008
2+ - 3	0,070 ± 0,010	0,014 ± 0,002□

Примечание: для морского ерша * - достоверно по сравнению с особями других возрастных групп кроме группы 1+ - 2 (p < 0,05), для спикары ▪ - достоверно по сравнению с особями из групп 1+ - 2, 3+ - 4 и 4+ - 5, •• - достоверно по сравнению с 3-летними рыбами, ••• - достоверно по сравнению с 4-летними особями (p <

0,05), для ставриды ☐ - достоверно по сравнению с 2-летними особями ($p < 0,05$), для султанки • - достоверно по сравнению с 2-летними особями, •• - достоверно по сравнению с 3-летними рыбами ($p < 0,05$)

С возрастом активность каталазы в печени ставриды имеет тенденцию к снижению, а активность пероксидазы уменьшается у 3-летних рыб по сравнению с 2-летними.

Активность каталазы в печени султанки падает с возрастом. У 3-летних рыб этот показатель достоверно ниже, чем у 2-летних, а у 4-летних меньше, чем у 3-летних. Корреляция между возрастом и активностью каталазы высокая ($r = - 0,98$). Активность пероксидазы меняется неоднозначно: возрастает у рыб 2 лет, и затем снижается у старших особей. Установлена значительная корреляция между возрастом и активностью данного фермента ($r = - 0.81$). Выявлена существенная связь между показателями обоих антиоксидантных ферментов в печени султанки ($r = 0,67$).

Таким образом, активность АОФ в тканях исследуемых рыб достоверно снижается на протяжении всей жизни или же незначительно меняется в течение всего времени, но с возрастом падает. Получена как значительная прямая и обратная коррелятивная связь между активностью ферментов и возрастом, так и установлена зависимость активности КАТ и ПЕР между собой.

4.4 Сезонные особенности активности антиоксидантных ферментов в тканях черноморских рыб

Сезонная динамика активности каталазы в крови морского ерша и султанки представлена на рисунке 4.6.

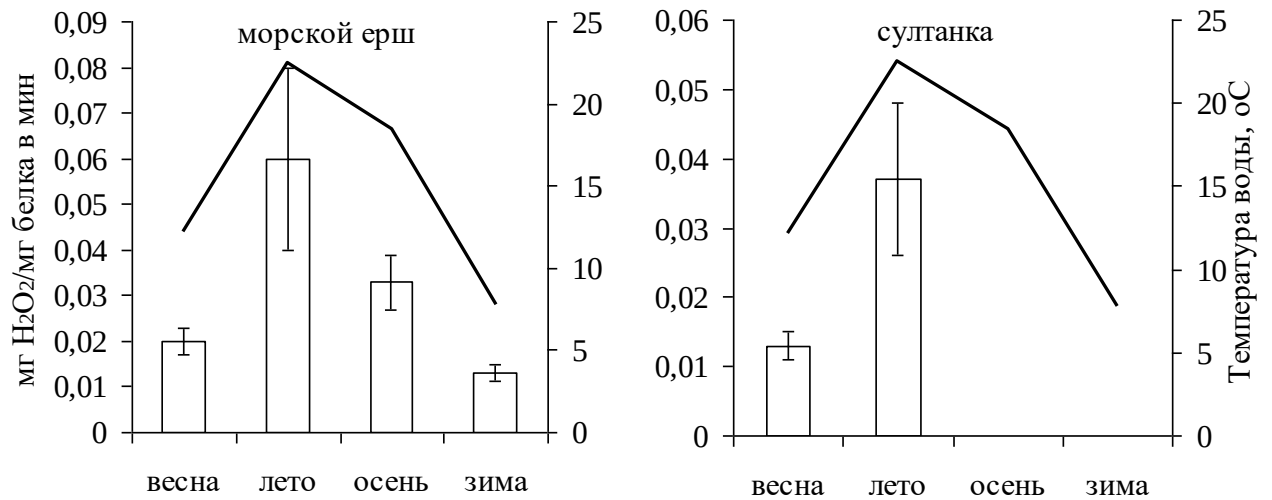


Рисунок 4.6 Активность каталазы в крови черноморских рыб в различные сезоны, ($M \pm m$)

Минимальная активность КАТ в крови скорпены установлена в зимний сезон. К весне активность фермента несколько возрастает. Максимальных значений активность КАТ достигает в летний период, когда она выше чем, в весенний период в 3 раза ($p < 0,05$). С понижением температуры активность фермента также падает. Однако осенью данный показатель выше по сравнению с весенними значениями ($p < 0,05$). Установлена значительная корреляционная связь ($r = 0,95$). Для султанки различия между весенним и летним сезоном достоверны: летом активность фермента выше ($p < 0,05$).

Активность пероксидазы в крови рыб в зависимости от сезона была исследована у морского ерша и султанки (рисунок 4.7).

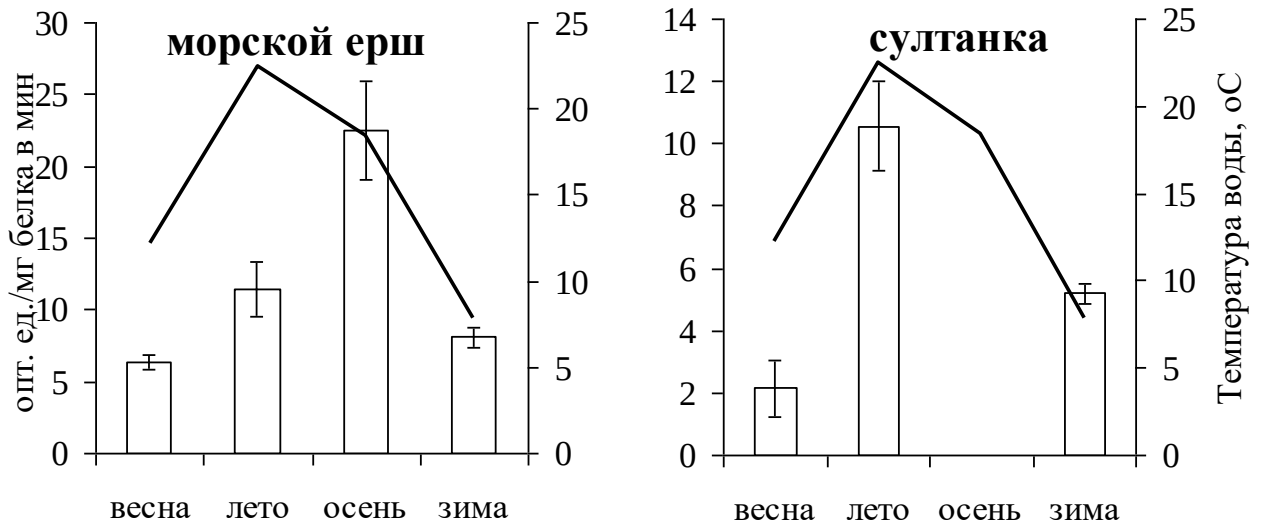


Рисунок 4.7 Активность пероксидазы в крови черноморских рыб, ($M \pm m$)

Активность пероксидазы в крови морского ерша достоверно повышается в ряду весна → лето → осень, и достигает максимальных величин осенью. Осенью активность фермента в 3,5 раза выше, чем весной ($p < 0,05$). К зиме активность ПЕР падает, приближаясь к весенним значениям. Корреляция между температурой воды и активностью ПЕР в крови морского ерша значительна ($r = 0,53$). Летом активность ПЕР в крови султанки в 5 раз достоверно выше, чем весной и в 2 раза выше, чем зимой. Корреляция для султанки несколько выше, чем для ерша ($r = 0,79$).

Была исследована сезонная динамика активности каталазы в печени рыб (рисунок 4.8). Установлено, что активность КАТ в печени ерша возрастает постепенно в ряду зима → весна → лето и затем снижается к осени, что совпадает с колебаниями температуры морской воды в разные сезоны. Максимальная активность КАТ установлена для летнего сезона, когда она достоверно выше, чем в другие сезоны ($p < 0,05$), минимальная – зимой (достоверно ниже по сравнению с другими сезонами). Выявлена сильная степень корреляции ($r = 0,99$).

В весенний период установлена максимальная активность КАТ в печени спикары и ставриды. К лету значение показателя у данных видов достоверно снижается почти вдвое ($p < 0,05$). Зимой активность фермента становится минимальной и вдвое меньшей, нежели осенью. Корреляция между температурой

воды и активностью ферментов незначительная для обоих видов (спикара $r = 0,12$ и ставрида $r = 0,31$).

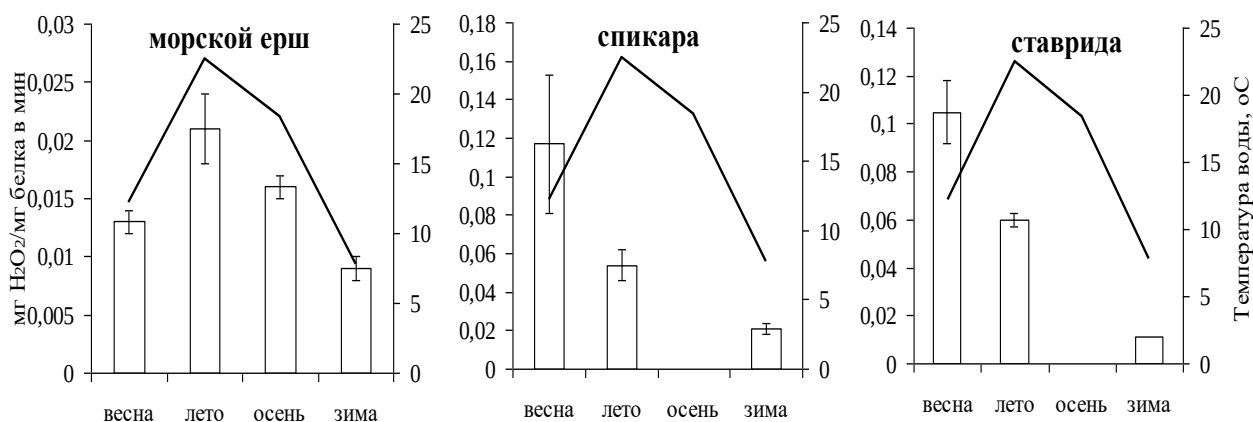


Рисунок 4.8. Активность каталазы в печени черноморских рыб в различные сезоны, (M±m)

Активность пероксидазы в печени рыб в зависимости от сезона представлена на рисунке 4.9.

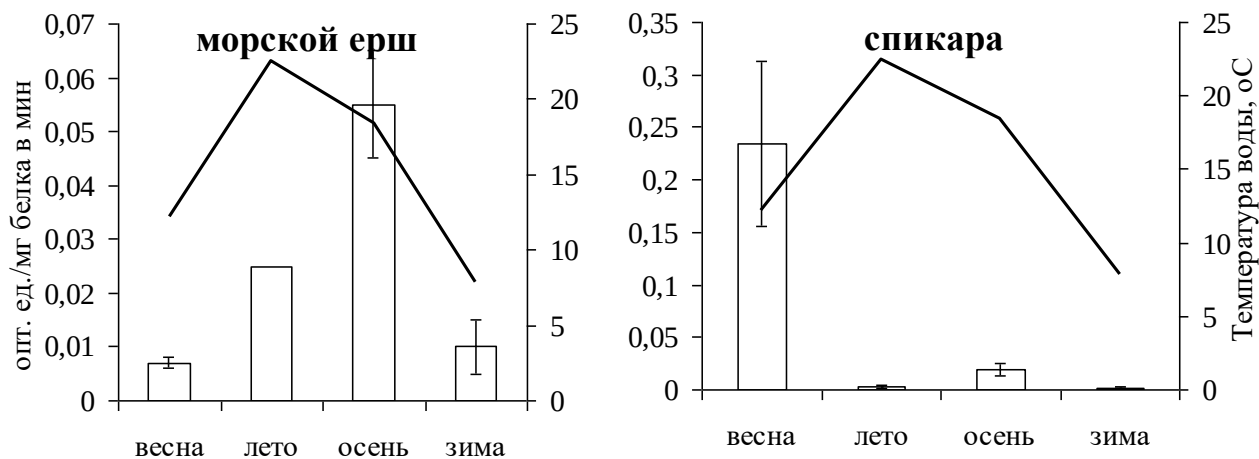


Рисунок 4.9 Активность пероксидазы в печени исследуемых видов рыб различные сезоны, (M±m)

Активность пероксидазы в печени скорпены повышается в ряду весна → лето → осень и достигает максимальных величин осенью. Активность ПЕР осенью почти в 8 раз выше, чем весной ($p < 0,05$). Зимой наблюдается снижение показателя в печени морского ерша до весенних значений. Выявлена

значительная корреляционная связь между температурой воды и активностью фермента в печени ерша ($r = 0,61$).

Весной выявлена максимальная активность ПЕР в печени спикары. В это время активность фермента в десятки раз выше значений в другие сезоны. Летом активность фермента значительно снижается, к осени данный показатель достоверно возрастает ($p < 0,05$), хотя осенние значения активности существенно ниже весенних. Зимой наблюдается повторное снижение активности. Установлена незначительная отрицательная корреляционная связь ($r = - 0,29$).

Таким образом, в крови и печени исследованных видов рыб максимальная активность АОФ приходится на теплый период года (весна, лето, осень), в то время как зимой активность КАТ и ПЕР значительно ниже. Активность КАТ в тканях морского ерша максимальна летом и показывает сильную связь данного показателя и температуры ($r = 0,95-0,99$). Активность ПЕР максимальна осенью и корреляция ниже, чем для КАТ, однако значительна ($r = 0,53-0,61$). У рыб других экологических групп связь между активностью ферментов и температурой воды выражена в меньшей степени, за исключением ПЕР в крови султанки ($r = 0,79$).

4.5 Активность антиоксидантных ферментов в тканях черноморских рыб, обитающих в бухтах с различным уровнем антропогенной нагрузки

Активность каталазы и пероксидазы в крови морского ерша из 4 районов прибрежной зоны Черного моря, отличающихся уровнем антропогенной нагрузки, представлена в таблице 4.4.

Активность КАТ в крови морского ерша была максимальной в бухтах Александровская и Стрелецкая, ПЕР – в б. Александровская. Почти в 3 раза активность КАТ была ниже у рыб из б. Карантинная. Минимальное значение ПЕР - так же установлено для рыб из б. Карантинная. Однако достоверных отличий активности ПЕР в крови ерша из бухт Карантинная, Казачья и Стрелецкая не выявлено.

Таблица 4.4 Активность антиоксидантных ферментов в крови морского ерша из акваторий с различным уровнем антропогенной нагрузки ($M \pm m$, на мг белка)

	<i>Каталаза (мг H_2O_2)</i>	<i>Пероксидаза (опт. ед.)</i>
б. Стрелецкая (n=3)	$0,062 \pm 0,007$	$9,03 \pm 1,73$
б. Александровская (n=24)	$0,061 \pm 0,019$	$16,76 \pm 2,5^{***}$
б. Карантинная (n=41)	$0,018 \pm 0,002^*$	$7,36 \pm 0,42$
б. Казачья (n=4)	$0,034 \pm 0,006^{**}$	$8,19 \pm 2,95$

Примечание: * - активность КАТ в крови достоверно ниже по сравнению с другими бухтами, ** - активность КАТ достоверно отличается от значений в б. Карантинная и Стрелецкая, *** - активность ПЕР достоверно выше по сравнению с другими бухтами

Влияние антропогенной нагрузки на активность АОФ в печени черноморских рыб представлено на рисунке 4.10.

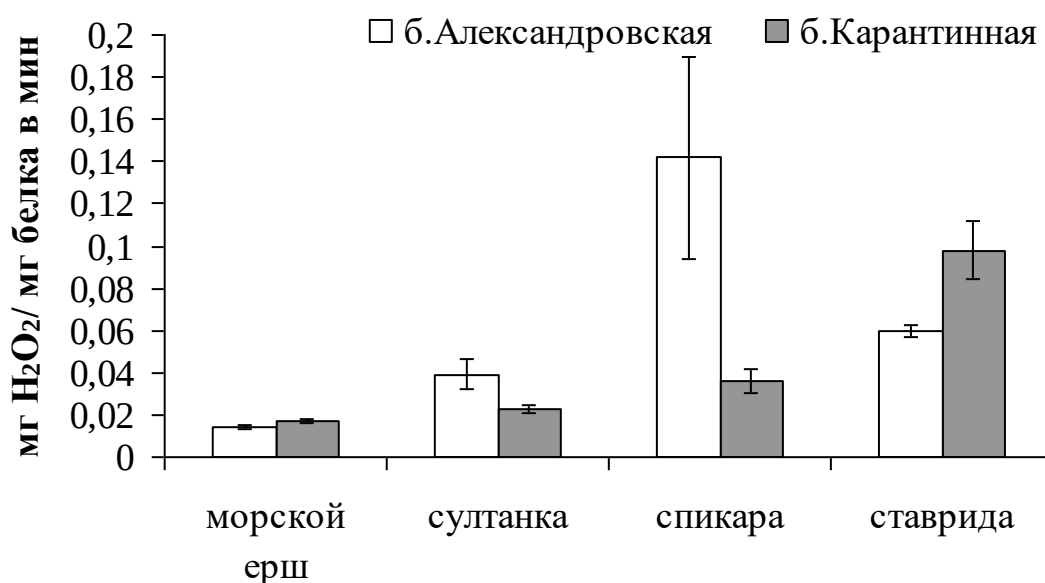


Рисунок 4.10. Активность каталазы в печени рыб из двух акваторий с различным уровнем антропогенной нагрузки, ($M \pm m$)

Для султанки и спикары активность КАТ в печени выше у особей из б. Александровская. Наибольшие различия установлены для спикары: активность фермента в печени рыб из б. Александровская в 4 раза выше нежели у особей из

б. Карантинная. У султанки различия между показателями из двух бухт не столь ярко выражены, однако достоверны. В печени морского ерша, а особенно ставриды выявлена достоверно более высокая активность КАТ в печени рыб из б. Карантинная.

Данные о влиянии антропогенной нагрузки на активность ПЕР в печени черноморских рыб представлены на рисунке 4.11.

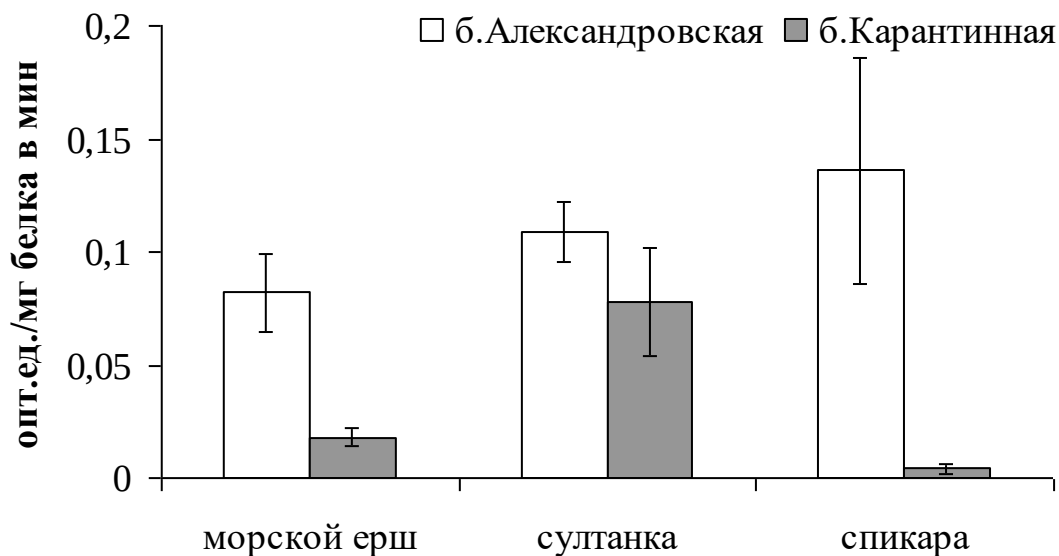


Рисунок 4.11 Активность пероксидазы в печени черноморских рыб из двух тестируемых бухт ($M \pm m$)

Для всех исследованных видов, установлена более высокая активность ПЕР в печени рыб из б. Александровская. В печени султанки значения активности фермента были близки у особей из исследуемых бухт. В печени морского ерша и спикары из б. Александровская активность ПЕР выше, чем в б. Карантинная.

Таким образом, активность ПЕР в тканях рыб выше у особей из б. Александровская. Активность КАТ так же выше в крови морского ерша и печени султанки и спикары из б. Александровская, однако в печени ставриды и морского ерша активность выше у рыб из б. Карантинная.

В связи с модифицирующим влиянием загрязняющих веществ были рассмотрены изменения активности АОФ в крови самок и самцов на примере морского ерша (рисунок 4.12).

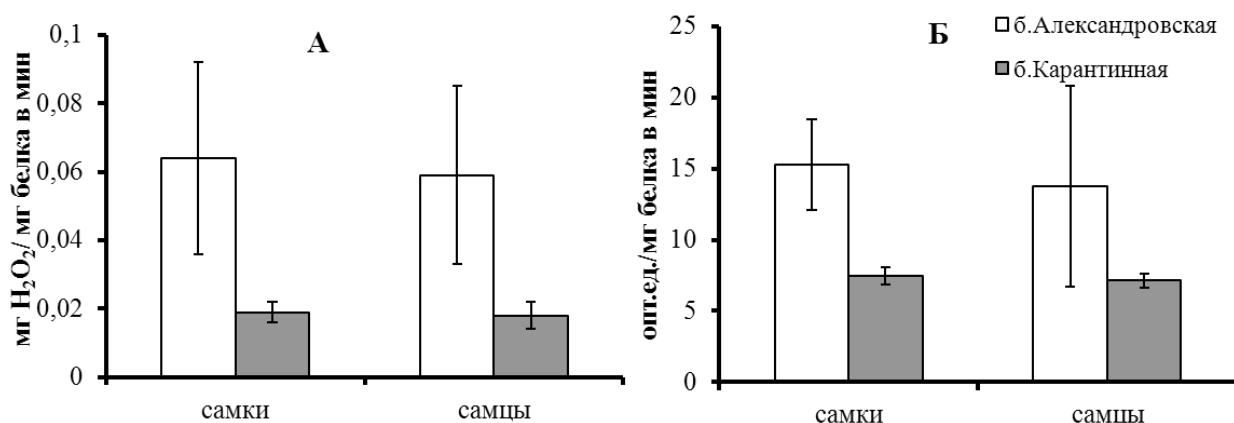


Рисунок 4.12 Активность антиоксидантных ферментов в крови самок и самцов морского ерша из двух районов с различной антропогенной нагрузкой (А – каталаза, Б – пероксидаза), ($M \pm m$)

Из представленных данных видно, что активность АОФ у рыб обоих полов выше в б. Александровская. Активность КАТ в три раза выше у особей в указанной бухте, а активность ПЕР - в два раза (достоверно только для самок). Половые различия не установлены у рыб как из б. Карантинная, так и из б. Александровская.

Было исследовано изменение активности АОФ в печени самок и самцов тестируемых видов (рисунок 4.13).

Активность КАТ в печени самцов всех исследованных видов рыб имела отличия между особями, отловленными в двух районах. Самцы морского ерша и ставриды имели большие значения в б. Карантинная, в то время как самцы султанки и спикары – в б. Александровская.

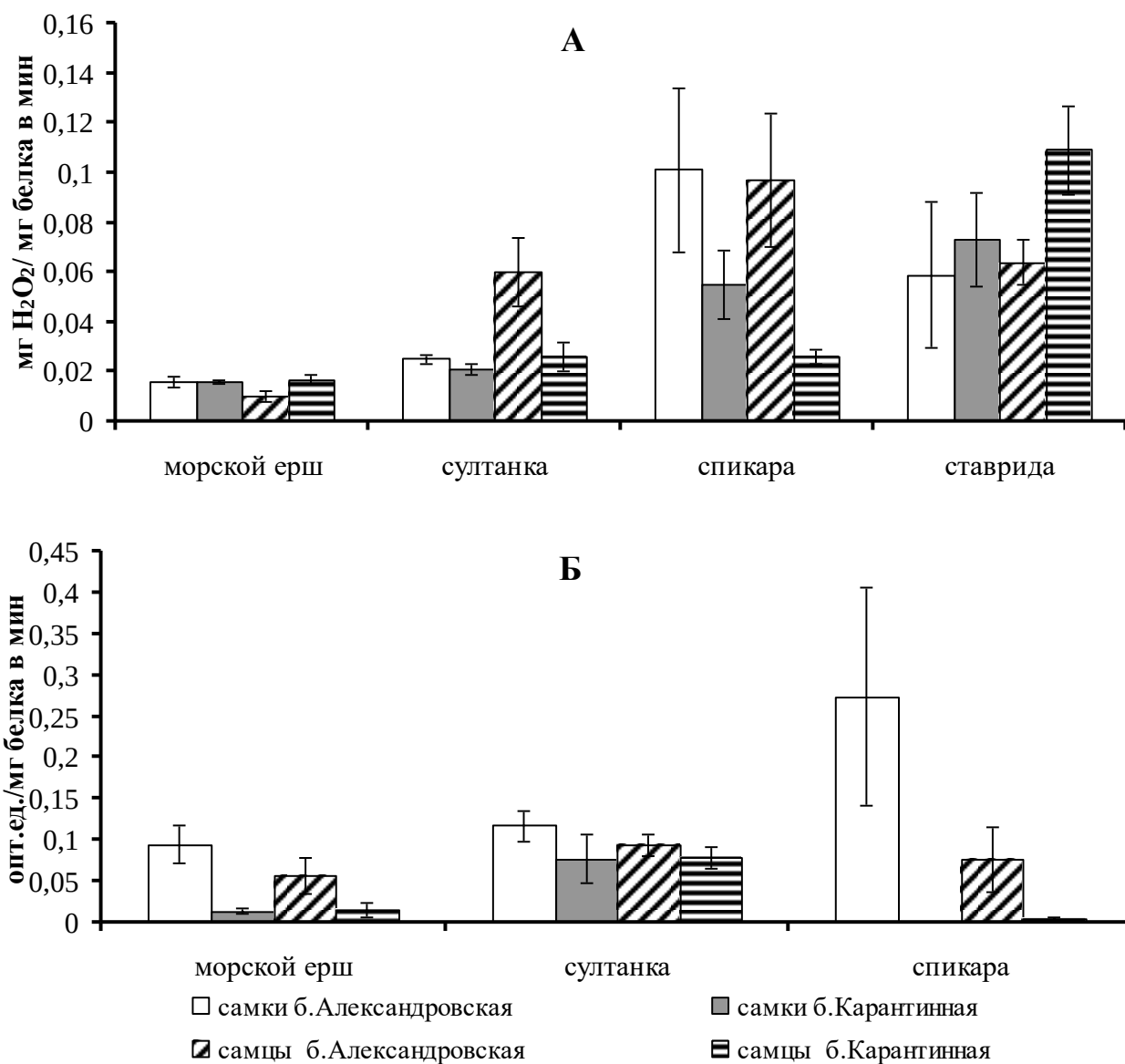


Рисунок 4.13 Активность антиоксидантных ферментов в печени самок и самцов черноморских рыб из районов с различной антропогенной нагрузкой (А – каталаза, Б – пероксидаза), ($M \pm m$)

Для активности ПЕР также установлена большая изменчивость в печени самцов, однако достоверные отличия получены только для морского ерша и спикары. В отличие от КАТ, активность ПЕР у самцов всех изученных видов была выше в б. Александровская. Такая же тенденция характерна и для самок морского ерша. Следует отметить, что активность ПЕР в печени самок и самцов морского ерша из б. Александровская в 4-6 раз выше, чем в б. Карантинная.

Таким образом, показано существенное влияние антропогенной нагрузки на все исследованные виды рыб разных полов.

Изменение активности КАТ в печени морского ерша из двух исследуемых акваторий в зависимости от возраста представлены на рисунке 4.14.

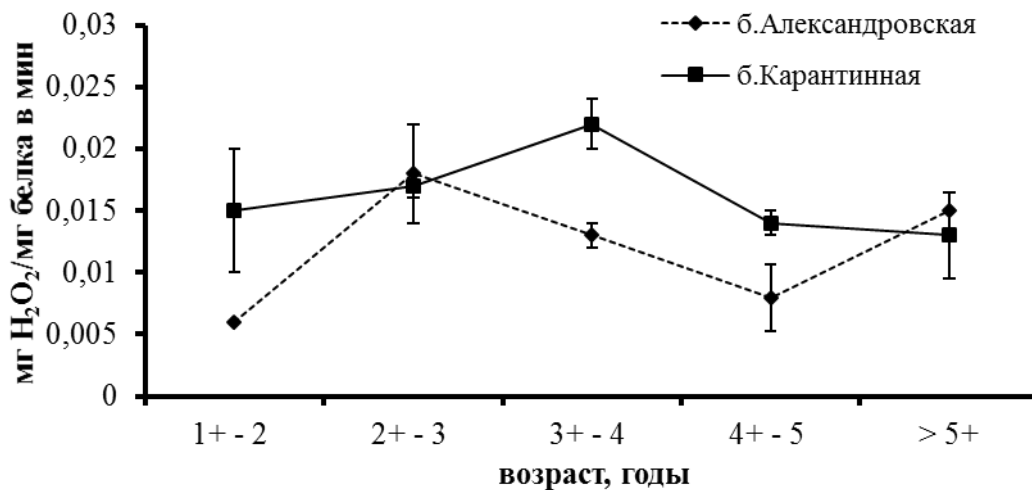


Рисунок 4.14 Активность каталазы в печени морского ерша разных возрастов из двух акваторий с различным уровнем антропогенной нагрузки, ($M \pm m$)

У рыб младших возрастных групп и у особей старше 5 лет из двух акваторий не установлено различий в активности КАТ в печени. Однако, в период полового созревания и в начале репродуктивного периода жизни (в возрасте 3 - 5 лет) выявлена достоверно большая активность КАТ в печени морского ерша из б. Карантинная.

При изучении возрастной динамики активности фермента в каждой бухте было установлено, что в б. Карантинной изменение активности КАТ в печени рыб с возрастом менее выражено, нежели в б. Александровской.

Изучение активности ПЕР в печени разновозрастных морских ершей из двух акваторий показало иную картину (рисунок 4.15).

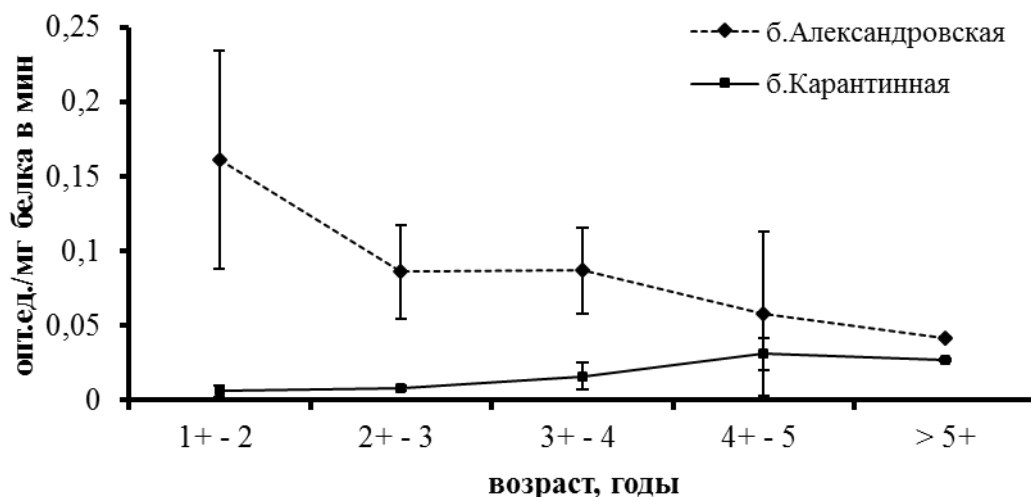


Рисунок 4.15 Активность пероксидазы в печени морского ерша разных возрастов из двух акваторий с различным уровнем антропогенной нагрузки, ($M \pm m$)

Во всех изученных возрастных группах, за исключением группы 4+ - 5 лет, активность ПЕР была значительно выше в печени рыб из б. Александровская. Изучение возрастной динамики активности фермента в печени рыб в каждой бухте показало снижение с возрастом у особей в б. Александровская, и повышение в б. Карантинная. Таким образом, несмотря на существенные отличия у молодых особей, с возрастом значения активности ПЕР в печени рыб из двух районов сближается.

Таким образом, было установлено влияние антропогенной нагрузки на разновозрастных рыб. Наиболее чувствительными оказались молодые особи, а с возрастом происходило сближение значений активности АОФ, что особенно наглядно видно на примере ПЕР.

Активность АОФ является хорошо зарекомендовавшим себя показателем состояния гидробионтов. Для исследованных видов установлена некоторая степень зависимости их принадлежности к экологической группе: для донных рыб показаны максимальные значения активности исследуемых ферментов в крови и минимальные в печени, у представителей придонной, придонно-

пелагической и пелагической групп в крови наблюдается меньшая активности АОФ по сравнению с морским ершом, а в печени – более высокая, за исключением ПЕР в печени ставриды. Отмечен высокий уровень связи активности ПЕР и КАТ в крови рыб. Активность АОФ мало зависит от половой принадлежности особей, достоверно снижается на протяжении всей жизни или же незначительно меняется. Получена значительная прямая и обратная коррелятивная связь между активностью ферментов и возрастом рыб. В крови и печени исследуемых видов наибольшая активность АОФ приходится на теплый период года, в то время как зимой она значительно ниже. Максимальная связь температуры воды и активности АОФ показана для КАТ в тканях морского ерша, для ПЕР корреляция ниже. У рыб других экологических групп связь между активностью ферментов и температурой воды выражена в меньшей степени, за исключением КАТ в крови султанки. Активность ПЕР в тканях рыб выше у особей из б. Александровская, так же как и КАТ крови морского ерша и печени султанки и спикары, однако в печени ставриды и морского ерша активность фермента выше у рыб из б. Карантинная. Показано существенное влияние антропогенной нагрузки рыб разных полов и возрастов, причем наиболее чувствительными оказались молодые особи.

РАЗДЕЛ 5

ОСОБЕННОСТИ АКТИВНОСТИ АМИНОТРАНСФЕРАЗ В ТКАНЯХ ЧЕРНОМОРСКИХ РЫБ

5.1 Видовые особенности активности аминотрансфераз в тканях черноморских рыб

Активность аминотрансфераз в крови черноморских рыб представлена на рисунке 5.1.

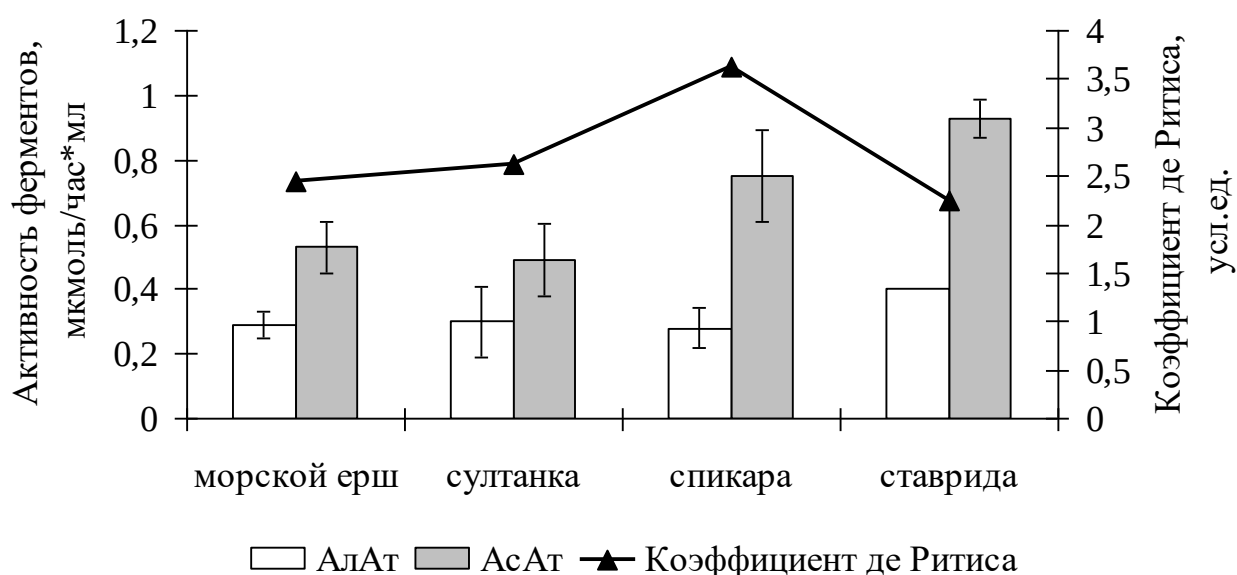


Рисунок 5.1 Активность аминотрансфераз в сыворотке крови рыб, ($M \pm m$)

Активность АлАт имела сходство у исследованных видов рыб и была ниже соответствующей величины АсАт. Максимальная активность АсАт выявлена в крови ставриды, минимальная – у султанки и морского ерша. Активность фермента в крови ставриды достоверно выше, чем у морского ерша и султанки ($p < 0,05$). Показатели спикары несколько ниже, нежели у ставриды, однако различия недостоверны.

Активность аминотрансфераз в печени исследуемых видов представлена на рисунке 5.2.

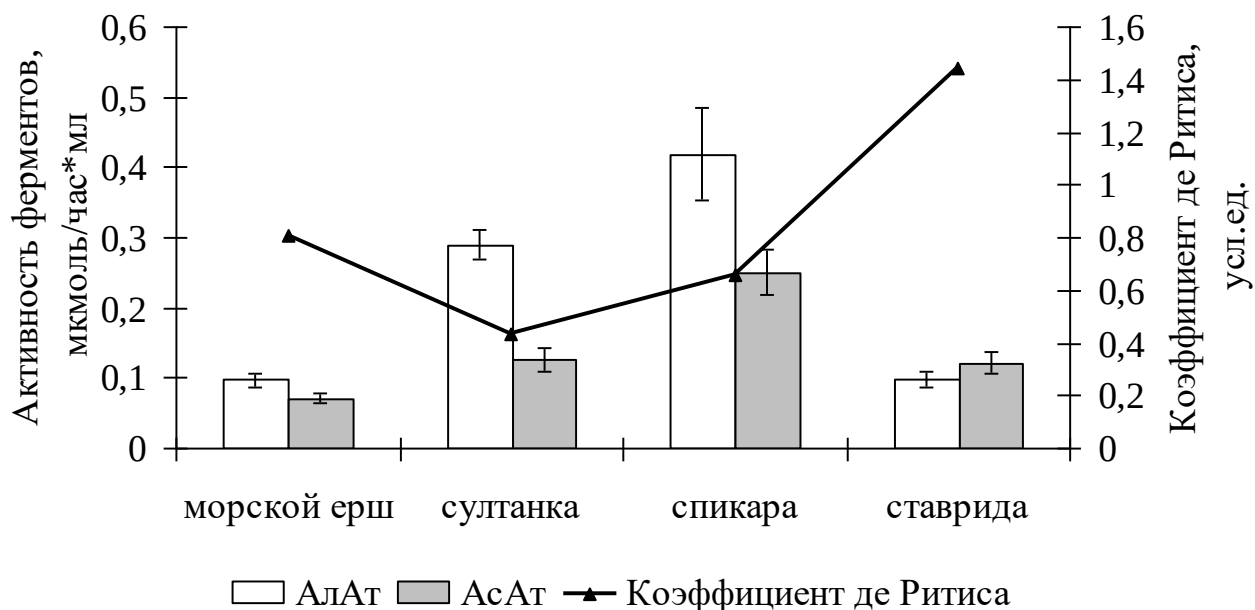


Рисунок 5.2 Активность аминотрансфераз в печени черноморских видов рыб, ($M \pm m$)

Максимальные значения АлАт и АсАт выявлены в печени спикары, минимальные – в печени морского ерша. Значения АлАт морского ерша и ставриды имели сходство. Активность АлАт в печени спикары и султанки достоверно выше, чем у морского ерша и ставриды. Отличий между активностью ферментов в печени султанки и спикары не обнаружено. Существенных отличий активности АсАт у ставриды и султанки также не установлено, однако активность фермента в печени морского ерша достоверно ниже, а у спикары – достоверно выше.

Коэффициент де Ритиса в крови исследованных рыб был одинаков, за исключением спикары. В печени различия в данном показателе более выражены: минимальные значения получены для султанки и максимальные для ставриды.

Таким образом, активность АлАт в крови мало зависит от экологической группы исследуемого вида, в то время как АсАт несколько возрастает в ряду донные – придонные – придонно-пелагические – пелагические. В печени активность аминотрансфераз также возрастает от донных к придонно-

пелагическим, однако у ставриды активность ферментов низкая и близка к значениям донного ерша. Следует отметить, что аналогичная тенденция была установлена для ПЕР в печени исследуемых рыб.

5.2 Половые особенности активности аминотрансфераз в тканях черноморских рыб

Была исследована активность аминотрансфераз в зависимости от пола в сыворотке крови на примере морского ерша (таблица 5.1). Установлено, что активность аминотрансфераз в сыворотке крови самок морского ерша практически в 2 раза выше, чем у самцов. Однако коэффициент де Ритиса одинаков у рыб обоих полов, лишь незначительно снижен в сыворотке самок.

Таблица 5.1 Активность аминотрансфераз и коэффициент де Ритиса в сыворотке морского ерша в зависимости от пола (мкмоль/час*мл, $M \pm m$)

	<i>Кол-во особей</i>	<i>АлАт</i>	<i>АсАт</i>	<i>Коэффициент де Ритиса</i>
Самки	24	$0,36 \pm 0,05^*$	$0,63 \pm 0,09^*$	2,72
Самцы	7	$0,17 \pm 0,05$	$0,31 \pm 0,09$	2,79

Примечание: * - достоверно по сравнению с самцами ($p < 0,05$)

Половые особенности активности аминотрансфераз в печени рыб представлены в таблице 5.2.

В основном активность аминотрансфераз в печени не зависит от пола (морской ерш, ставрида), имеет несколько более высокие значения у самок спикары по сравнению с самцами. Достоверные отличия уровня активности АлАт и АсАт выявлены только у султанки: у самцов активность фермента выше, нежели у самок. Коэффициент де Ритиса в крови и печени самок и самцов морского ерша практически одинаков. В печени ставриды и спикары он выше у самок, а у султанки – у самцов.

Таблица 5.2 Активность аминотрансфераз в печени черноморских рыб в зависимости от пола (мкмоль/час*мг, $M \pm m$)

Вид	Кол-во	Коэффициент		
	особей (шт.)	АлАт	АсАт	de Ритиса (усл.ед.)
Морской ерш	<u>33</u>	<u>0,106±0,011</u>	<u>0,076±0,011</u>	<u>0,79</u>
	15	0,094±0,014	0,067±0,011	0,79
Султанка	<u>32</u>	<u>0,255±0,016*</u>	<u>0,089±0,010*</u>	<u>0,72</u>
	14	0,369±0,049	0,219±0,050	0,61
Спикара	<u>15</u>	<u>0,593±0,152</u>	<u>0,352±0,077</u>	<u>1,32</u>
	30	0,454±0,140	0,285±0,098	1,08
Ставрида	<u>14</u>	<u>0,094±0,012</u>	<u>0,119±0,024</u>	<u>0,34</u>
	12	0,104±0,021	0,123±0,016	0,65

Примечание: * - достоверно по сравнению с самцами ($p < 0,05$). В знаменателе указаны значения для самок, в числителе – для самцов

Таким образом, для большинства изученных видов не выявлено достоверных половых отличий активности аминотрансфераз в печени (исключением является султанка, у которой активность фермента выше у самцов). В сыворотке морского ерша установлено достоверно более высокое значение активности аминотрансфераз у самок.

5.3 Возрастные особенности активности аминотрансфераз в тканях черноморских рыб

Активность АлАт в сыворотке крови скорпены разного возраста меняется неоднозначно. Отмечено снижение активности данного фермента у 8-летних особей, однако у 9-летних наблюдается выраженное возрастание данного показателя. У рыб старшей возрастной группы активность фермента снижается. Корреляция между возрастом и активностью АлАт незначительна ($r = 0,23$) (таблица 5.3).

Таблица 5.3 Возрастная динамика активности аминотрансфераз в сыворотке морского ерша (мкмоль/час*мл, $M \pm m$)

<i>Возраст, годы</i>	<i>Кол-во особей (шт.)</i>	<i>АлАт</i>	<i>АсАт</i>	<i>Коэффициент де Ритиса (усл. ед.)</i>
< 4+	4	$0,25 \pm 0,1$	$0,26 \pm 0,15$	4,17
4+ - 5	2	$0,42 \pm 0,16$	$0,50 \pm 0,21$	1,16
5+ - 6	4	$0,26 \pm 0,03$	$0,36 \pm 0,14$	1,41
6+ - 7	6	$0,36 \pm 0,09$	$0,73 \pm 0,21$	2,11
7+ - 8	6	$0,16 \pm 0,08$	$0,40 \pm 0,09$	3,2
8+ - 9	3	$0,67 \pm 0,35$	$1,30 \pm 0,21^*$	2,85
> 9+	7	$0,28 \pm 0,08$	$0,44 \pm 0,12^{**}$	1,53

Примечание: * - достоверно по сравнению с 8-летними особями, ** - достоверно по сравнению с 9-летними ($p < 0,05$)

Характер изменений активности АсАт аналогичен и для АлАт, за исключением того, что уменьшение активности аминотрансферазы у 9-летних особей достоверно по сравнению со значениями активности фермента у старших особей. Выявлена умеренная корреляция между активностью АсАт и возрастом рыб ($r = 0,48$). Установлена значительная связь между активностью АлАт и АсАт ($r = 0,91$). Коэффициент де Ритиса в сыворотке скорпены возрастает к 8 годам, а затем снижается у рыб 9 лет и более старших возрастных групп.

Таким образом, повышению активности аминотрансфераз в сыворотке 9-летних морских ершей предшествовало возрастание коэффициента де Ритиса у 8-летних. Отмечено снижение активности ферментов и значений коэффициента де Ритиса у рыб старших возрастных групп.

В ходе исследований изучена возрастная динамика аминотрансфераз в печени морского ерша, спикары, ставриды и султанки, отловленных в акваториях г. Севастополя (таблица 5.4)

Минимальная активность АлАт установлена у 2-х летних особей морского ерша, затем наблюдается ее возрастание к 3 годам и последующее снижение к 4-летнему возрасту. Далее активность фермента незначительно повышалась к 6 годам. У старших рыб отмечено достоверное снижение данного показателя. Связи между возрастом морского ерша и активностью АлАт в печени не установлено.

Активность АсАт была максимальной у 2-летних рыб, достоверно снижалась у особей 4-х лет, затем оставалась примерно на одном уровне, а у рыб старшей возрастной группы падала. Выявлена значительная корреляция между активностью АсАт и возрастом скорпены ($r = -0,87$). Максимальный коэффициент де Ритиса был установлен для рыб 4-летнего возраста, а минимальный - для особей 6 лет. Начиная с 4-летнего возраста отмечено снижение данного показателя. При достижении 3-х летнего возраста у спикары установлено повышение активности аминотрансфераз в печени. У особей старших возрастных групп наблюдается постепенное снижение активности данных ферментов, которое становится достоверным у 5-летних особей. Корреляция между возрастом и активностью аминотрансфераз в печени спикары незначительна ($r = -0,34$). Коэффициент де Ритиса слабо варьирует во всех возрастных группах спикары, снижаясь с возрастом.

Активность АлАт и АсАт достоверно снижается у ставриды в группе 1+ - 2 года, по сравнению с показателями из группы 0+ - 1, и затем несколько повышается у рыб более старшей возрастной группы. Данные изменения ферментативной активности более выражены для АлАт. Корреляция между возрастом и активностью АлАт выражена значительно ($r = -0,69$), в то время как для АсАт данная связь слабая ($r = -0,28$). Несмотря на снижение активности аминотрансфераз в печени ставриды коэффициент де Ритиса существенно возрастает у 2-х летних рыб и сохраняется на этом уровне у 3-х летних

Таблица 5.4 Возрастная динамика активности аминотрансфераз в печени черноморских рыб (мкмоль/час*мг, $M \pm m$)

<i>Возраст, годы</i>	<i>Кол-во особей (шт.)</i>	<i>АлАт</i>	<i>АсАт</i>	<i>Коэффициент де Ритиса (усл.ед.)</i>
Морской ерш				
1+ - 2	2	0,079	0,15 $\pm$ 0,09	0,79
2+ - 3	11	0,14 $\pm$ 0,03	0,10 $\pm$ 0,01	0,75
3+ - 4	18	0,08 $\pm$ 0,01	0,06 $\pm$ 0,01*	0,9
4+ - 5	9	0,10 $\pm$ 0,01	0,07 $\pm$ 0,01	0,72
5+ - 6	5	0,13 $\pm$ 0,02	0,06 $\pm$ 0,01	0,6
> 6 +	5	0,08 $\pm$ 0,01**	0,04 $\pm$ 0,01	0,7
Спикара				
1+ - 2	9	0,37 $\pm$ 0,11	0,22 $\pm$ 0,05	0,7
2+ - 3	17	0,66 $\pm$ 0,16	0,49 $\pm$ 0,15	0,69
3+ - 4	16	0,46 $\pm$ 0,11	0,26 $\pm$ 0,03	0,62
4+ - 5	5	0,28 $\pm$ 0,08*	0,17 $\pm$ 0,01*	0,67
Султанка				
0+ - 1	9	0,40 $\pm$ 0,06	0,21 $\pm$ 0,06	0,59
1+ - 2	11	0,30 $\pm$ 0,04	0,15 $\pm$ 0,03	0,53
2+ - 3	12	0,30 $\pm$ 0,03	0,13 $\pm$ 0,02	0,45
> 3 +	4	0,24 $\pm$ 0,04 [■]	0,07 $\pm$ 0,01 [■]	0,37
Ставрида				
0+ - 1	2	0,21 $\pm$ 0,03	0,17 $\pm$ 0,02	0,79
1+ - 2	15	0,08 $\pm$ 0,01 [■]	0,10 $\pm$ 0,01 [■]	1,26
2+ - 3	9	0,11 $\pm$ 0,02	0,15 $\pm$ 0,03	1,26

Примечание: * - достоверно по сравнению с 3-летними особями, ** - достоверно по сравнению с 6-летними особями ($p < 0,05$); [■] - достоверно по сравнению с 1-летними особями ($p < 0,05$)

Активность АлАт и АсАт в печени султанки достоверно снижается с возрастом, причем для АсАт данная тенденция выражена более четко. Корреляция между активностью аминотрансфераз в печени данного вида и возрастом очень высокая ($r = -0,94$ для АлАт и $r = -0,98$ для АсАт). Коэффициент де Ритиса в печени султанки является максимальным у молодых особей и значительно снижается у рыб из самой старшей возрастной группы.

Таким образом, активность аминотрансфераз в тканях черноморских рыб, колеблется в течение всей жизни, тем не менее, установлена тенденция к снижению показателя у особей старших возрастных групп.

5.4 Сезонные особенности активности аминотрансфераз в тканях черноморских рыб

Влияние сезона на активность аминотрансфераз в сыворотке крови морского ерша приведено на рисунке 5.3.

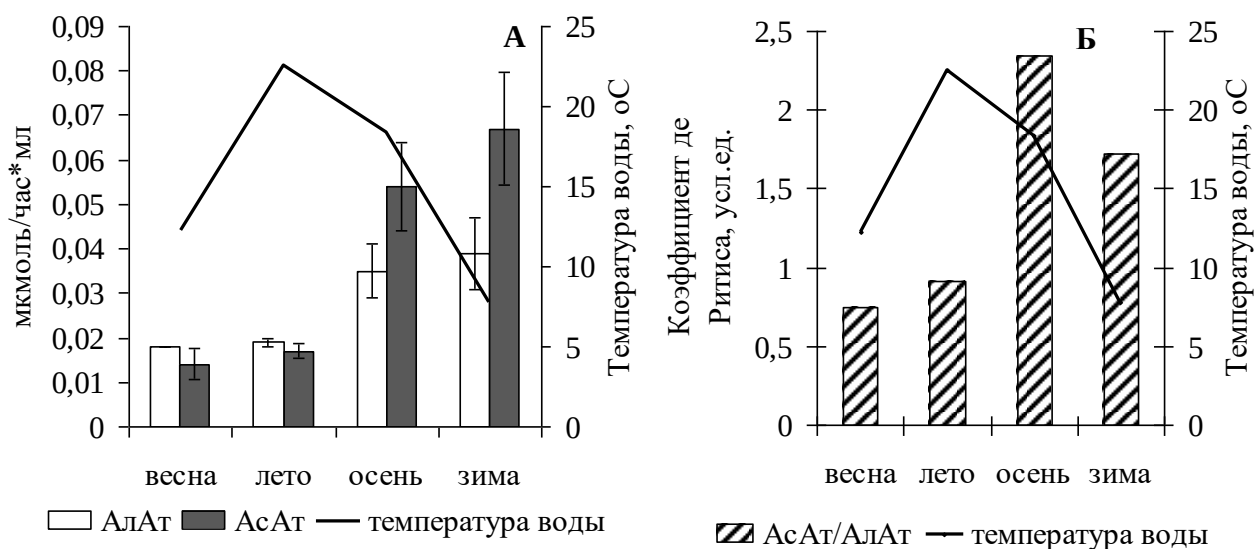


Рисунок 5.3 Сезонная динамика активности аминотрансфераз (А) ($M \pm m$) и коэффициента де Ритиса (Б) в сыворотке черноморского ерша

Минимальная активность ферментов в крови ерша установлена весной и летом. К осени данный показатель возрастает в 2 раза для АлАт и в 3 раза для АсАт ($p < 0,05$). Зимой активность обоих ферментов продолжает незначительно

повышаться. Коэффициент де Ритиса также минимален в весенне-летний период, после чего происходит его резкий подъем осенью, и некоторое снижение зимой.

Сезонная динамика активности аминотрансфераз в печени исследуемых видов рыб представлена на рисунке 5.4.

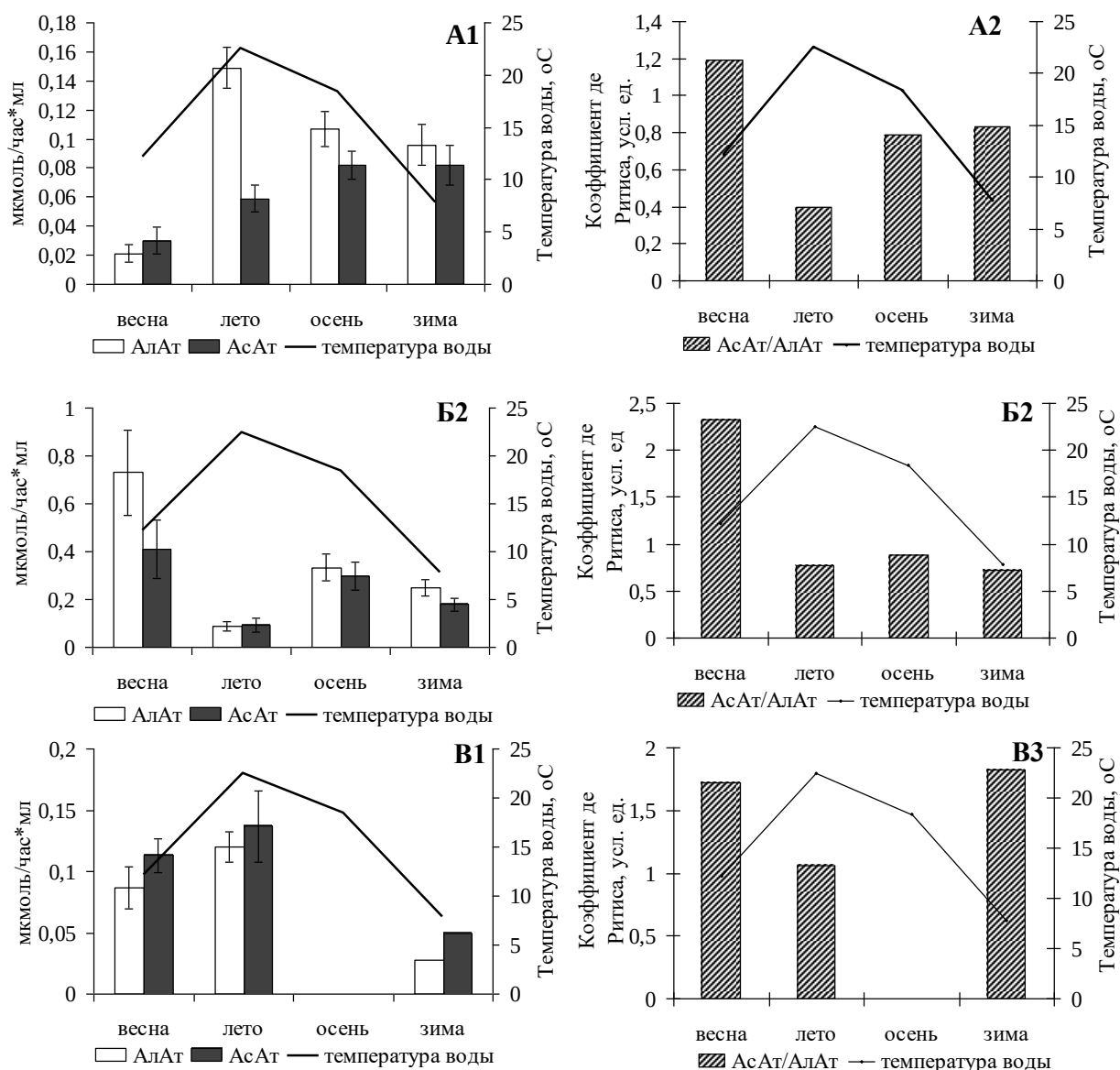


Рисунок 5.4. Сезонная динамика активности аминотрансфераз (1) ($M \pm m$) и коэффициента де Ритиса (2) в печени черноморских рыб (А - морской ерш, Б - спикара, В - ставрида)

Для АлАт и АсАт ерша установлено достоверное повышение активности в летний период по сравнению с весенним ($p < 0,05$). Активность АлАт возрастает более чем в 7 раз. Осенью активность АлАт снижается, а АсАт незначительно

возрастает. В зимний период активность АлАт несколько падает, а АсАт остается на прежнем уровне. К весеннему сезону активность обоих ферментов достоверно снижается ($p < 0,05$). Для коэффициента де Ритиса характерна противоположная картина: максимальные его значения приходятся на весну, когда показатель почти в 2 раза выше в печени морского ерша по сравнению с летними и зимними.

Максимальная активность аминотрансфераз в печени спикары установлена весной. Летом данный показатель снижается в 8,4 раз для АлАт и в 4,4 раза для АсАт по сравнению с весенним периодом. Однако осенью наблюдается рост активности ферментов: для АлАт в 3,9 раз, для АсАт – в 3,2 раза по сравнению с летним периодом. К зиме активность обоих ферментов несколько падает (для АсАт достоверно ($p < 0,05$)). Коэффициент де Ритиса в печени спикары повторяет колебания активности ферментов: максимальный весной, существенно снижается летом, незначительно возрастает к осени и затем снижается к зиме.

Установлено незначительное возрастание активности аминотрансфераз в печени ставриды в летний период по сравнению с весенним и затем снижение активности обоих ферментов зимой. Коэффициент де Ритиса остается на одном уровне зимой и весной, однако летом выявлено падение данного показателя.

Таким образом, для всех исследованных видов рыб установлена связь активности аминотрансфераз в печени и температуры воды (прямая значительная (морской ерш $r = 0,62$) и отрицательная умеренная (спикара $r = - 0,44$)). Так же обнаружена сильная коррелятивная связь между активностью обоих аминотрансфераз в разные сезоны года у спикары ($r = 0,96$) и значительная для морского ерша ($r = 0,63$). Связь коэффициента де Ритиса с температурой воды обратная – значительная для морского ерша ($r = - 0,69$) и слабая для спикары ($r = - 0,26$). В сыворотке морского ерша минимальная активность наблюдается в весенне-летний период и максимум – осенью и зимой.

5.5 Активность аминотрансфераз в тканях черноморских рыб, обитающих в бухтах с различной антропогенной нагрузкой

Влияние антропогенной нагрузки на активность АлАт и АсАт в крови морского ерша, отловленного в бухтах Карантинная, Александровская и Стрелецкая приведено на рисунке 5.5.

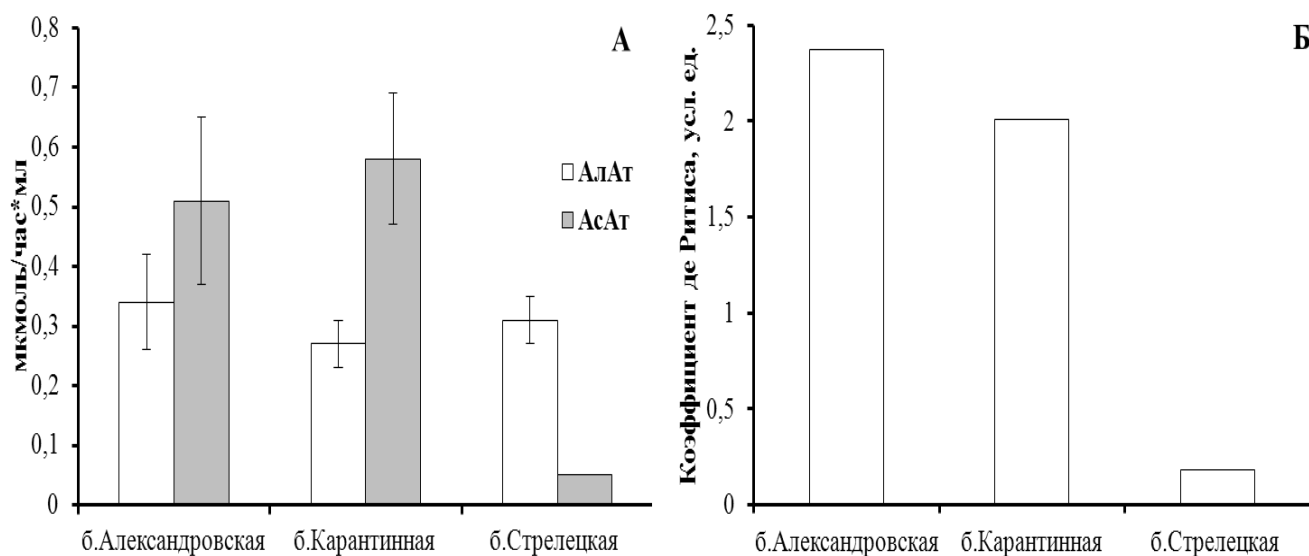


Рисунок 5.5 Активность аминотрансфераз (А) ($M \pm m$) и коэффициент де Ритиса (Б) в крови морского ерша, отловленного в 3х акваториях г. Севастополя

Различий активности АлАт в крови исследованных рыб из трех бухт не установлено. Не обнаружено достоверных отличий активности АсАт у рыб из б. Карантинная и Александровская, однако отмечено в 10 раз более низкое значение активности фермента у рыб в б. Стрелецкая. У ряда особей из данного района активность АсАт в крови не регистрировали.

Максимальные значения коэффициента де Ритиса установлены в крови рыб из б. Александровская, несколько ниже данный показатель у рыб в б. Карантинная. У морского ерша из б. Стрелецкая коэффициент де Ритиса в 12 раз ниже, чем у рыб из двух других акваторий.

Изменение активности аминотрансфераз в печени в зависимости от антропогенной нагрузки было исследовано у морского ерша, султанки, спикары и ставриды (рисунок 5.6).

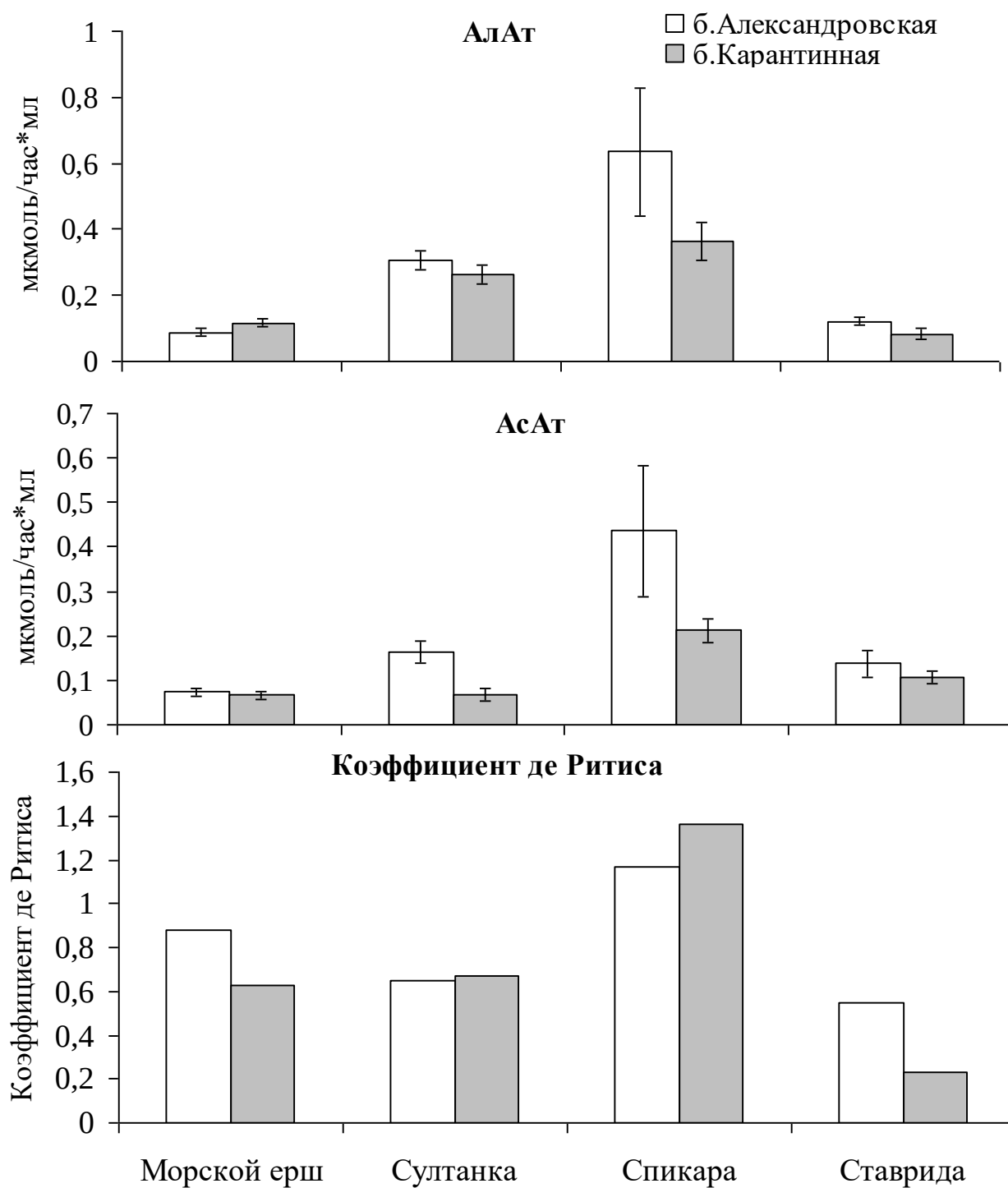


Рисунок 5.6 Активность аминотрансфераз ($M \pm m$) и коэффициент де Ритиса в печени черноморских рыб, обитающих в бухтах с различной антропогенной нагрузкой

В печени морского ерша установлена достоверно более высокая активность АлАт у рыб из б. Карантинная, активность АсАт не имеет достоверных отличий у

особей из двух районов. У придонной султанки активность АлАт одинакова в обоих исследуемых районах, а АсАт выше у рыб из бухты Александровская ($p < 0,05$). В печени спикары и ставриды выявлена более высокая активность АлАт и АсАт в б. Александровской, однако, различия недостоверны.

Из представленных данных видно, что коэффициент де Ритиса одинаков в печени султанки, близкие значения у морского ерша и спикары из двух районов. У ставриды в б. Александровская значения показателя в 2 раза выше, чем у особей из б. Карантинная.

Таким образом, активность аминотрансфераз в печени донных рыб выше в б. Карантинная, для придонных, придонно-пелагических и пелагических – в б. Александровская. Коэффициент де Ритиса выше у придонно-пелагических рыб в б. Карантинная, а у пелагических и донных - в б. Александровская. Полученные результаты могут указывать как на антропогенное влияние, так и на видовую специфичность изучаемых параметров. В сыворотке уровень АлАт морского ерша одинаков, а АсАт существенно ниже в б. Стрелецкая.

Была исследована активность АлАт, АсАт и рассчитан коэффициент де Ритиса в печени самок и самцов рыб (рисунок 5.7).

В печени самок и самцов морского ерша и султанки из двух исследуемых акваторий отличий в активности АлАт не выявлено. Для самцов спикары и ставриды обоих полов установлена достоверно более высокая активность фермента в печени рыб из б. Александровская.

Как и для АлАт, различий активности АсАт у самок и самцов морского ерша из двух акваторий не обнаружено. Так же не выявлено отличий активности фермента в печени спикары и ставриды, однако как для самок, так и для самцов данного вида установлена значительно большая активность АсАт у рыб из б. Александровская. У султанки обнаружено превышение более чем в 2 раза активности исследуемого фермента в печени рыб из б. Александровская.

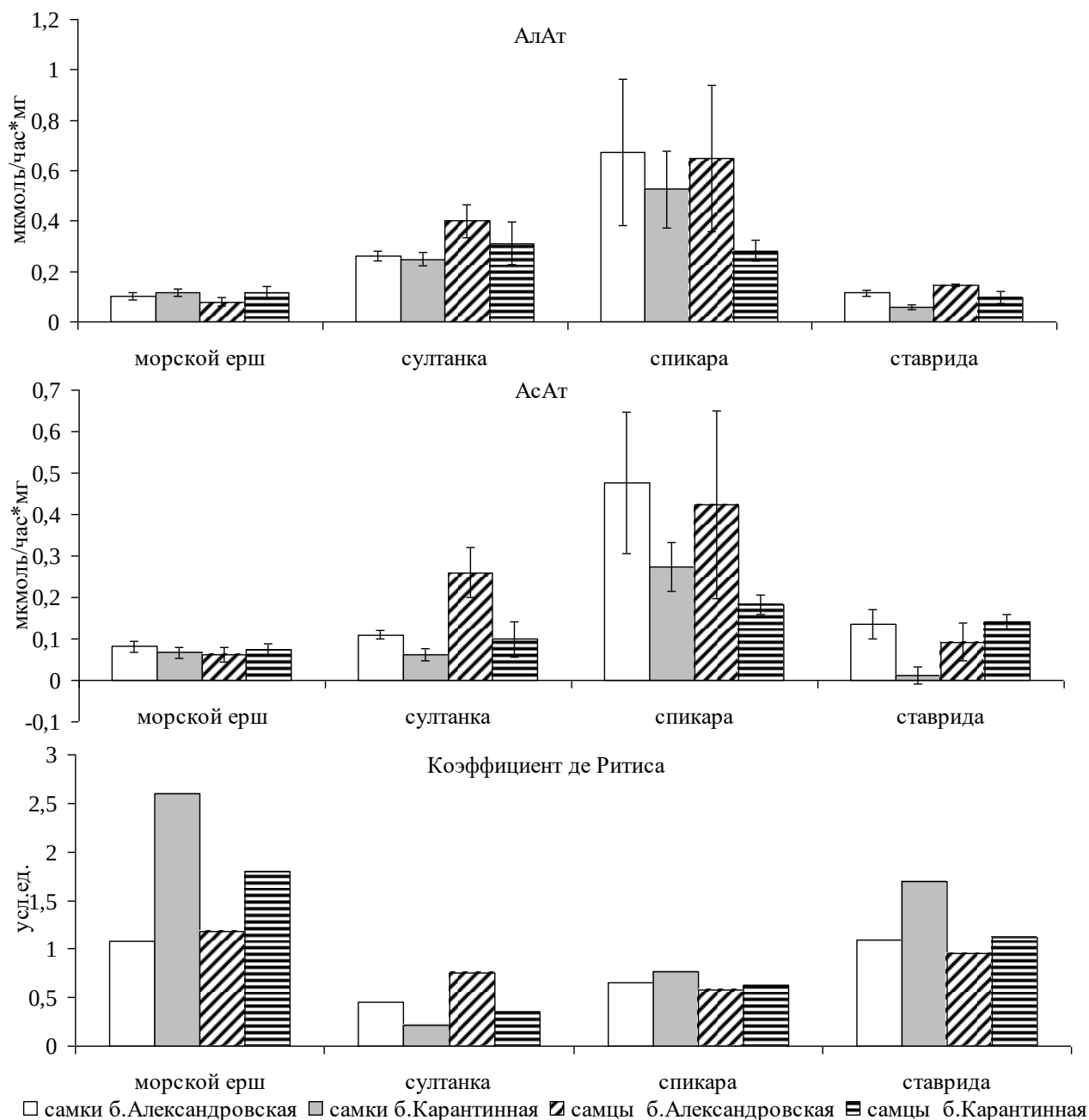


Рисунок 5.7 Половые особенности активности аланинаминотрансферазы, аспаратаминотрансферазы и коэффициента де Ритиса в печени самок и самцов черноморских рыб, обитающих в бухтах с различной антропогенной нагрузкой, ($M \pm m$)

Несмотря на отсутствие отличий в активности ферментов, коэффициенты де Ритиса у морского ерша сильно варьируют. Коэффициент де Ритиса у самок из б.

Карантинная в 2,5 раза выше, чем у самок из б. Александровская. У самцов из б. Карантинная так же показано существенно большее значение данного показателя.

Спикара не имеет отличий в значениях коэффициента де Ритиса ни у самок, ни у самцов из двух районов. У самок и самцов султанки установлены более высокие коэффициенты в б. Александровской. У самок ставриды, как и у самок морского ерша коэффициент де Ритиса выше в б. Карантинная, у самцов значения в двух бухтах близки.

Таким образом, активность аминотрансфераз в печени рыб разного пола проявляет различную чувствительность к антропогенному загрязнению в зависимости от вида. В печени самцов наибольшим изменениям подвергается активность АлАт, а в печени самок – АсАт. У некоторых видов половых различий у особей из двух исследуемых акваторий не выявлено. Коэффициент де Ритиса имел наибольшие отличия у разнополых особей морского ерша из двух бухт - вида, показавшего наименьшие половые различия в активности ферментов. Следует отметить тот факт, что коэффициент де Ритиса в печени некоторых видов был выше в б. Карантинная, в то время как активность обеих аминотрансфераз выше у рыб в б. Александровская.

Исследовали возрастную динамику активности аминотрансфераз в печени морского ерша, султанки, спикары и ставриды из двух акваторий (рисунок 5.8).

В печени ершей в возрасте от 3+ до 6 лет установлен в два раза более высокий уровень активности АлАт у особей из б. Карантинная ($p < 0,05$). Для АсАт выявлена аналогичная тенденция. Наиболее выражены изменения в возрастной группе 4+ - 5 лет. У старших рыб отмечена иная закономерность: активность АлАт выше у ерша из б. Карантинная, в то время как активность АсАт достоверно увеличивается у рыб из б. Александровская ($p < 0,05$).

Достоверных отличий активности аминотрансфераз в печени султанки из двух бухт не установлено ни для одной из исследованных возрастных групп. Однако следует отметить, что уровень активности АлАт в печени

разновозрастных рыб был выше в б. Карантинная, в то время как активность АсАт - в б. Александровская.

Для всех исследованных возрастных групп спикары (исключение 4+ - 5 лет для АлАт) установлен более высокий уровень активности аминотрансфераз в печени рыб в б. Александровская. Различия достоверны для АлАт в возрастной группе 3+ - 4 и АсАт в группе 2+ - 3 года ($p < 0,05$). Показатели активности обоих ферментов у рыб из б. Александровская варьируют значительно сильнее, нежели в б. Карантинная у рыб одинакового возраста.

Для двух исследованных возрастных групп ставриды отмечен более высокий уровень активности АлАт и АсАт в б. Александровская. Особенно выражено увеличение активности АлАт у рыб из б. Александровская для особей из группы 1+ - 2 года. Активность АлАт в печени рыб из данного района превышает в 2 раза показатели рыб из б. Карантинная. В то же время значения активности АсАт в печени рыб из двух районов близки.

Коэффициент де Ритиса в печени черноморских рыб из б. Карантинная и Александровская меняются неоднозначно (рисунок 5.9).

Таким образом, изучение влияния антропогенной нагрузки на активность аминотрансфераз в печени разновозрастных рыб позволило установить ряд особенностей. В печени донного вида (морского ерша) уровень активности аминотрансфераз выше у рыб из б. Карантинная, у придонного (султанки) – АлАт в б. Карантинная, а АсАт в б. Александровская, а для придонно-пелагического и пелагического (спикары и ставриды) – активность ферментов выше в б. Александровская. Возрастные изменения активности аминотрансфераз в печени морского ерша из двух районов неоднозначны. В печени спикары и султанки из б. Александровская отмечено снижение активности обоих ферментов и АсАт в печени спикары из б. Карантинная.

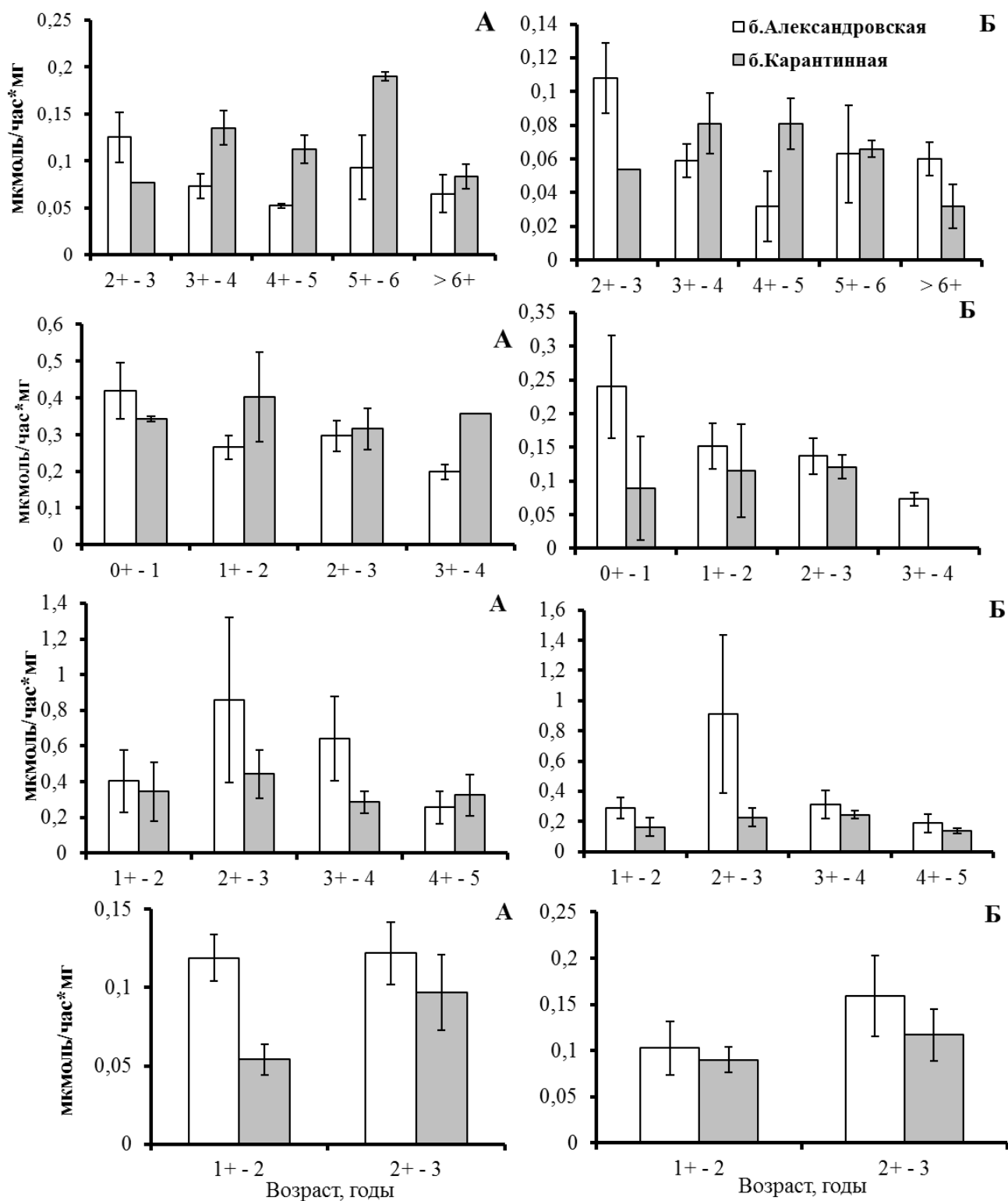


Рисунок 5.8 Активность аминотрансфераз в печени рыб разных возрастных групп, обитающих в бухтах с различным уровнем антропогенной нагрузки (А – активность АлАт, Б – активность АсАт), ($M \pm m$)

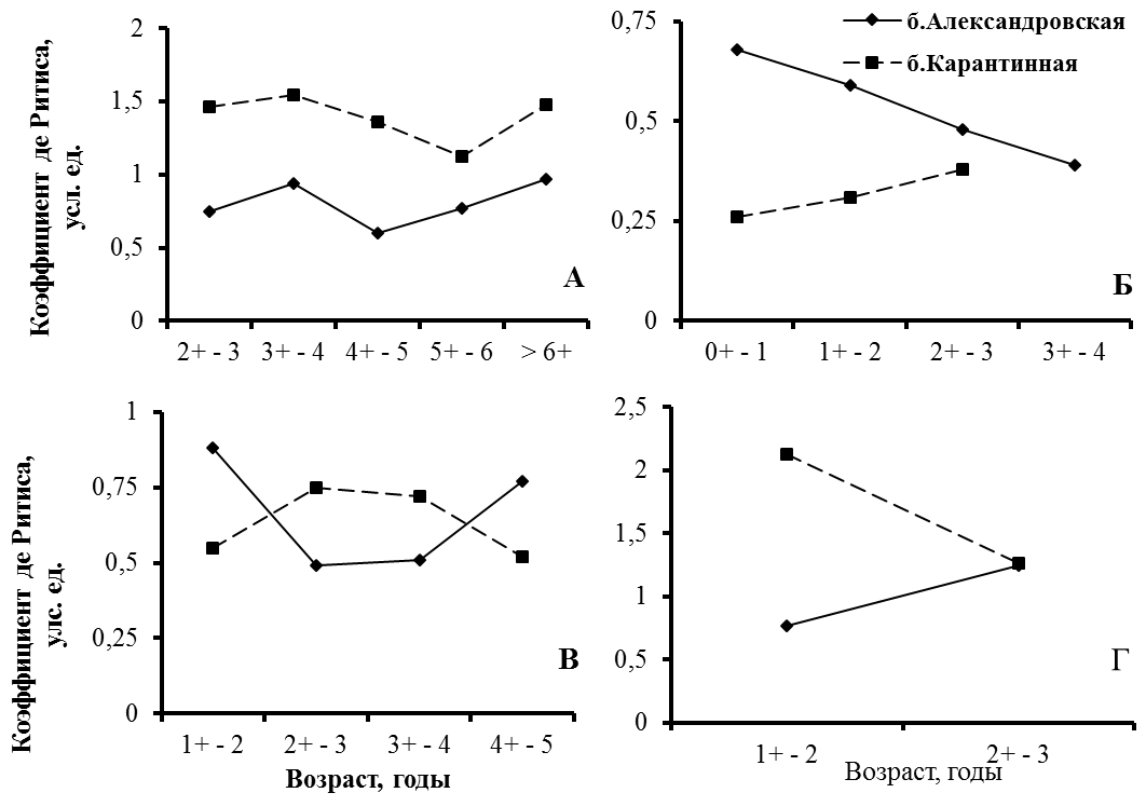


Рисунок 5.9 Коэффициент де Ритиса в печени черноморских рыб разных возрастных групп, обитающих в бухтах с различным уровнем антропогенной нагрузки (А – морской ерш, Б – султанка, В – спикара, Г - ставрида)

У ставриды установлено возрастание активности АлАт у более взрослых особей из б. Карантинная. Коэффициент де Ритиса в печени скорпены имеет одинаковую тенденцию изменений с возрастом, хотя у рыб из б. Карантинная он выше такового по сравнению с особями из б. Александровская. В печени султанки и ставриды выявлена общая закономерность изменений коэффициента де Ритиса: между молодыми особями из двух бухт обнаружены значительные различия, однако у старших возрастных групп наблюдается сближение значений данного показателя. У спикары из двух районов коэффициент де Ритиса меняется разнонаправлено.

Активность АлАт в крови мало зависит от экологической группы исследуемого вида, в то время как активность АсАт и обоих ферментов в печени

несколько возрастает в ряду донные – придонные – придонно-пелагические – пелагические. Для большинства изученных видов не выявлено достоверных половых отличий активности аминотрансфераз в печени (исключением является султанка), а сыворотке морского ерша установлены достоверно более высокие показатели у самок. Активность ферментов в тканях черноморских рыб, колеблется в течение всей жизни, тем не менее, установлена тенденция к снижению значений у особей старших возрастных групп. Для всех исследованных видов рыб установлена связь активности аминотрансфераз в тканях и температуры воды (прямая значительная для морского ерша и отрицательная умеренная для спикары). Так же обнаружена сильная коррелятивная связь между активностью обоих аминотрансфераз в разные сезоны года у спикары и значительная для морского ерша. Связь коэффициента де Ритиса с температурой воды обратная – значительная для морского ерша и слабая для спикары. Активность аминотрансфераз в печени донных рыб выше в б. Карантинная, для придонных, придонно-пелагических и пелагических – в б. Александровская. Коэффициент де Ритиса выше у придонно-пелагических рыб в б. Карантинная, а у пелагических и донных - в б. Александровская. Активность аминотрансфераз в печени рыб разного пола и возраста проявляет различную чувствительность к антропогенному загрязнению.

РАЗДЕЛ 6

ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Исследование состояния гидробионтов на всех уровнях их биологической организации представляет ключевое звено мониторинга морской среды. Наиболее важными и интересными объектами в этом плане являются рыбы – одни из наиболее многочисленных морских животных, являющихся ключевым компонентом экосистемы и находящихся на вершине трофической цепи. Кроме того, рыбы - важные объекты промысла, и оценка их состояния представляет существенный практический интерес. Они являются важнейшими индикаторами состояния морской среды, и их качественное и количественное разнообразие характеризует степень экологического благополучия или неблагополучия акваторий [60, 78].

На физиологическое состояние и здоровье рыб оказывают влияние множество факторов. С одной стороны, это внутренние факторы, такие как принадлежность к полу, возрасту, стадии репродуктивного цикла, с другой стороны это внешние факторы – сезон, загрязнение среды обитания и др. В связи с этим представляет интерес исследования влияния данных факторов, как по отдельности, так и совместно.

Исследуемые рыбы являются наиболее многочисленными в акваториях г. Севастополя [13]. В последние годы наблюдаются разносторонние изменения прибрежной ихтиофауны. Авторами отмечается постепенное восстановление видового разнообразия [13, 60], увеличение доли старых особей в популяциях [269], ускорение линейного и весового роста, повышение длины и массы молодых особей некоторых видов, а также увеличение упитанности рыб [61, 269]. С другой стороны, у ряда видов установлено «мельчание» особей, омоложение популяций в целом, смещение видового разнообразия в сторону промысловых видов [50, 51, 61, 269].

Таким образом, мониторинг прибрежной ихтиофауны позволяет отследить и, возможно, спрогнозировать состояние популяций отдельных видов рыб, что

является важным как практическим, так и прикладным аспектом современной науки.

Литературных данных, посвященных исследованию эндогенной интоксикации и окислительной модификации у различных видов рыб практически нет. Полученные нами данные показывают более низкое содержание олигопептидов в тканях морского ерша, представителя донной группы, по сравнению с другими исследуемыми видами, что согласовывается с данными полученными другими исследователями [91]. Уровень ОМБ в крови ерша также ниже, чем у спикары и ставриды, однако выше чем у султанки. В крови уровень ЭИ султанки, спикары и ставриды близок, а в печени спикары содержание олигопептидов несколько выше, чем у ставриды, однако различия не достоверны. Тем не менее, по-видимому, не только видовая принадлежность и экологическая группа, но и тканеспецифичность, а также функции, которые выполняет тот или иной орган оказывают влияние на данный показатель.

Другие авторы подтверждают, что иммунологические и прооксидантно-оксидантные параметры также не имели особых достоверных отличий между экологическими группами рыб [46, 49, 92].

Литературных данных об окислении белков, их фрагментации и агрегации у гидробионтов разного пола практически нет. Однако имеются сведения о том, что половые отличия в уровне ОМБ отсутствуют в печени кумжи *Salmo trutta*. Известно, что при дермальном некрозе, сопровождающемся активным разрушением белков, у рыб обоих полов уровень ОМБ возрастает одинаково [207]. Можно предположить, что уровень ЭИ у самок и самцов не отличается. Проведенные ранее исследования ОМБ в сыворотке крови черноморских рыб также показали отсутствие половых отличий [91].

Тем не менее, нами были обнаружены половые отличия в уровне ЭИ в крови султанки и спикары. У речного окуня *Perca fluviatilis*, отловленного в водоемах с различным содержанием ртути, динамика количественных трансформаций в спектре низкомолекулярных пептидов также имела половые

особенности. Авторы предположили, что самцы более чувствительны к хроническому воздействию повышенных концентраций ртути, чем самки [19].

Установлено, что у самцов копепод на 30-37 сутки уровень содержания карбонилированных белков значительно выше, чем у самок. Однако потомство, полученное от более взрослых самок, имело более высокие значения данного показателя, нежели потомство молодых самок. По-видимому, это связано с тем, что для самок характерен больший по сравнению с самцами оборот биомассы в течение репродуктивного периода. Половые продукты самок копепод могут достигать 37-50% массы тела, в то время как у самцов всего 2%. Оборот биомассы белка включает в себя и передачу окисленных белков и продуктов их распада потомству. Этот механизм может ограничивать накопление продуктов деградации белков у самок, но не у самцов [191]. Возможно, в некоторой степени аналогичное явление происходит в организме самок рыб. Известно, что гонадо-соматический индекс самок большинства видов рыб значительно выше, нежели самцов [62].

Одним из альтернативных объяснений обнаруженных половых отличий может быть тот факт, что производимый самками белок вителлогенин обладает антиоксидантными свойствами [248].

Таким образом, половые отличия уровня ЭИ в тканях большинства исследованных черноморских рыб выражены слабо.

С возрастом продукты окисления и распада белков накапливаются в организме многих животных: от дрожжей [136] и кишечной палочки [227] до двустворчатых моллюсков [153, 239] и человека [136]. Получены некоторые данные и для рыб [274].

С. Е. Финч (1990) выделял несколько моделей старения: быстрое, постепенное и незначительное [182]. Все эти типы можно встретить у рыб. Например, тихоокеанские лососи и угри характеризуются быстрым старением и внезапной смертью практически после первого нереста, в то время как гуппи, меченосцы, оризии и многие другие костистые рыбы постепенно стареют, что свойственно и млекопитающим. С другой стороны, некоторые рыбы, включая окуня и карпа, показывают неопределенный рост без признаков повышенной

смертности, в соответствии с возможностью очень медленного или даже незначительного старения. Большинство черноморских рыб относятся к организмам с постепенным старением, продолжают расти и после полового созревания, и долгое время не проявляют признаков репродуктивного старения при достаточном питании и соответствующих условиях окружающей среды [62, 90].

Известно, что возрастные изменения в содержании продуктов окисления белков (как олигопептидов, так и карбонилированных белков) сильно различаются у животных с разными типами старения. У видов с окончательным ростом содержание продуктов ОМБ и ЭИ имеет тенденцию к увеличению с возрастом, хотя оно может быть модифицировано под действием различных факторов, влияющих на белковый обмен [267, 299]. В противоположность этому, у видов с неограниченным ростом такой тенденции не обнаружено. Так в тканях очень старой 192-летней исландской циприны *Arctica islandica* показан очень низкий уровень содержания окисленных белков, что свидетельствует об эффективном самоочищении организма от поврежденных макромолекул [240]. Нет возрастных отличий степени карбоксилирования белков у устрицы *Crassostrea virginica* и твердого моллюска *Mercenaria mercenaria* [199].

Процессы усиленного накопления продуктов распада белков с возрастом показаны для многих тканей: скелетных мышц данио [299], печени мышей [163], печени и мозга кумжи [164], мышцах ерша [69].

Полученные нами данные позволили разделить всех исследованных рыб на 3 группы в зависимости от возрастной тенденции содержания олигопептидов (таблица 6.1). Следует отметить, что у ряда видов установлено повышение уровня ЭИ в определенном возрасте, по-видимому, связанное с наступлением половой зрелости.

Таблица 6.1 Динамика возрастных изменений эндогенной интоксикации в крови черноморских рыб

<i>Группа</i>	<i>Динамика ЭИ</i>	<i>Виды</i>	
		<i>кровь</i>	<i>печень</i>
1	Снижается с возрастом	морской ерш, спикара, кефаль-сингиль, ставрида	спикара, кефаль-сингиль,
2	Не изменяется существенно	звездочет, бычок-мартовик, султанка, темный горбыль	морской налим, ставрида, темный горбыль
3	Повышается с возрастом	морской налим	морской ерш

Примечание: в таблице использованы не вошедшие в данную работу, полученные нами для других черноморских видов, тенденции изменения уровня ЭИ с возрастом

Как видно из представленных данных, зачастую у одного вида процессы окисления белков, сопровождающегося окислением отдельных аминокислот, расщеплением пептидных связей и образованием олигопептидов, протекают по-разному в различных органах. Более того, имеются сведения о том, что даже в разных частях одного органа эти процессы могут протекать с разной интенсивностью, что, например, установлено для различных участков мозга крыс [175]. По-видимому, это связано как с различием в выполняемых функциях, так и с нагрузкой на те или иные органы и ткани, а также с аминокислотным составом белков, образующих их, так как ряд аминокислот в большей степени подвержен окислению (пролин, аргинин, лизин). Было установлено, что белки, содержащие металлы переменной валентности, окисляются вдвое быстрее [165].

Таким образом, уровень ЭИ в тканях черноморских рыб представлен всеми возможными вариантами изменения с возрастом, и является видоспецифичным, органоспецифичным, а также обусловленным сложившимися условиями среды обитания тех или иных видов.

Помимо этого, сезонные изменения метаболизма сказываются как на процессе эндогенной интоксикации в целом, так и на окислении белков в частности. Показано, что содержание продуктов свободнорадикального окисления в тканях рыб меняется на протяжении года [143-145, 231], как и активность многих ферментов, в том числе протеаз, антиоксидантных, аминотрансфераз и других.

Литературные данные о сезонных изменениях содержания олигопептидов в тканях рыб немногочисленны. Проведенные ранее исследования окислительной модификации белков в сыворотке крови черноморских рыб показали увеличение их содержания в теплое время года [94].

Многие данные, касающиеся сезонных изменений, противоречивы: так исследования на бельдюге *Zoarces viviparus*, показали, что содержание продуктов ПОЛ было выше в июле, нежели в ноябре [231], в то время как другие авторы установили, что уровни и ПОЛ и ОМБ были достоверно выше зимой у данного вида, нежели летом [173].

По-видимому, состояние АОС и процессов окисления макромолекул и их распада зависит от ряда факторов: с одной стороны, снижение температуры приводит к уменьшению интенсивности обменных процессов и, следовательно, сокращению образования продуктов ПОЛ, ОМБ и образования олигопептидов, с другой стороны происходит снижение активности ферментов и накопление тех же самых продуктов окисления. Подтверждением могут служить полученные нами результаты содержания олигопептидов в печени спикары и морского ерша (рисунок 3.7). Очевидно, что более высокий уровень ЭИ в печени ерша в зимний период свидетельствует о накоплении продуктов распада белков и липидов. У спикары иная картина – зимой уровень ЭИ в печени существенно ниже.

В крови большинства черноморских видов картина одинакова и характеризуется повышением содержания среднемолекулярных олигопептидов в теплое время года. При этом уровень ЭИ в крови самок и самцов морского ерша в разные сезоны практически не отличается (рисунок 3.8). Однако летом, когда антропогенный прессинг с одной стороны и гормональные отличия с другой

оказывают максимальное воздействие, различия становятся достоверными, хотя при сравнении рыб из двух исследуемых акваторий отличия установлены только зимой (рисунок 3.9). Эти данные показывают, что специфика акватории, где обитает изучаемый вид (виды) оказывает существенное влияние. Так, в зимнее время нагрузка на акватории г. Севастополя снижена по сравнению с летним периодом, и поступление в организм гидробионтов ксенобиотиков различной природы ограничено [91].

Несмотря на стабильность климата, каждый год отличается своим температурным режимом, уровнем влажности, «протяженностью» зимы на крымском побережье Черного моря. На рисунке 6.1. представлена температура воды в январе, апреле, июле и октябре с 2003 по 2010 годы.

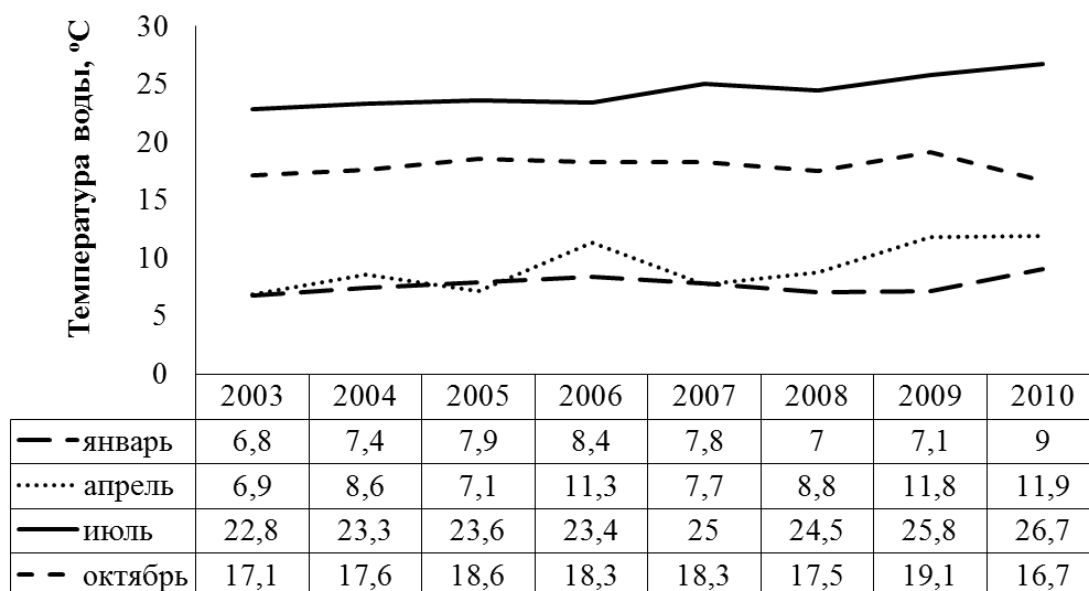


Рисунок 6.1 Температура воды в Черном море в районе г.Севастополя в 2003-2010 гг. (по данным Севастопольской Гидрометеорологической Обсерватории)

Эти данные наглядно показывают, как менялся один из главных сезонных факторов в Черном море в последние годы, что сказывается на обменных процессах в организме рыб. Уровень ЭИ в крови морского ерша был выше в 2009 году (кроме лета) (рисунок 3.10), как и температура воды. Особенно это можно отметить весной и осенью.

Нами были рассмотрены сезонные отличия уровня ЭИ в крови морского ерша разных возрастов (рисунок 3.11). Можно предположить, что наиболее подверженными влиянию сезона являются молодые особи репродуктивного возраста - от 3+ до 8 лет. С возрастом происходит снижение интенсивности белкового обмена, уменьшается половая активность и, возможно, наступает некая адаптация к меняющимся температурным условиям среды, что приводит к выравниванию содержания олигопептидов в крови морского ерша в разные сезоны года.

Таким образом, для большинства видов установлено возрастание уровня ЭИ в тканях исследуемых видов рыб в теплое время года и снижение зимой, однако имеются исключения. Так, у ставриды минимальные значения уровня ЭИ отмечены летом, а у некоторых видов данный показатель не претерпевает существенных изменений в течение года.

Содержание продуктов окисления белков в живых организмах может быть использовано для оценки токсичности среды в целом [118, 197, 232, 236, 284]. Исследуемые нами виды обитают в двух, отличающихся уровнем антропогенного прессинга, акваториях, поэтому представляет интерес установить уровень ЭИ и ОМБ в тканях рыб из этих районов.

Проведенные ранее на черноморских рыбах исследования показали, что уровень ОМБ выше у морского ерша из б. Мартынова, что объясняется большей загрязненностью грунтов в этом районе, а показатели пелагических видов выше в б. Карантинная, отличающейся большей загрязненностью вод [91].

Уровень ЭИ в крови большинства видов не имел достоверных отличий, однако у некоторых установлено повышение содержания олигопептидов в тканях султанки из б. Александровская. Уровень ЭИ в печени ерша и ОМБ сыворотки крови большинства видов выше в б. Карантинная. Поскольку обе акватории подвергаются хроническому комплексному загрязнению, не представляется возможным выявить, как каждый из исследуемых видов реагирует на те или иные загрязняющие вещества и степень его адаптации к ним.

Исследование продуктов распада белков в тканях большого красного тая *Pagrus major* из нескольких прибрежных районов Китая, отличающихся уровнем загрязнения, показало как повышение, так и понижение уровня ОМБ, что свидетельствовало о воздействии ксенобиотиков на рыб. Особенно выраженными были изменения в жабрах [140].

Одними из наиболее опасных загрязняющих акватории веществ являются пестициды и фунгициды разной природы. Под действием пестицидов отмечено устойчивое повышение содержания продуктов окисления и распада белков в тканях пятнистого змееголова *Channa punctata* [236], в печени, мозге, мышцах карпа [232, 284], тканях китайского редкого гольяна *Gobiocypris rarus* [197], мышцах трахиры *Hoplias malabaricus* [183], в мышцах и мозге радужных форелей *Oncorhynchus mykiss* [124] и многих других видах [293].

При фоновом сравнении уровня ОМБ в жабрах и крови серебряного карася, было показано, что значения ниже у рыб из загрязненного района. При воздействии на рыб из этих акваторий фунгицидом наблюдалось повышение ОМБ в обоих случаях, однако у особей из загрязнённых районов оно было не столь существенным, что говорит о большей устойчивости этих рыб [184]. Возможно, что и у многих черноморских рыб выработались некоторые адаптации к тем или иным ксенобиотикам.

Не меньший вред акваториям приносят стоки бытовых вод, разливы нефти. Показано, что под действием сточных вод уровень ОМБ в тканях радужной форели возрастает [118]. В тканях бельдюги под действием сырой нефти содержание продуктов окисления белков увеличивалось втрое по сравнению с контролем [231].

Тяжелые металлы являются одними из основных катализаторов процесса окисления макромолекул и типичными токсикантами в бухтах г. Севастополя. Имеются сведения о том, что свинец индуцирует карбоксилирование белков печени крыс [193], мышьяк - в тканях данио *Danio rerio* [134].

Многие авторы отмечают корреляцию между активностью КАТ и уровнем ОМБ [124, 140, 232]. Предполагают, что одним из механизмов повышенного

образования ОМБ может быть повреждение генов, отвечающих за образование фермента.

Нами также было рассмотрено влияние пола и возраста в сочетании с антропогенной нагрузкой (рисунки 3.15 – 3.18). У ряда видов показаны незначительные вариации уровня ЭИ между самками и самцами рыб из разных районов. Возрастные же изменения оказались более выраженными в печени. У молодых рыб отличий не установлено, однако с возрастом разница в содержании олигопептидов в тканях особей из разных районов стала существенной. Что согласуется с литературными данными: при воздействии паракватом на особей 5-месячной кумжи, никаких изменений уровня ОМБ или ПОЛ не установлено, однако у годовалых рыб данные показатели существенно возрастали у экспериментальных особей по сравнению с контрольными [164].

Помимо бухт Александровской и Карантинной, частично были изучены параметры рыб из б. Казачья и Стрелецкая (рис 3.13). Б. Стрелецкая считается одной из самых загрязненных в системе Севастопольских бухт, что подтверждается более высоким уровнем ОМБ в сыворотке бычка-мартовика по сравнению с показателями особей из других акваторий (наши данные). Однако уровень ЭИ в крови морского ерша из этой бухты такой же, как и в б. Карантинная и Александровская, в то время как в б. Казачья данный показатель существенно выше.

Таким образом, уровень ЭИ и ОМБ в тканях отражают состояние черноморских рыб в условиях хронического комплексного загрязнения прибрежных акваторий г. Севастополя. Данные параметры можно рекомендовать в качестве биомаркеров для оценки здоровья рыб. Однако, следует учитывать видовую специфичность, влияние природных и антропогенных факторов.

Адаптации морских организмов к условиям существования, сформировавшиеся в процессе эволюции, носят многообразный характер. Среди них важное значение имеет состояние антиоксидантной системы, компоненты которой весьма чувствительны к изменению среды обитания, включая

флуктуации кислородного и температурного режима, солености, наличия соответствующей кормовой базы, сезонной ритмики, а также все нарастающего антропогенного воздействия, в результате которого в экосистемы попадает множество чужеродных компонентов. В то же время для каждого вида характерен свой генетически обусловленный обмен веществ, включающий определенный баланс прооксидантно-антиоксидантных процессов, сдвиг которых под действием различных факторов может привести к нарушению гомеостаза и необратимым изменениям в организме. Все сказанное приводит к необходимости самого тщательного изучения неспецифических защитных систем организма, включая антиоксидантную, для более полного понимания различных адаптаций рыб к изменяющимся условиям обитания.

Активность каталазы и пероксидазы в исследуемых тканях рыб имеет выраженные видовые особенности, обусловленные специфичностью образа жизни и условиями обитания вида. Обращает на себя внимание повышенные значения активности этих ферментов в крови у морского ерша по отношению к остальным видам, тогда как активность ферментов в печени имеет противоположную направленность, за исключением активности ПЕР ставриды. Вероятно, выявленные различия связаны с особенностями экологии исследуемых видов.

Рыбы донной группы, обитающие в бентали, непосредственно соприкасаются с придонными слоями воды и грунтов, в которых оседают различные загрязнители, в том числе токсичные [296]. Они попадают через жабры в кровь, стимулируя процессы свободнорадикального окисления (СРО) в эритроцитах, вызывают окислительный стресс и, как следствие, активацию ферментов антиоксидантной системы, в частности, каталазы и пероксидазы. Рыбы придонно-пелагической и пелагической группы имеют сходные значения активности каталазы, и они почти в 1,5 раза ниже, чем активность фермента у донного вида. В данном случае, вероятно, при объяснении этого факта следует учитывать и специфику биотопов, так как в поверхностных слоях воды больше

кислорода и меньше загрязнителей, что способствует созданию более комфортных условий существования рыб.

У придонно-пелагической спикары и пелагической ставриды высокая активность каталазы в печени обусловлена повышенным уровнем метаболизма рыб, связанного с подвижным образом жизни, что отмечено и другими исследователями [179, 296].

Известно, что пищевые предпочтения также оказывают существенное влияние на активность ферментов антиоксидантной системы крови. Все исследуемые виды рыб имеют смешанный тип питания, в пище преобладают животные организмы. Сравнительные исследования состояния антиоксидантной системы у хищных, травоядных и всеядных карповых рыб показали определенные различия в тканях этих видов. Активность ГП и КАТ выше у всеядных видов (барбус *Barbus barbus*, карась и обыкновенный карп), а активность СОД значительно больше у травоядных (травяной карп *Ctenopharyngodon idella* и серебряный карп (белый толстолобик) *Hypophthalmichthys molitrix*). Процессы ПОЛ интенсивнее протекают в тканях травоядных карповых рыб, что позволило предположить существование определенной связи между антиоксидантной активностью тканей и характером пищевого поведения рыб, но при этом проявлялись значительные индивидуальные различия [154]. Дальнейшие исследования состояния антиоксидантной системы и процессов ПОЛ у других видов рыб подтвердили установленную тенденцию. Что касается хищных рыб, например, европейского сома (обыкновенного сома) *Silurus glanis*, то для них характерна очень низкая активность ГП в митохондриях печени, самая высокая активность КАТ в печени и почках и самая высокая активность СОД в печени. Уровень ПОЛ имел сходство у всех трех видов [245].

Таким образом, активность двух ферментов у разных видов морских рыб имеет выраженную тканевую специфичность и определяется особенностями образа жизни, экологией видов, что отражает многообразие биохимических адаптаций рыб к местам обитания и в современных условиях.

Анализ литературных данных показал неоднозначность влияния пола на состояние антиоксидантной системы рыб. В ряде случаев было показано отсутствие существенных отличий как в норме, так и при негативном воздействии на организмы рыб, с другой стороны была показана половая специфичность действия ферментов [39, 47, 77, 261]. Исследование этого вопроса позволяет более детально изучить ответные реакции организма на негативные внешние и внутренние воздействия и оценить адаптивные возможности представителей обоих полов.

Для ряда видов показана более высокая активность АОФ у самок. Некоторые авторы выделяют митохондриальное дыхание, как основную антикислородную ступень в составе антиоксидантной системы клетки и как одну из причин возникновения состояния окислительного стресса. Разобщение окислительного фосфорилирования приводит к гипероксии, вызванной слабой утилизацией кислорода, и интенсивной генерации активных форм кислорода самой дыхательной цепью в связи с ускорением ее функционирования [57]. Показано, что продукция перекисей в митохондриях печени самцов крыс выше, чем у самок на 40%, а в митохондриях мозга на 80%, в свою очередь активность ГП и Мп-Сод в митохондриях печени самок в 2 раза выше [222].

Половые отличия в тканях можно объяснить тем, что многие гормоны обладают антиоксидантными свойствами. Так эстрогены, являясь фенольными соединениями, ингибируют свободно радикальное окисление биологических мембран и липопротеинов [297], защищают скелетную и сердечную мускулатуры [242], печень [170]. В тканях мозга эту же функцию выполняет прогестерон [172]. В противовес женским половым гормонам, тестостерон вызывает снижение активности СОД, КАТ и ГП [149]. С другой стороны токсиканты аккумулируясь в печени и гонадах рыб [77] могут модифицировать гормональный статус рыб, приводящий к негативным изменениям, в том числе и смене пола [192, 302].

Для многих видов в нашей работе не получено достоверных половых отличий активности АОФ. Аналогичные данные получены и другими авторами

проводившими исследование 6 видов черноморских рыб, и подтверждающие низкую специфичность АОФ [76]. Под воздействием полихлорбифенилов в первые дни эксперимента активность СОД достоверно снижалась, а КАТ повышалась у рыб обоих полов в крови гирардинихтиса живородящего *Girardinichthys viviparus*. Однако при пролонгированном воздействии токсиканта на 16 сутки активность СОД в крови самцов вернулась к значениям, соответствующим изначальным [190]. Известна и избирательность действия ксенобиотиков на АОС самок и самцов, бенз[а]пирен инициировал свободнорадикальное окисление только в гепатоцитах самок речной камбалы *Platichthys flesus*, а нитрофуран – у самцов. Это свидетельствует о возможных различиях в механизмах биотрансформации ксенобиотиков в гепатоцитах самок и самцов рыб [261].

Полученные нами данные показывают незначительную зависимость активности АОФ от пола в крови и печени исследованных черноморских рыб, что позволяет использовать их как эффективные биомаркеры.

Старение представляет собой ускоренное угасание функциональной активности живых систем. Одной из наиболее вероятных теорий, объясняющих данный процесс, является свободно-радикальная. Она позволяет понять некоторые изменения, сопровождающие старение и дегенеративные болезни. Согласно данной теории возрастающее образование свободных радикалов митохондриями при старении является причиной увеличения повреждений клеток [241].

Старение живых организмов сопровождается разнонаправленными изменениями активности ферментов, в том числе и АОФ, что позволяет поддерживать на соответствующем функциональном уровне многие жизненно важные процессы. Согласно литературным данным, у рыб наблюдаются возрастные колебания параметров АОС [16, 116, 249].

Возрастные колебания активности АОФ показаны для тканей многих видов животных, в том числе и рыб. В ряде работ отмечены тканевые отличия, которые

могут быть обусловлены разницей выполняемых ими функций и скоростью старения [241].

В печени трехлетних радужной форели и черного бычка *Ameiurus melas* активность ГР и СОД была ниже, чем у однолетних особей. Активность ГП, КАТ, глутатион-S-трансфераза имела тенденцию к снижению в печени и почках, но повышалась в мышцах и жабрах. Концентрация глутатиона была достоверно выше в тканях трехлетних форелей по сравнению с однолетними, но оставалась неизменной или снижалась в тканях бычков старших возрастных групп [230].

В тканях кишечника сома обыкновенного активность КАТ, СОД и ПЕР была выше, чем в мышцах, особенно выраженными отличия были в группе 1+ - летних рыб по сравнению с 0+ и 2+ летними. Максимальная активность ферментов также была установлена для возрастной группы 1+ [249]. Такой характер изменений аналогичен полученному нами для печени спикары. Авторы указывают, что подобные изменения могут быть связаны с изменением в питании растущих рыб. Сниженное содержание липидов и углеводов в пище способствует уменьшению восприимчивости рыб к окислительным повреждениям и увеличивает темпы роста рыб [166, 249]. Другой причиной, объясняющей возрастание активности АОФ ферментов в средневозрастных группах, может быть наступление половой зрелости, сопровождающееся активным синтезом гамет [91].

Для большинства изученных нами видов характерна максимальная активность АОФ в младшей возрастной группе в обеих тканях и последующее ее снижение. Аналогичные результаты, указывающие на угасание ферментативной активности с возрастом, получены для рыб (нотобранхиуса рахова [116], бычка-кругляка [16]), теплокровных животных - страуса *Struthio camelus* [99], собак [6], членистоногих (амфиподы *Gammarus locusta* [115]).

Таким образом, для АОФ изученных видов являются характерными возрастные колебания активности в эритроцитах крови и печени. Они обусловлены изменением питания, гормонального статуса. Снижение ферментативной активности с возрастом, вызвано усилением

свободнорадикальных процессов, снижением синтеза данных ферментов, результатом чего является истощение защитных систем организмов рыб.

Биомаркеры окислительного стресса пойкилотермных животных тесно связаны с сезонными изменениями окружающей среды. Колебания температуры воды, содержание кислорода, соленость, обеспеченность пищей, степень загрязнения акваторий меняются в течение года, обуславливая изменения метаболического уровня в организме гидробионтов.

Низкая скорость обмена веществ в холодное время года сопровождается снижением антиоксидантной защиты, но роль индивидуальных ее компонентов в поддержании гомеостаза отличается у различных видов. Для многих рыб показаны сезонные изменения активности АОФ. В связи с этим интересным является изучение данного вопроса на примере Черноморских видов рыб.

Для большинства исследованных видов отмечено повышение активности АОФ в печени в весенне-летний период. Для каталазы это выражено в меньшей степени, однако различия достоверны, для пероксидазы сезонные колебания более значительны. Исключением является морской ерш, максимальная активность ПЕР которого приходится на осень. Для всех видов минимальная активность установлена зимой, что, по-видимому, связано с уменьшением активности рыб вследствие снижения температуры морской воды.

При сопоставлении полученных данных активности АОФ для крови и печени можно отметить следующие закономерности:

- изменения активности КАТ в крови и печени ерша коррелируют с изменениями температуры вод, возрастая к лету и снижаясь к зиме;
- максимальная активность ПЕР в крови и печени морского ерша приходится на осень;
- для печени большинства исследованных видов максимальная активность ферментов отмечена в весенний период, в то время как в крови пик активности приходится в летний или осенний период.

Смена сезонов сопровождается рядом как физических так и биологических изменений в морских экосистемах. Среди физических факторов можно выделить

температуру воды, соленость, pH, концентрацию кислорода. В прибрежной зоне Черного моря сезонные колебания солености, pH, концентрации кислорода не велики, в то время как изменения температуры воды существенны.

Наибольшее влияние на состояние морских организмов оказывает именно температура. При низких температурах возрастает содержание полиненасыщенных жиров в митохондриальных мембранах, что приводит к ускорению митохондриального дыхания, а, следовательно, и увеличению генерации АФК, увеличение утечки протонов и окислению этих мембран [111]. Повышение температуры в теплые сезоны сопровождается интенсификацией обменных процессов, питания, подготовкой к нересту.

Наши исследования, показывающие максимум активности АОФ в весеннее время в печени и в летнее – в крови, и минимальную активность в обеих тканях зимой для большинства видов подтверждаются и работами других авторов.

В печени бразильского землседа активность СОД и GST была выше в начале весны нежели, в начале осени, в то время как активность КАТ менялась не значительно [198]. Для печени белого толстолобика, белого амура и карпа показана минимальная активность СОД и ГП зимой и весной, максимальная летом и осенью, сезонные изменения активности КАТ выражены не значительно [66]. В печени горбыля отмечено увеличение активности КАТ И ГР в летний период по сравнению с зимним [143]. Максимальные значения активности КАТ в печени бразильской камбалы установлены весной по сравнению с другими периодами года [144]. В гепатоцитах самки европейской бельдюги были установлены достоверные сезонные колебания активности ферментов биотрансформации: они были максимальными в феврале-марте и затем снижались. Активность GST была минимальной в течение зимы, а КАТ, ГП и ГР колебалась незначительно, тем не менее, активности ГП и ГР у рыб обоих полов были максимальны осенью и в мае [253]. Максимальная активность КАТ, СОД, GST была также установлена в летний период у усонного рачка *Balanus balanoides*, минимальная – зимой [258]. Помимо АОФ, отмечено снижение активности и других ферментов в зимний период, например,

ксантиндегидрогеназы в мидиях Атлантического океана [148] и повышение в летне-весенний, например, альдолазы и щелочной фосфатазы в крови морского ерша [75].

В отличие от большинства видов, у морского ерша отмечен пик активности КАТ в крови и в печени летом, а ПЕР осенью. В то же время в печени 3-х подвидов форели (*Salmo trutta caspius*, *Salmo trutta labrax* и *Salmo trutta macrostigma*) активность АОФ повышалась в осенний период и совпадала с увеличением гонадо-соматического индекса, однако в жабрах данных подвидов существенных сезонных колебаний установлено не было [257].

В ряде случаев авторы отмечают повышение активности АОФ ферментов зимой. В печени и белых мышцах султанки из двух районов Адриатического моря активность MnSOD, GST-Px, GR, GST в печени и мышцах была выше в зимний период, общая SOD, CuZnSOD в обеих тканях и КАТ в печени были на одном уровне в течение двух исследованных периодов. Однако КАТ в белых мышцах султанки была достоверно выше в весенний период, нежели в зимний [111, 259]. Некоторые другие ферменты показывают повышение активности зимой, например, ECOD и EROD у султанки [256]. Другие авторы также указывают на повышение активности ПЕР у черноморских рыб в зимний период [40, 91]. Авторы предполагают, что подобное повышение активности данного фермента вызвано его повышенной чувствительностью к нефтяному загрязнению и низкой активностью нефтеутилизирующих бактерий в холодное время года.

Кроме физических существенными факторами, определяющими влияние сезонов, являются биологические - например, обеспеченность пищей. Виды, представленные в нашем исследовании, являются в основном хищниками или обладателями смешанного типа питания и, следовательно, мало зависят от бурного развития водорослей, сопровождающего повышение температуры. Однако, как уже указывалось выше, соотношение белков, жиров и углеводов так же влияет на восприимчивость рыб к окислительным повреждениям. Следовательно, потребление в пищу рыб и других гидробионтов, питающихся водорослями, косвенно может влиять на антиоксидантную систему хищных рыб.

Другими учеными были получены данные, показывающие разницу пиков активности ферментов у хищных и растительноядных рыб в теплое время года. Для 4-х видов рыб: питающихся фитопланктоном белого толстолобика и пестрого толстолобика *Aristichthys nobilis*, всеядного серебряного карася *Carassius auratus* и плотоядного верхогляда *Culter ilishaeformis* было исследовано помесечное изменение активности GPx, SOD, GST и CAT в печени. Пик активности КАТ для толстолобиков приходился на июль, а для золотой рыбки и верхогляда на октябрь. Активность СОД была повышена с июля по октябрь для всех видов. С апреля по июль отмечено повышение активности GPx для толстолобиков, но не для двух других видов. GST всех видов была выше в июле и июне [196].

Известно, что естественные факторы оказывают на организм рыб зачастую большее влияние нежели ксенобиотики. Однако они могут усиливать процессы, протекающие в организмах гидробионтов. Так в печени кефали лобана *Mugil cephalus* из чистого района в Индийском океане значения активности КАТ и СОД не имели существенных отличий между летом и сезоном муссонов. В то время как у рыб из загрязненного тяжелыми металлами эстуария активность ферментов была не только ниже при сравнении соответствующих показателей с данными для рыб из чистого района, но и разница между сезонами в эстуарии была достоверно более высокой [234]. Некоторые авторы считают, что рыбы, подвергающиеся хроническому относительно сильному воздействию загрязнителей, не способны поддерживать адекватную антиоксидантную защиту и корректно реагировать на сезонные изменения. По-видимому, это связано с тяжелой липидной инфильтрацией гепатоцитов и другими нарушениям на клеточном и тканевом уровне [181]. Эти данные согласуются с полученными нами для некоторых видов: КАТ в печени ставриды и спикары, в крови султанки, и особенно, ПЕР в печени спикары значительно снижаются летом, когда возрастает рекреационная нагрузка на прибрежные акватории г. Севастополя.

Таким образом, на активность АОФ в крови и печени рыб сезонные изменения оказывают существенное влияние, при этом наиболее сильный вклад имеет температура, а антропогенное воздействие усиливает природные

изменения, что необходимо учитывать при проведении биомониторинговых исследований.

При сопоставлении данных об активности АОФ в крови морского ерша из 4-х разных акваторий можно предположить, что повышенная активность КАТ и ПЕР у рыб из б. Александровская связана с более сильным загрязнением грунтов. Активность КАТ у рыб из б. Стрелецкой также высока. Более ранние исследования выявили снижение активности АОФ в крови морского ерша и бычка-кругляка в б. Стрелецкая [17, 91]. Однако в нашем исследовании показано, что активность КАТ и ПЕР у рыб из б. Стрелецкая были близки к таковым у рыб в б. Александровская. Грунты б. Карантинной и, по-видимому, Казачьей, являются более чистым поэтому активность АОФ, особенно КАТ, здесь значительно ниже.

Не однозначная картина получена и для АОФ в печени черноморских рыб. Тем не менее, большинство видов, так или иначе контактирующих с грунтами в б. Александровская, характеризуются повышенной активностью ферментов, и только пелагические формы, в большей степени зависящие от чистоты пелагиали имели большие значения активности ферментов в б. Карантинная. Это согласуется с данными о загрязнении этих двух акваторий (см. раздел 2) [91]. При оценке полученных данных также следует учитывать мигрирует ли вид, или же постоянно находиться в бухтах.

Активность АОФ может повышаться или понижаться под действием химических веществ в зависимости от их природы, не маловажную роль в этом играет и восприимчивость вида к данному веществу.

Снижение активности КАТ и других АОФ в загрязненных акваториях показано в крови мозамбикской тилапии [123], печени кефали-лобана [234], белых мышцах султанки [111], а повышение – в печени камбалы-ершоватки *Limanda limanda* [122]. В ряду случаев установлены тканевые отличия реагирования на токсиканты. Так активность КАТ выше в жабрах, печени и сердце, хармуля *Capoeta trutta* из загрязненных районов, но несколько снижена в почках и мышцах [298].

Как указывалось в разделе, посвященном экологическому состоянию акваторий, в прибережные бухты г. Севастополя поступает ежегодно множество веществ самого различного происхождения, и часть из них не покидает акватории, осаждаясь и накапливаясь в грунтах. Каждое из этих веществ по своему модифицирует обменные процессы рыб и по своему влияет на активность ферментов, что показано для многих видов другими авторами.

Одними из наиболее опасных являются нефтяные углеводороды. Повышение активности КАТ установлено под воздействием дизельного топлива на золотую рыбку *Carrasius auratus* [167], у савало *Prochilodus lineatus* [264]; у арктической трески *Gadus morhua* – под действием нефти и алкилфенола [168], у гибридной тилапии – под действием фенантрена [169], и в печени и почках камбалы *Paralichthys olivaceum* [200], под действием сырой нефти в печени нильской тилапии [188], а также мазута – на печени и жабрах рыбы-жабы *Thalassophryne maculosa* [186].

Не меньшую опасность представляют и смываемые с полей гербициды, пестициды, инсектициды и пр. Отмечено устойчивое снижение активности КАТ в печени и почках золотой рыбки под действием гербицида аминотриазола [131], в жабрах королевской дорады *Sparus aurata* под действием инсектицида малатиона [281]; с другой стороны, установлено увеличение активности КАТ в печени и почках африканского сома под действием гербицида бутахлора, обратная тенденция – в жабрах и сердце [178]. Характерным является то, что изменения активности ферментов регистрируются через 24 часа после воздействия токсиканта, т.е. намного раньше, чем появились какие-либо гистологические изменения [281].

Исследуемые районы отличаются и по загрязнённости донных осадков тяжелыми металлами, которые, как известно, оказывают существенное влияние как на состояние рыб в целом, так и на активность АОФ в частности. У трех видов – пагеля длиннорылого *Pagallus acarne*, кефали-остроноса *Liza saliens*, супе *Sarpa salpa* – показана положительная корреляция между содержанием тяжелых металлов в среде, в печени и активностью КАТ [221]. С другой стороны,

активность КАТ снижается в печени, почках, жабрах, сердце африканского сома *Clarias gariepinus* [177] при интоксикации токсичными элементами. Для 6 видов черноморских рыб показано что, чувствительным ферментом к общему содержанию металлов в тканях является ПЕР, а КАТ проявляет умеренную зависимость [91].

Таким образом, невозможно вычленить какой из токсикантов как повлиял на активность ферментов того или иного вида рыб, в связи с этим мы говорим о комплексном влиянии загрязнения, что рекомендуется и другими авторами [91].

Определенный интерес представляет исследование вопроса изменения активности АОФ по времени. Тенденция изменения активностей АОФ у 4х видов в течение 3-х временных периодов в крови и печени представлена на таблице 6.2.

Таблица 6.2 Изменения активности антиоксидантных ферментов в тканях черноморских видов рыб в период с 1990-х по 2010 гг

<i>Временной период</i>	<i>Кровь</i>	
	<i>Каталаза</i>	<i>Пероксидаза</i>
1990-х г.	султанка<ерш<ставрида<спикара	султанка<ерш<ставрида<спикара
2000-х г.	ставрида<ерш<спикара<султанка	султанка<спикара<ставрида<ерш
2008-2010гг.	спикара<ставрида<султанка<ерш	спикара<ставрида<султанка<ерш
<i>Печень</i>		
1990-х г.	ерш<спикара<султанка<ставрида	султанка<ерш<ставрида<спикара
2000-х г.	ерш<султанка<спикара<ставрида	султанка<спикара<ставрида<ерш
2008-2010гг.	ерш<султанка<спикара<ставрида	ставрида<ерш<султанка<спикара

Примечание: Данные по крови 1990х [80], данные по крови 2000х – [91], данные по печени 1990х-2000х [255]

На протяжении 20 лет состояние прибрежных акваторий существенно менялось. Наибольший уровень загрязнения регистрировался в 1980 – в начале 1990, а с конца 1990 и по настоящее время антропогенное воздействие на акватории снижено ввиду экономического кризиса [255]. Одновременно с состоянием акваторий менялось и состояние гидробионтов. Данные представленные в таблице позволяют проследить как варьировала активность

АОФ в тканях рыб в указанный период. Обращает на себя внимание тот факт, что изменения в большей степени затрагивают показатели крови, нежели печени. По-видимому, это связано с большей устойчивостью печени к токсикантам, в то время как кровь быстрее реагирует на негативные воздействия. Возможно, что большая стабильность печени обусловлена филогенетически и является видоспецифичной.

В большинстве случаев достоверных половых отличий в реагировании на антропогенное воздействие не установлено, полученные различия свидетельствуют о том, что у каждого вида самцы и самки проявляют различную чувствительность к загрязняющим веществам [49].

Различия активности ферментов у молодых особей могут быть обусловлены их большей восприимчивостью и меньшей адаптированностью к различного рода токсикантам. Ряд исследований на молоди черноморских рыб показал значительное увеличение активности АОФ при негативном воздействии. При действии смыва и нефти у личинок бычка-кругляка происходило существенное увеличение активности КАТ на 340% (смыв) и 790% (нефть), ГР (на 90% и на 100% соответственно) и снижение активности ПЕР на 50%, колебания СОД были не значительны [101]. При воздействии мазута на молодь кефали-остроноса КАТ, ПЕР и ГР на первые сутки происходило увеличение активности ферментов, после чего снижение, а затем вновь возрастание на 5 сутки [79]. Сходные результаты получены и при действии соляра на мальков кефалей – на первые сутки происходило увеличение активности АОФ, и их последующее снижение в следующие дни [102].

С возрастом активности ферментов у рыб из двух бухт сближаются, что может говорить с одной стороны об общем угасании процессов, замедлении белкового роста и пр., с другой стороны о некоторой адаптации организма к постоянному антропогенному прессингу.

Таким образом, полученные нами данные об активности АОФ в прибрежных акваториях являются результатом комплексного и хронического загрязнения с учетом видовой специфичности. Для оценки антропогенного

воздействия рекомендуются 2 вида: один, постоянно обитающий в прибрежных акваториях и выработавший определенные адаптации к хроническому воздействию (морской ерш), и другой, мигрирующий вид способный дать быстрый ответ АОС на загрязнение при заходе в бухты (спикара, ставрида). С этой же целью рекомендуется и 2 ткани: печень – для оценки хронического загрязнения, и кровь – для быстрого анализа токсичности среды.

Аминотрансферазы занимают важное место среди биокатализаторов и играют важную роль в метаболизме, объединяя в единое целое белковый, углеводный и липидный обмен и цикл трикарбоновых кислот. Ферменты этой группы часто используют в качестве биохимического индикатора физиологического статуса или стрессового состояния организма, вызванного заболеванием или интоксикацией. Уровень активности АлАт и АсАт реагирует на присутствие ксенобиотиков в организме рыб, и может быть использован для оценки загрязнения акваторий различного рода токсическими веществами. В связи с этим исследование особенностей активностей аминотрансфераз в тканях черноморских рыб представляет несомненный интерес.

В нашем исследовании у многих видов установлена более высокая активность АсАт в сыворотке нежели АлАт. В печени, напротив, у большинства видов активность АлАт выше. Отличия активности АлАт и АсАт в одной ткани показаны и другими авторами: в печени и мышцах белого амура [106], в крови курина осетра *Acipenser persicus* [301] и африканского сома. В печени, почках и мышцах гибрида африканского сома активность АлАт была в три раза выше, чем активность АсАт [187], в крови большого индийского карпа – в 2 раза [165], в коже, жабрах и почках африканского сома - в 4-5 раз [294].

У ряда видов активность АлАт и АсАт имеют близкие значения. Так отмечено, что для тканей золотой тиляпии *Oreochromis aureus*, в печени, жабрах и мышцах которой активность обеих аминотрансфераз была практически одинаковой [224]. Встречаются виды, у которых активность АлАт в крови очень низкая. Например, в крови линя активность АлАт в 27 раз ниже, чем АсАт [139], а

у севрюги *Acipenser stellatus* - в 53 раза [262]. Кроме того, активность АлАт в крови многих исследуемых черноморских видов регистрировалась не у всех особей.

Видовые отличия активности аминотрансфераз могут быть обусловлены особенностями белкового, углеводного и липидного обмена рыб. В частности, повышенная активность аминотрансфераз может быть результатом снижения активности ферментов цикла Кребса и, следовательно, уменьшением уровня его интермедиатов. АлАт и АсАт компенсируют это через поставку α -глутарата [187, 215]. Компенсаторные функции трансаминаз показаны не только для АлАт и АсАт, но и для других ферментов данной группы, что также может подтверждать данную функцию. Так, активность цистеинсульфанат-аминотрансферазы была изучена у 6 видов рыб, в порядке возрастания они располагались следующим образом: синежаберный солнечник *Lepomis macrochirus* → ложный палтус *Pralichthys olivaceus* → карп → радужная форель → тай → желтохвост *Seriola quinqueradiata*. Рыбы с максимальной активностью трансаминазы, обладали минимальной активностью другого фермента, участвующего в обмене цистеинсульфаната – цистеинсульфанатдекарбоксилазы [217].

Следует отметить, что активность аминотрансфераз у рыб, относящихся к одному семейству может характеризоваться существенными отличиями. У 4 видов семейства *Cyprinidae* максимальная активность ферментов установлена у карпа, несколько меньшая - у голавля *Leuciscus cephalus*, у 2-х рыб рода *Carpoeta* (*Carpoeta trutta* и *Carpoeta carpoeta umbla*) она имела близкие значения, но была ниже, чем у первых двух [174]. Отличия активности трансаминаз получены и для других карповых - белого амура, белого толстолобика и сазана [10]. Для пресноводных рыб исследователями установлены отличия активности ферментов по семействам в порядке убывания: щуковые > карповые > окуневые, ряд для АлАт – обратный [27].

Таким образом, активность трансаминаз у исследованных рыб имеет выраженную видовую и тканевую специфичность. Не установлено четкой связи между активностью ферментов и экологическим положением видов.

Анализ половых различий показал, что, как и для АОФ, активность аминотрансфераз в крови и печени черноморских рыб не имеет четко определенной зависимости: в одном случае активность ферментов выше у самок, в другом – у самцов, а у большинства – отсутствуют достоверные отличия. Подобная неоднородность результатов подтверждается работами других авторов.

В крови линия половых отличий не установлено, однако отмечен несколько более высокий уровень активности АсАт у самцов [139]. В крови курина осетра иная ситуация - достоверных половых отличий нет, но у самок активность аминотрансфераз выше [301]. Аналогичные данные получены для лягушки *Rana catesbeiana* [157]. Не установлено половых отличий активности аминотрансфераз в печени, мышцах и жабрах золотой тилляпии [224], в крови радужной форели [260]. С другой стороны, в крови севрюги показаны половые отличия для АсАт, а для АлАт они не установлены [262].

Как указывалось в предыдущей главе, половые гормоны могут влиять на активность ферментов, в частности антиоксидантных. Данные, касающиеся воздействия стероидных гормонов на активность аминотрансфераз, немногочисленны. Изучение влияния гормонов (тестостерона, прогестерона, синтетического эстрогена и др.) на промежуточные звенья обмена веществ у мозамбикской тилляпии *Oreochromis mossambicus* показало, что активность АлАт и АсАт стимулировались или ингибировались после введения половых гормонов [273], в то время как на неоплодотворенные икринки вьюна *Misgurnus fossilis* эстрон не оказывал никакого влияния [52].

Очевидно, гормональный статус самок и самцов варьирует в зависимости от стадии репродуктивного цикла, и, следовательно, меняется и состояние других ферментных систем. Тем не менее, в крови линя [139] и карпа [275] не обнаружено отличий активности аминотрансфераз в течение репродуктивного цикла. Однако у лососевых рыб в период нереста активность аминотрансфераз в крови возрастает в 3-6 раз [212, 213]. В крови хариуса *Thymallus thymallus* [195] и тканях обыкновенного длинноперого сома [110] активность аминотрансфераз выше в период нереста по сравнению с пред- и посленерестовыми периодами.

Предполагают, что в период нереста гонады являются основным поставщиком аминотрансфераз. Более того, показано, что во всех тканях обыкновенного длинноперого сома в период нереста, помимо стандартных цитозольной и митохондриальной форм АсАт появляется еще одна – дополнительная анионная цитозольная АсАт [110].

Связь аминотрансфераз печени и гонад, по-видимому, является древней. У родственника предков всех хордовых – ланцетника *Branchiostoma belcheri* – АлАт присутствует только в печеночном дивертикулуме и гонадах и отсутствует в мышцах и других тканях, в которых обнаруживается у других хордовых, в том числе и у рыб. АлАт, как и вителлогенин, синтезируется в печени и потом транспортируется в гонады, где участвует в их созревании [209].

Роль аминотрансфераз в развитии гонад показана и для рыб. В семенниках кеты активность ферментов была в 1,6-2 раза выше, нежели в яичниках. Это объясняется тем, что развитие яичников в период морского нагула данного вида близко к завершению вителлогенеза, в то время как семенники характеризуются началом активного сперматогенеза, в котором отмечают интенсивные процессы переаминирования [87].

Таким образом, активность аминотрансфераз в печени у исследуемых видов рыб мало зависит от половой принадлежности, в отличие от трансаминаз сыворотки крови морского ерша.

Активность аминотрансфераз в печени изученных видов меняется неоднозначно, часто снижаясь или возрастая в течение жизненного цикла. Однако для большинства рыб установлена тенденция уменьшения активности ферментов с возрастом. Коэффициент де Ритиса также снижается у большинства исследованных видов, кроме ставриды.

Аналогичные возрастные колебания активности аминотрансфераз показаны другими исследователями у пресноводных рыб. В крови сиголеток, 2-х и 4-х годовиков белого амура активность АсАт примерно одинакова, однако у 2-х годовалых особей отмечен ее резкий спад. Активность АлАт, также была максимальная у 2-хлеток, и минимальна у трехлеток. Сходная картина получена

для сазана [10]. В нашем исследовании у султанки установлено более плавное снижение активности трансаминаз в печени, что согласуется с соответствующими данными для белого толстолобика [10] и крови лягушки [157].

Аминотрансферазы играют важную роль в процессах роста и созревания животных, являясь как поставщиками аминокислот для построения белков, так и аланина в печени, где в результате глюконеогенеза из него синтезируется глюкоза. В процессе онтогенеза рыб наблюдаются качественные и количественные различия активности трансаминаз и их распределение по субклеточным фракциям [87]. На ранних этапах развития радужной форели активность ферментов неуклонно возрастает и максимальный ее уровень зафиксирован у мальков. Резкое повышение активности ферментов на 80е сутки связано с интенсификацией азотистого обмена, так как личинки поднимаются «на плав», увеличивается их подвижность, и они переходят на экзогенное питание [87].

На третьем году жизни у морского ерша и спикары отмечено повышение активности аминотрансфераз. В этом возрасте у них наступает период половой зрелости, сопровождающийся интенсификацией общего метаболизма в связи с началом репродуктивной деятельности, когда аминотрансферазы принимают важное участие в созревании гонад.

Отмеченный спад активности трансаминаз у рыб с долгим жизненным циклом может быть связан с торможением белкового роста, снижением утилизации, потребления и эффективности использования азота, уменьшением содержания коферментов [75, 91, 104].

Помимо угасания белкового обмена и стадий репродуктивного цикла, как уже упоминалось в разделе 5.3, на активность ферментов может влиять изменение характера питания в ходе онтогенеза. Так у крыс контрольной группы активность аминотрансфераз и коэффициент де Ритиса снижались с возрастом, а в группах с различными типами питания происходило повышение активности ферментов, которое свидетельствовало о нарушении нормальной работы печени. [114].

Таким образом, для аминотрансфераз в тканях черноморских рыб характерны определенные колебания активности на протяжении всей жизни, обусловленные различным физиологическим состоянием, соответствующим определенному возрасту, условиями жизни и годовому циклу.

Все исследованные виды относятся к летненерестящим и увеличение активности аминотрансфераз является закономерным на фоне усиления общего метаболизма. Высокие значения активности ферментов в крови спикары (весна), ерша (лето), ставрида (весна и лето) в это время могут говорить об интенсивных процессах соматического роста и гаметогенеза.

Помимо нереста и температуры, еще одним важным фактором, обуславливающим сезонные изменения, является обеспеченность пищей. В крови лягушки питающейся естественной пищей показана минимальная активность как АлАт, так и АсАт, в то время как у особей, питающихся сбалансированным кормом с определённым уровнем белка, содержащем червей, мальков рыб активность ферментов выше. Максимальна она у особей, которых кормили бычьими внутренностями. Повышение активности ферментов в крови в данном случае говорит о перегрузке гепатоцитов, вследствие питания не соответствующей пищей [157]. В крови белуги *Huso huso* активность АлАт была максимальной при содержании 2% фосфолипидов в пище, а АсАт – 4% [171].

Таким образом, аминотрансферазы в тканях исследуемых видов подчиняются сезонным колебаниям, однако, возможно, на них существенное влияние оказывают изменения антропогенной нагрузки на прибрежные акватории в течение года.

Так, например, летом активность аминотрансфераз в печени спикары, в крови ерша сильно снижена. Причиной этого как уже упоминалось ранее, может быть возрастающая в этот период нагрузка на прибрежные акватории. Под воздействием нитритов в жабрах, печени и коже африканского сома активность АлАт существенно возрастала при 35 °С по сравнению с 27 °С, в то время как активность АсАт падала, тогда как в отсутствии токсиканта активность обоих ферментов незначительно возрастает [117]. Исследование активности

аминотрансфераз в крови африканского сома из загрязненной неорганическими токсикантами и условно чистой акваторий показало, что активность АЛат несколько возрастает в обоих водоемах в летний период, а активность АсАт падает. Но в акватории, испытывающей более сильный антропогенный прессинг, сезонные колебания активности были выражены значительно сильнее: активность АсАт у рыб в загрязненной акватории снижается более чем на 76%, в то время как в чистой только на 31% [113].

Под действием бенз(а)пирен в сыворотке нильской тилляпии при температуре 20 и 25 °С активность АсАт не отличалась от таковой в контроле, однако при 30 °С она возрастала на 38% [107]. Циперметрин (синтетический пиретроид) вызывал одинаковое повышение содержания свободных аминокислот (а, следовательно, и активности аминотрансфераз) как в летний период (при температуре 28 °С), так и в зимний (16 °С) в печени и мышцах полосатой колизы *Colisa fasciatus* [265].

Подтверждением повышения воздействия токсикантов и увеличение нагрузки на печень как на основной орган детоксикация в летнее время является снижение значений коэффициента де Ритиса у ерша, спикары и ставриды.

В природе рыбы обладают своего рода терморегуляцией, т.е. способны выбирать оптимальные температуры и избегать субоптимальных (в англоязычной температуре обозначается как *behavioral thermoregulation*) [125]. Тем не менее, эта способность может быть изменена различными факторами (сезон, фотопериод, возраст, интенсивность света, соленость, болезни, питание, загрязнение среды обитания) [23, 132, 135, 203, 251]. Под воздействием химических соединений, влияющих на функции мозга, терморегуляция может быть искажена. Это может привести к тому, что рыба будет оставаться в субоптимальных температурах, что способствует увеличению риска физиологических повреждений и даже смерти [107, 279].

На рыб, обитающих в прибрежной зоне г. Севастополя, оказывают влияние многие химические вещества, попадающие в акватории вследствие деятельности человека. Повышение активности аминотрансфераз у донных видов рыб в б.

Карантинная, а у пелагических – в б. Александровская, подтверждает то, что функции печени этих рыб находятся в «напряженном» состоянии вследствие усиленной детоксикации ксенобиотиков.

Модифицирующее влияние нефтяных углеводородов, гербицидов, тяжелых элементов и других поллютантов на активность аминотрансфераз рыб показана многими исследователями. Отмечена положительная корреляция между активностью аминотрансфераз в сыворотке африканского сома и концентрацией водного экстракта нигерийской нефти в воде [294]. Установлена связь между содержанием гербицидов и активностью АлАт в печени нильской тиляпии *Tilapia nilotica*, отловленной в 4х районах Нила, отличающихся содержанием пендиметалина [108]. Действие другого гербицида (дибромида) также приводило к возрастанию активности трансаминаз в мышцах и печени белого амура [215]. При концентрации фенола выше 40% активность АсАт в жабрах, печени и мышцах самок и самцов золотой тиляпии достоверно возрастала. Сходная картина получена и для АлАт в печени и мышцах, но в жабрах активность падает при концентрациях 40% и 80% [224].

Под действием тяжелых металлов в печени карпа отмечено снижение активности аминотрансфераз [246]. В крови индийского большого карпа, показано возрастание активности АлАт и АсАт через 96 час экспозиции в среде с хромом [165]. Аналогичные результаты получены для галлия в печени карпа [202].

Известны случаи учащения инвазии пресноводных рыб, обитающих в загрязненных водах и сопровождающихся биохимическими изменениями в крови [119, 270, 300].

Помимо этого, нами показано что токсический эффект зависит от пола и возраста некоторых видов рыб. Наиболее подверженными оказалась АлАТ в печени самцов и АсАт обоих полов.

В бухтах Александровская и Карантинная отмечено увеличение коэффициента де Ритиса у рыб группы 3+ - 4, что, по-видимому, связано с половым созреванием и модификацией функций печени, реорганизацией

белкового обмена и, как следствие, изменения активности аминотрансфераз. Установлен спад коэффициента де Ритиса и последующее его возрастание у старших возрастных групп в обоих исследуемых районах.

Максимальное значение коэффициента де Ритиса у султанки из б. Александровская показано для младшей возрастной группы, затем данный показатель снижается с возрастом. У рыб из б. Карантинная обнаружена обратная тенденция: минимальные значения у особей младшей возрастной группы и последующее возрастание у более взрослых. В отличие от морского ерша коэффициент де Ритиса у султанки выше у рыб из б. Александровская.

Интересная динамика коэффициента де Ритиса установлена для спикары. Как и у султанки, она характеризуется противоположными изменениями в двух районах исследования. В б. Александровской у младших возрастных групп данный показатель максимален, затем у рыб 2-4-х лет его значения снижаются, а у более взрослых снова возрастают. В б. Карантинная, напротив, минимальные значения у самых молодых и самых старых рыб, у 2-4-летних особей коэффициент де Ритиса повышается.

Спикара – вид, обладающий способностью менять пол в возрасте 3-4 лет [86], возможно, что характер полученных изменений коэффициента де Ритиса связан с различиями в прохождении данного процесса в двух исследуемых районах. Известно, что не только естественные причины могут приводить к смене пола у рыб. В морской среде существует множество так называемых эндокринных дизрупторов – соединений, сходных по химической структуре с гормонами, источниками которых могут быть как растения (фитоэстрогены), так и вещества антропогенного происхождения (синтетические стероиды, ПХБ, пестициды), которые могут индуцировать процессы синтеза женских половых гормонов в организме самцов или сами выполнять их роль [151, 276, 286].

С другой стороны, гипоксия также оказывает влияние на половой состав популяций. Так, при концентрации кислорода $1,5 \pm 0,1 \text{ mgO}_2 \text{ L}^{-1}$ (в норме $5,8 \pm 0,1 \text{ mgO}_2 \text{ L}^{-1}$) после 90 дней инкубации 54% генотипических самок китайской медяки *Oryzia latipes* имели развивающиеся семенники и 77% проявляли фенотипические

признаки самцов [151]. Однако существенных отличий в содержании кислорода в двух исследуемых регионах не установлено.

Как и у предыдущих 2-х видов, в печени ставриды отмечено противоположное изменение исследуемого показателя с возрастом. Однако в отличие от султанки коэффициент де Ритиса возрастает у более старших особей из б. Александровская и снижается у рыб из б. Карантинная. Следует отметить, что у ставриды из группы 1+ - 2 года из б. Карантинная значения коэффициента де Ритиса в 3 раза выше такового у рыб из б. Александровская, а показатели особей из возрастной группы 2+ - 3 в обеих бухтах становятся практически равны.

Полученные результаты показали видовую специфичность возрастных изменений активности аминотрансфераз в печени 4х видов черноморских рыб. Но, наряду с возрастом, существенный вклад в функционирование печени на всех жизненных этапах оказывает антропогенное воздействие. По-видимому, наиболее уязвимыми оказываются молодые особи (особенно придонно-пелагических и пелагических видов), с возрастом же наблюдается некоторая адаптация к негативным факторам, однако, с другой стороны, происходит снижение интенсивности всех биологических процессов, в том числе и процессов трансаминирования.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Прибрежные акватории среди природных объектов одни из наиболее подверженных антропогенному воздействию. Для обнаружения и прогнозирования развития негативных процессов, влияющих на акватории, разработки и реализации мер по предотвращению этих процессов и оценки эффективности водоохранных мероприятий проводится мониторинг водных объектов. В Крыму одним из таких объектов, испытывающих значительную антропогенную нагрузку, является система бухт города Севастополя.

Важное значение для оценки воздействия на водные экосистемы имеют исследования, проводимые на гидробионтах, особенно на рыбах, которые зачастую являются последним звеном в трофической цепи. Нормальное существование любого вида зависит от условий, в которых он взаимодействует с биотическими и абиотическими факторами среды обитания. Существенную роль при этом играет степень соответствия адаптационных механизмов организма рыб условиям внешней среды. Не являются исключением и черноморские виды, выработавшие приспособления к изменяющимся природным факторам Черного моря.

При проведении работ, связанных с биомониторингом акваторий в настоящее время всё более интенсивно применяются физиолого-биохимические методы. Одним из сравнительно новых биохимических методов оценки состояния организма является исследование синдрома эндогенной интоксикации, так как этот синдром развивается при всех патологических состояниях, связанных с повышенным катаболизмом или блокадой детоксикационных систем организма. Существенным фактором, влияющим на развитие ЭИ, является активация свободнорадикальных процессов, реализующаяся в виде ПОЛ, окислительной модификации белков, среднемолекулярных пептидов и нуклеиновых кислот [36, 37, 96, 100]. Усиление этих процессов, приводит к нарушению существующего в физиологических условиях баланса между анти- и прооксидантными системами в сторону повышения активности последних, т.е. возникновению окислительного

стресса, сопровождающегося неконтролируемой генерацией АФК, которые способны нарушать структуру и функцию клеточных мембран, приводящих к тяжёлым нарушениям клеточного метаболизма и существенным изменениям гомеостаза [1, 36, 37]. Однако у рыб данный синдром и его показатели изучены слабо.

На основании вышеизложенного была поставлена задача установить видовые особенности и определить характер половых, возрастных, сезонных изменений, а также выявить влияние антропогенной нагрузки на содержание СМО, уровень ОМБ, активность АОФ и аминотрансфераз, как показателей ЭИ.

Обнаружены видовые отличия исследуемых параметров, что может быть связано с эволюционно выработанной приспособленностью видов к условиям обитания. Показана низкая зависимость биохимических параметров от половой принадлежности. Тем не менее, некоторые показатели отдельных видов имеют отличия по полу. Одним из наиболее зависимых видов от данного фактора является султанка.

Более существенное влияние на состояние организмов рыб оказывает возраст. Активность АОФ и аминотрансфераз падает с возрастом, что, по-видимому, вызвано с одной стороны с накоплением токсичных веществ, а с другой с замедлением всех обменных процессов. Аналогичные данные получены и другими авторами [91, 116, 249].

Известно, что наибольшее влияние на пойкилотермные организмы оказывает температура [23, 143, 198]. В Черном море наблюдается четкая смена сезонов, в связи с чем возникла необходимость изучения исследуемых параметров в различные времена года. Несмотря на общую тенденцию повышения значений всех показателей в теплое время, в ряде случаев отмечено снижение активности ферментов и содержания СМО в тканях в весенне-летний период, что может свидетельствовать о модифицирующем воздействии антропогенного прессинга на акватории [173, 198, 231, 234, 253, 258]. Интересным является тот факт, что влияние температуры по-разному сказывается на особях одного вида, но

отличающихся по возрасту, что проявляется на разной адаптационной способности и физиологическом состоянии последних.

Не смотря на сильное влияние биотических и физиологических факторов на состояние организма рыб, немаловажно и антропогенное воздействие [17, 91, 140, 232, 236, 293]. Токсическая агрессия сопровождается неспецифическим генерализованным ответом организма в виде синдрома эндогенной интоксикации и изменением нормального гомеостаза. При этом возникают как адаптивные, так и токсические отклики. Тем не мене, невозможно однозначно сказать какой вид, показатель или ткань являются более чувствительными. Для каждого вида необходимо учитывать особенности биологии, возрастные, половые сезонные изменения биохимических параметров в разных тканях.

ВЫВОДЫ

1. Исследуемые биомаркеры (содержание среднемолекулярных олигопептидов и окисленномодифицированных белков, активность антиоксидантных ферментов и аминотрансфераз) в тканях 4 видов черноморских рыб характеризуют их адаптации к сочетанному действию комплексного загрязнения и природных факторов и могут быть использованы в мониторинговых программах для оценки состояния рыб и среды их обитания.
2. Содержание СМО и ОМБ в тканях морского ерша в 2 раза ниже по сравнению с другими видами рыб. Виды, принадлежащие к придонной, придонно-пелагической и пелагическим группам, имеют близкие значения содержания исследуемых биомаркеров, за исключением султанки, уровень ОМБ которой сходен с соответствующими значениям у морского ерша.
3. Активность антиоксидантных ферментов у донных рыб максимальна в крови и минимальна в печени, а у придонных, придонно-пелагических и пелагических видов обнаружена обратная зависимость (за исключением активности ПЕР в печени ставриды). Установлена высокая корреляция между активностью КАТ и ПЕР в крови ($r = 0,94$).
4. Для большинства видов рыб не обнаружено половых различий по содержанию исследуемых биомаркеров, за исключением содержания СМО и активности ПЕР в крови, активности КАТ и аминотрансфераз в печени султанки, а также уровня СМО в крови спикары, активности КАТ в печени ставриды, активности аминотрансфераз в крови морского ерша.
5. Значения исследуемых биомаркеров снижаются в 2-3 раза в тканях рыб старших возрастных групп по сравнению с показателями у молодых особей, за исключением содержания СМО в печени морского ерша и ставриды, и в крови султанки, а также активности АОФ в крови ставриды. Установлена прямая ($r = 0,49 - 0,94$) и обратная ($r = -0,28 - -0,98$) корреляционная связь между биомаркерами и возрастом рыб.

6. Для донных и придонных видов рыб исследуемые биохимические показатели возрастают в летне-осенний период в 2-7 раз по сравнению с зимне-весенним. У придонно-пелагических и пелагических видов выявлена обратная тенденция, за исключением активности аминотрансфераз в крови и аспартатаминотрансферазы в печени морского ерша, которые повышаются в 2-3 раза в осенне-зимний период по сравнению с весенне-летним.
7. Содержание СМО и ОМБ в тканях рыб из тестируемых акваторий, отличающихся уровнем загрязнения, не имеет достоверных отличий у большинства исследованных видов, за исключением СМО в крови султанки, содержание которого достоверно выше у рыб из б. Александровская ($p < 0,05$). Содержание СМО в печени морского ерша и ОМБ в сыворотке крови ставриды достоверно выше у особей из б. Карантинная ($p < 0,05$).
8. Активность антиоксидантных ферментов и аминотрансфераз в 1,5-3 раза выше в тканях рыб из б. Александровская по сравнению с особями из б. Карантинная, за исключением активности КАТ печени ставриды и активности аланинаминотрансферазы в печени морского ерша. Установлено влияние пола и возраста на биохимические показатели состояния рыб, отловленных в бухтах с различным уровнем загрязнения, при этом наиболее чувствительными к неблагоприятным условиям обитания являются молодые особи.

ПЕРЕЧЕНЬ УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АлАт – аланинаминотрансфераза

АОС – антиоксидантная система

АОФ – антиоксидантные ферменты

АсАт – аспартатаминотрансфераза

АФК – активные формы кислорода

БПК₅ – биологическое потребление кислорода за 5 суток

ГП – глутатионпероксидаза

ГР – глутатионредуктаза

ГТ – глутатион-S-трансфераза

ДНФГ – динитрофенилгидразин

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

КАТ – каталаза

МСМ – молекулы средней массы

НУВ – нефтяные углеводороды

ОМБ – окислительная модификация белков

ПДК – предельно-допустимые концентрации

ПЕР – пероксидаза

ПОЛ – перекисное окисление липидов

ПХБ – полихлорированные бифенилы

СМО – среднемолекулярные олигопептиды

СОД – супероксиддисмутаза

СПАВ – синтетические поверхностно-активные вещества

ХБСВ – хозяйственно-бытовые сточные воды

ХОП – хлорорганические пестициды

ЭИ – эндогенная интоксикация

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Аксенова В.М. Биохимические методы диагностики эндогенной интоксикации / В.М. Аксенова // Лабораторная диагностика синдрома эндогенной интоксикации: Методические рекомендации / сост.: В.М. Аксенова, В.Ф. Кузнецов, Ю.Н. Маслов, В.В. Щекотов, А.П. Щекотова ; под ред. И.П. Корюкиной. - Пермь, 2005. - С. 18-23.
2. Андреева А.М. Особенности проявления генов аспаратаминотрансферазы в раннем развитии некоторых видов карповых рыб и их межвидовых гибридов F1 / А.М. Андреева // Онтогенез. – 2007. – Т. 38, № 1. – С. 44–51.
3. Арчаков А.И. Модификация белков активным кислородом и их распад / А.И. Арчаков, Н.М. Мохосеев // Биохимия. – 1989. – Т. 54, вып. 2. – С. 179–186.
4. Асатиани В.С. Ферментные методы анализа / В.С. Асатиани. – Москва : Наука, 1969. – 611 с.
5. Барабой В.А. Механизм стресса и перекисное окисление липидов / В.А. Барабой // Успехи современной биологии. – 1991. – Т. 111, вып. 6. – С. 923–931.
6. Бахта А.А. Биохимические характеристики антиоксидантной защиты организма собак : автореф. дис. ... канд. биол. наук : 03.00.04 / А.А. Бахта. – Москва, 2007. – 23 с.
7. Биомониторинг прибрежных вод Черного моря / И.И. Руднева, Н.Ф. Шевченко, И.Н. Залевская [и др.] // Водные ресурсы. – 2005. – Т. 32, № 2. – С. 238–246.
8. Биохимия : учебник для вузов / под ред. Е.С. Северина. – Москва : ГЭОТАР-МЕД, 2003. – 779 с.
9. Биоэнергетика гидробионтов / Г.Е. Шульман, Г.А. Финенко, Б.Е. Аннинский и др. – Киев : Наук. думка, 1990. – 248с.
10. Бичарева О.Н. Активность сывороточных аминотрансфераз у карповых рыб / О.Н. Бичарева // Естественные науки. – 2011. – № 1 (34). – С. 96–100.
11. Болдырев А.А. Парадоксы окислительного метаболизма мозга / А.А. Болдырев // Биохимия. – 1995. – Т. 60. - С. 1536-1542.

- 12.Болдырев А.А. Роль активных форм кислорода в жизнедеятельности нейрона / А.А. Болдырев // Успехи физиологических наук. - 2003. - Т. 34, № 3. - С. 21-34.
- 13.Болтачев А.Р. Видовой состав ихтиофауны прибрежной зоны Севастополя / А.Р. Болтачев, Е.П. Карпова // Морской экологический журнал. – 2012. – Т. 11, № 2. – С. 10–27.
- 14.Бурлакова Е.Б. Биоантиоксиданты: вчера, сегодня, завтра / Е.Б. Бурлакова // Химическая и биологическая кинетика. Новые горизонты. - Москва, 2005. – Т. 2 : Биологическая кинетика. - С. 10–45.
- 15.Васильева Е.Д. Рыбы Черного моря. Определитель морских, солоноватоводных, эвригалинных и проходных видов с цветными иллюстрациями, собранных С.В. Богородским / Е.Д. Васильева. – Москва : Изд-во ВНИРО, 2007. – 238 с.
- 16.Вахтина Т.Б. Возрастные особенности активности антиоксидантных ферментов крови бычка-кругляка, обитающего в прибрежной части Севастополя / Т.Б. Вахтина // Понт Эвксинский IV : Всеукр. науч.-практич. конф. молодых ученых по проблемам Черного и Азовского морей, 24–27 мая 2005 г. : тез. докл. – Севастополь, 2005. – С. 23–24.
- 17.Вахтина Т.Б. Использование биохимических индикаторов рыб в биомониторинге прибрежной части Черного моря / Т.Б. Вахтина, О.В. Рощина, Е.Н. Скуратовская // Заповедники Крыма: заповедное дело, биоразнообразие, экообразование : материалы III науч. конф., 22 апр. 2005 г., Симферополь. – Симферополь, 2005. – Ч. 2: Зоология беспозвоночных. Зоология позвоночных. Экология. – С. 198–204.
- 18.Владимиров Ю.А. Активированная хемилюминесценция и биолуминесценция как инструмент в медико-биологических исследованиях / Ю.А. Владимиров // Соросовский образовательный журнал. – 2001. – Т. 7. – С. 16–20.
- 19.Влияние ртути на фракционный состав низкомолекулярных пептидов мускулатуры речного окуня *Perca fluviatilis* / И.В. Суховская, Л.П. Смирнов, Н.Н. Немова [и др.] // Вопросы ихтиологии. – 2001. – Т. 41, № 5. – С. 699–703.
- 20.Влияние физико-химических характеристик донных осадков на распределение микроэлементов на примере бухт Севастополя (Черное море) / А.С. Романов, Н.А. Орехова, О.Г. Игнатьев [и др.] // Экология моря. – 2007. – Вып. 73. – С. 85–90.

21. Гидролого-гидрохимический режим Севастопольской бухты и его изменения под действием климатических и антропогенных факторов / В.А. Иванов, Е.И. Овсяный, Л.Н. Репетин [и др.] / Мор. гидрофиз. ин-т НАН Украины. – Севастополь : ЭКОСИ-Гидрофизика, 2006. – 90 с.
22. Гидрохимическая характеристика отдельных бухт севастопольского взморья / Е.А. Куфтаркова, Н.Ю. Родионова, В.И. Губанов, Н.И. Бобко // Труды Южного научно-исследовательского института рыбного хозяйства и океанографии. – 2008. – Т. 46. – С. 110–117.
23. Голованов В.К. Эколого-физиологические закономерности распределения и поведения пресноводных рыб в термоградиентных условиях : автореф. дис. ... доктора биол. наук : 03.02.06 / В.К. Голованов. – Москва, 2012. – 46 с.
24. Гормональный статус крыс с хронической эндогенной интоксикацией / В.В. Новочадов, С.А. Калашникова, Л.В. Полякова [и др.] // Фундаментальные исследования. – 2006. – № 5 – С. 96–97.
25. Губанов В.И. Комплексные оценки качества вод Севастопольского взморья (Черное море) / В.И. Губанов, Л.В. Стельмах, Н.П. Клименко // Экология моря. – 2002. – Вып. 62. – С. 76–80.
26. Губський Ю.І. Перекисно-антиоксидантний механізм регуляції активності хроматину / Ю.І. Губський, Є.Л. Левицький // Журнал Академії медичних наук України. – 1997. – Т. 3, № 2. – С. 23–29.
27. Гулиев Р.А. Особенности динамики трансфераз крови их взаимосвязь с микроэлементным составом некоторых прудовых рыб астраханской области / Р.А. Гулиев // Естественные науки. – 2011. – № 1 (34). – С. 114–117.
28. Дубинина Е.Е. Биологическая роль супероксидного анион-радикала и супероксиддисмутазы в тканях организма / Е.Е. Дубинина // Успехи современной биологии. – 1989. – Т. 108, вып. 1 (4). – С. 3–17.
29. Дубинина Е.Е. Некоторые особенности функционирования ферментативной антиоксидантной защиты плазмы крови человека / Е.Е. Дубинина // Биохимия. – 1993. – Т. 58, вып. 2. – С. 268–273.

- 30.Дубинина Е.Е. Окислительная модификация белков / Е.Е. Дубинина, И.В. Шугалей // Успехи современной биологии. – 1993. – Т. 113, вып. 1. – С. 71–81.
- 31.Зенков Н.К. Окислительный стресс: Биохимический и патофизиологический аспекты / Н.К. Зенков, В.З. Ланкин, Е.Б. Меньщикова - Москва : МАИК «Наука/Интерпериодика», 2001. – 343 с.
- 32.Иванов И.И. Введение в клиническую энзимологию / Иванов И.И., Коровкин Б.Ф., Манкелов И.М. – Ленинград : Медицина, 1972. – 277 с.
- 33.Игуменов В.Л. Агрегация мембранных белков клеток *E. coli* при действии синглетного кислорода / В.Л. Игуменов, Б.П. Шаронов, В.А. Пасечник // Биохимия. – 1988. – Т. 53, вып. 6. – С. 925–930.
- 34.Интенсивность эндогенной интоксикации и монооксигеназная активность печени у больных ишемической болезнью сердца с полиорганной недостаточностью / В. А. Непомнящих, В. В. Ломиворотов, М.Н. Дерягин [и др.] // Кардиология и сердечно-сосудистая хирургия. – 2010. – № 1. – С. 13–18.
- 35.Капитанов А.Б. Каратиноиды как антиоксидантные модуляторы клеточного метаболизма/ А.Б. Капитанов, А.М. Пименов // Успехи современной биологии. – 1996. – Т. 116, вып. 2. – С. 179–193.
- 36.Карякина Е.В. Молекулы средней массы как интегральный показатель метаболических нарушений (обзор литературы) / Е.В. Карякина, С.В. Белова // Клиническая лабораторная диагностика. – 2004. – № 3. – С. 3–8.
- 37.Карякина Е.В. Особенности патогенетических механизмов эндогенной интоксикации у больных ревматоидным артритом / Е.В. Карякина, В. Белова // Научно-практическая ревматология. – 2001. – № 1. – С. 5–10.
- 38.Каталог инструкций. Диагностические наборы реактивов для клинических, биохимических и микробиологических исследований. - Днепропетровск : ООО НПП «Филисит-диагностика», 2005. – 199 с.
- 39.Ковыршина Т.Б. Прооксидантно-антиоксидантный баланс крови бычка-кругляка из Черного и Азовского морей / Т.Б. Ковыршина / Водные ресурсы и аквакультура / под ред. И.И. Грициняка и др. – Киев : ДИА, 2010. – 400 с.

- 40.Ковыршина Т.Б. Сезонная динамика активности антиоксидантных ферментов крови бычка-кругляка из Черного и Азовского морей / Т.Б. Ковыршина // Современные проблемы водной токсикологии : материалы конф., 17-19 мая 2011 г., г. Петрозаводск. – Петрозаводск : Изд-во ПетрГУ, 2011. – 197 с.
- 41.Колесникова Е.А. Макрозообентос кутовой части Стрелецкой бухты (Черное море) / Е.А. Колесникова, Н.А.Болтачева, М.В. Макров // Наукові записки Тернопільського НПУ ім В. Гнатюка. Серія: Біологія. Спец. Вип. «Гідроекологія». – 2005. – № 4 (27). – С. 297–299.
- 42.Комов В.П. Биохимия : учебник для вузов / В.П. Комов, В.Н. Шведова. – Москва : Дрофа, 2004. – 640 с. – (Высшее образование: Современный учебник).
- 43.Комплексная оценка качества водной среды с помощью биомаркеров разного уровня / И.И. Руднева, Н.Ф. Шевченко, Л.С. Овен [и др.] // Актуальные проблемы водной токсикологии : сборник статей / под ред. Флерова Б.А. ; Институт биологии внутренних вод РАН. – Борок, 2004. – С. 248.
- 44.Копытов Ю.П. Уровень загрязненности воды и донных отложений Севастопольской бухты (Черное море) / Ю.П. Копытов, Н.И. Минкина, Э.З. Самышев // Системы контроля окружающей среды : сб. науч. тр. / НАН Украины, Мор. гидрофиз. ин-т. – Севастополь, 2010. – Вып. 14. – С. 199–208.
- 45.Красновид И.И. Экологическое состояние внутренних морских вод г. Севастополя / И.И. Красновид, Б.А. Озюменко // Сборник научных работ специалистов санитарно-эпидемиологической службы Севастополя. – Севастополь, 2002. - Вып. 7. – С. 26–33.
- 46.Кузьминова Н.С. Видовые и экологические особенности активности лизоцима в сыворотке крови черноморских рыб / Н.С. Кузьминова // Экологические системы и приборы. – 2010. – № 2 - С. 22–27.
- 47.Кузьминова Н.С. Половые и возрастные особенности устойчивости морского ерша *Scorpaena porcus* L. по отношению антропогенному фактору / Н.С. Кузьминова, Е.Н. Скуратовская // Системы контроля окружающей среды. Средства, информационные технологии и мониторинг : сборник научных трудов / НАН Украины, Мор. гидрофиз. ин-т. – Севастополь, 2008. – С. 414–420.

48. Кузьмина Н.С. Концентрация малых циркулирующих иммунокомплексов в сыворотке крови некоторых черноморских рыб / Н.С. Кузьмина // Современные проблемы физиологии и биохимии водных организмов : материалы III Междунар. конф. с элементами школы для молодых ученых, аспирантов и студентов, 22-26 июня 2010 г., г. Петрозаводск. – Петрозаводск, 2010. – С. 96-98.
49. Кузьмина Н.С. Оценка токсического действия хозяйственно-бытовых сточных вод на морские организмы : дис. ... канд. биол. наук : 03.00.16 / Наталья Станиславовна Кузьмина. - Москва, 2006. - 168 л.
50. Кузьмина Н.С. Популяционные характеристики черноморской ставриды в современный период / Н.С. Кузьмина // Состояние экосистем шельфовой зоны Черного и Азовского морей в условиях антропогенного воздействия : сб. ст. посвящ. 90-летию Новороссийской морской биостанции им. проф. В.М. Арнольди. – Краснодар, 2010. – С. 93–100.
51. Кузьмина Н.С. Популяционные характеристики спикары *Spicara flexuosa* в современный период / Н.С. Кузьмина // Актуальні проблеми сучасної біології та здоров'я людини : XI Міжнар. наук.-практ. конф. : зб. наук.праць / під ред. С.В. Гетманцева. – Миколаїв, 2011. - Вип. 11. - С. 149–154.
52. Кусень С.И. Влияние аминокислот, гормонов и актиномицина D на активность аминотрансфераз в неоплодотворенной икре выюна / С.И. Кусень, И.С. Пашковская // Украинский биохимический журнал. – 1973. – Т. 45, № 5. – С. 568–577.
53. Лакин Г.Ф. Биометрия / Г.Ф. Лакин. - Москва : Высшая школа, 1990. - 352 с.
54. Левицкий Е.Л. Пути и механизмы реализации антиоксидантного эффекта в клетке / Е.Л. Левицкий // Фармокологічний вісник. – 1998. – № 2. – С. 68–71.
55. Литвин Ф.Ф. Практикум по физико-химическим методам в биологии / Ф.Ф. Литвин. – Москва : Из-во МГУ, 1981. – С. 86–87.
56. Луцак В.И. Свободнорадикальное окисление белков и его связь с функциональным состоянием организма / В.И. Луцак // Биохимия. – 2007. – Т. 72, вып. 8. – С. 995–1017.

57. Лю Б.Н. Кислородно-перекисная концепция апоптоза и возможные варианты его механизма / Б.Н. Лю // Успехи современной биологии. – 2001. – Т. 121, вып. 5. – С. 488.
58. Механизмы развития когнитивного дефицита под действием кислородных радикалов в условиях стресса / Ю.И. Губский, И.Ф. Беленичев, Е.Л. Левицкий [и др.] // Современные проблемы токсикологии. – 2006. – № 3. – С. 10–14.
59. Миронюк М.О. Процеси переамінування в організмі риб за дії нафтопродуктів водного середовища / М.О. Миронюк, О.М. Арсан, В.О. Хоменчук // Гидробиологический журнал. – 2008. – Т. 44, № 2. – С. 88–95.
60. Овен Л.С. Многолетняя динамика видового состава и численности рыб Черного моря в районе Севастополя / Л.С. Овен, Л.П. Салехова, Н.С. Кузьминова // Рыбное хозяйство Украины. – 2008. – № 4 (57). – С. 15–18.
61. Овен Л.С. Новые сведения о размерно-массовом составе рулены *Crenilabrus tinca* (Linnaeus, 1758) (Pisces, Labridae) в прибрежной зоне Севастополя (Черное море) / Л.С. Овен, Л.П. Салехова, Н.С. Кузьминова // Рыбное хозяйство Украины. – 2010. – № 2 (67). – С. 16–19.
62. Овен Л.С. Сравнительный анализ популяционных показателей некоторых черноморских видов рыб, обитающих в бухтах района Севастополя / Л.С. Овен, И.И. Руднева, Н.Ф. Шевченко / Естественно-биологические и экологические проблемы Восточного Крыма. – Керчь, 2001. – С. 55–60.
63. Окислительная модификация белков плазмы крови больных психическими расстройствами (депрессия, деперсонализация) / Е.Е. Дубинина, М.Г. Морозова, Н.В. Леонова [и др.] // Вопросы медицинской химии. – 2000. – Т. 46, № 4. – С. 398–410.
64. Окислительная модификация белков сыворотки крови человека, метод ее определения / Е.Е. Дубинина, С.О. Бурмистров, Д.А. Ходов [и др.] // Вопросы медицинской химии. – 1995. – Т. 41, № 1. – С. 24–26.
65. Окислительная модификация белков: окисление триптофана и образование битирозина в отчищенных белках с использованием системы Фентона / Е.Е.

- Дубинина, С.В. Гаваровская, Е.В. Кузьмич [и др.] // Биохимия. – 2002. – Т. 67, вып. 3. – С. 413–421.
- 66.Олексюк Н.П. Активність про- і антиоксидатних систем у печінці прісноводних риб у різні пори року / Н.П. Олексюк, В.Г. Янович // Укр. біохім. журн. – 2010. – Т. 82, № 3. – С. 41–47.
- 67.Омельченко С.О. Состояние азотистого обмена рыб в условиях загрязнения нитрозаминами и токсичными элементами : автореф. дис. ... канд. биол. наук : 03.00.04 / Светлана Олеговна Омельченко. – Одесса, 2009. – 21 с.
- 68.Осадчая Т.С. Экологическое качество донных осадков Севастопольской бухты: ретроспектива и современное состояние / Т.С. Осадчая, С.В. Алемов, Т.В. Шадрин // Экология моря. – 2004. – Вып. 66. – С. 82–87.
- 69.Подунай Ю.А. Возрастная динамика активности катепсинов и содержания среднемолекулярных пептидов в мышцах морского ерша / Ю.А. Подунай, И.Н. Залевская, И.И. Руднева // Ученые записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2009. – Т. 22 (61), № 4. – С. 128–134.
- 70.Поляновский О.Л. Аспартат-аминотрансфераза. Исследование структуры и каталитических функций / О.Л. Поляновский // Успехи биологической химии. – 1977. – Т. 18. – С. 92–121.
- 71.Правдин И.Ф. Руководство по изучению рыб / И.Ф. Правдин. – Москва : Пищевая промышленность, 1966. – 376 с.
- 72.Практикум по биохимии : учебное пособие / А.А. Чиркин. – Минск : Новое Знание, 2002. – 512 с. - (Медицинское образование).
- 73.Применение биомаркеров рыб для оценки экологического риска морских акваторий, подверженных антропогенному воздействию / И.И. Руднева, Н.С. Кузьмина, Е.Н. Скуратовская [и др.] // Рыбное хозяйство. – 2010. – № 1. – С. 50–53.
- 74.Роль процессов свободнорадикального окисления в патогенезе инфекционных болезней / А.П. Шепелев, И.В. Корниенко, А.В. Шестопалов [и др.] // Вопросы медицинской химии. – 2000. – Т. 46, № 2. – С. 110-116.

- 75.Рощина О.В. Влияние природных и антропогенных факторов на активность ферментов сыворотки крови черноморских рыб : дис. ... канд. биол. наук : 03.00.16 / О.В. Рощина. – Москва, 2010. – 150 с.
- 76.Руднева И.И. Половые особенности активности антиоксидантных ферментов крови некоторые прибрежных видов рыб Черного моря / И.И. Руднева, Е.Н. Скуратовская // Вопросы ихтиологии. – 2009. – Т. 49, № 1. – С. 125–128.
- 77.Руднева И.И. Действие полихлорированных бифенилов на антиоксидантную систему и перекисное окисление липидов в гонадах черноморской султанки *Mullus barbatus ponticus* / И.И. Руднева, Н.В. Жерко // Биология моря. – 1999. – № 3. – С. 239–242.
- 78.Руднева И.И. Морская экотоксикология / И.И. Руднева // Экологические системы и приборы. – 2010. – Т. 2. – С. 3–11.
- 79.Руднева И.И. Ответные реакции молоди черноморской кефали на загрязнение мазутом / И.И. Руднева, Т.Л. Чесалина, Н.С. Кузьмина // Экология. – 2000. – № 4. – С. 304–306.
- 80.Руднева И.И. Ответные реакции морских животных на антропогенное загрязнение Черного моря : дис. ... доктора биол. Наук : 03.00.29 / Ирина Ивановна Руднева. – Москва, 2000. – 357 с.
- 81.Руднева И.И. Применение биомаркеров рыб для экотоксикологической диагностики водной среды / И.И. Руднева // Рыбное хозяйство Украины. – 2006. – № 1. – С. 20–23.
- 82.Руднева И.И. Эколого-физиологические особенности антиоксидантной системы у рыб и процессов перекисного окисления липидов / И.И. Руднева // Успехи современной биологии. – 2003. – Т. 123, № 4. – С. 391–400.
- 83.Руднева И.И. Эколого-филогенетические особенности липидного состава и процессов перекисного окисления липидов у хрящевых и костистых рыб Черного моря / И.И. Руднева // Журнал эволюционной биохимии и физиологии. – 1998. – Т. 34, № 3. – С. 310–318.

84. Руднева-Титова И.И. Соотношение активности антиоксидантных ферментов и процессов перекисного окисления липидов в эмбриогенезе черноморского бычка-кругляка / И.И. Руднева-Титова // Онтогенез. – 1994. – Т. 25, № 3. – С. 12–20.
85. Руднева-Титова И.И. Формирование антиоксидантной системы в раннем онтогенезе морских животных / И.И. Руднева-Титова // Успехи современной биологии. – 1997. – Т. 117, вып. 3. – С. 390–398.
86. Салехова Л.П. Смаридовые рыбы морей средиземноморского бассейна / Л.П. Салехова. – Киев : Наукова думка, 1979. – 172 с.
87. Самсонова М.В. Аланин- и аспартатаминотрансферазы как индикаторы физиологического состояния рыб : дис. ...канд. биол. наук : 03.00.04 / М.В. Самсонова – Москва, 2002. – 166 л.
88. Санитарно-бактериологическая характеристика Карантинной бухты (Севастополь, Черное море) / О.Г. Миронов, Л.В. Енина, Р.В. Сосновская [и др.] // Экология моря. – 2002. – Вып. 59. – С. 70–73.
89. Световидов А.Н. Рыбы Черного моря / А.Н. Световидов. – Ленинград : Наука, 1964. – 550 с.
90. Синицкая Н.С. Роль пептидов в свободно-радикальном окислении и старении организма / Н.С. Синицкая, В.Х. Хавинсон // Успехи современной биологии. – 2002. – Т. 122, вып. 6. – С. 557–568.
91. Скуратовская Е.Н. Состояние антиоксидантной ферментной системы крови черноморских рыб в условиях комплексного хронического загрязнения : дис. ...канд. биол. наук : 03.00.04 / Скуратовская Екатерина Николаевна. – Севастополь, 2009. – 148 л.
92. Современное состояние ихтиофауны Черного моря : сб. науч. тр. / НАН Украины, Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского ; отв. ред. С.М. Коновалов. – Севастополь : ЭКОСИ-Гидрофизика, 1996. – 214 с.
93. Современное состояние отдельных элементов экосистемы бухты Александровская (район Севастополя) / А.А. Субботин, В.И. Губанов, О.А. Трощенко [и др.] / Экологическая безопасность прибрежной и шельфовой зон и

- комплексное использование ресурсов шельфа : сб. науч. тр. – Севастополь, 2007. – Вып. 15. – С. 89-93.
94. Сорокина А.В. Активность каталазы в органах некоторых донных черноморских рыб / А.В. Сорокина, Н.С. Кузьминова // Экология: проблемы, решения – молодежное видение : материалы Укр.-рос. конф. «От рек к морям. Молодежное видение экологических проблем», 18–21 сен. 2006, Севастополь. – Севастополь, 2006. – Вып. 3. – С. 49–53.
95. Титов В.Н. Методологические и диагностические аспекты исследования активности аминотрансфераз (обзор литературы)/ В.Н. Титов, Н.А. Бочкова // Лабораторное дело. – 1990. – № 8. – С. 4–12.
96. Титов В.Н. Экзогенные и эндогенные патологические факторы (патогенны) как причина воспаления / В.Н. Титов // Клиническая и лабораторная диагностика. – 2004. – № 5. – С. 3–10.
97. Фастова И.А. Морфофункциональные изменения в легких в динамике эндогенной интоксикации при экспериментальной острой обтурационной тонкокишечной непроходимости / И.А. Фастова // Вопросы морфологии XXI века : сборник научных трудов, посвящ. 100-летнему юбилею кафедры медицинской биологии СПбГМА им. И.И. Мечникова / под. ред. С.В. Костюкевича. - Спб. : ДЕАН, 2008. – Вып. 1. – С. 294-296.
98. Филенко О.Ф. Основы водной экотоксикологии / О.Ф. Филенко, И.В. Михеева. – Москва : Колос, 2007. – 144 с.
99. Цехмістренко С.І. Вікові особливості функціонування системи антиоксидантного захисту крові страусів / С.І. Цехмістренко, В.М. Поліщук // Укр. біохім. журн. – 2010. – Т. 82, № 5. – С. 92–97.
100. Чаленко В.В. Эндогенная интоксикация в хирургии / В.В. Чаленко, Ф.Х. Кутушев // Вестник хирургии им. И.И. Грекова. – 1990. – Т. 4. – С. 3–8.
101. Чесалина Т.Л. Воздействие тяжелых нефтяных фракций на икру и личинок бычка-кругляка *Neogobius melanostomus* / Т.Л. Чесалина, И.И. Руднева // Вопросы ихтиологии. – 1998. – Т. 38, № 3. – С. 426–429.

102. Чесалина Т.Л. Токсическое действие соляра на молодь черноморской кефали-остроноса *Liza saliens* / Т.Л. Чесалина, И.И. Руднева, Н.С. Кузьминова // Вопросы ихтиологии. – 2000. – Т. 40, № 3 – С. 429–432.
103. Шаронов Б.П. Антиокислительные свойства и деградация белков сыворотки активными формами кислорода, генерируемыми стимулированными нейтрофилами / Б.П. Шаронов, Н.Ю. Говорова // Биохимия. – 1988. – Т. 53, вып. 5. – С. 816–825.
104. Шульман Г.Е. Продуктивность рыб Черного моря / Г.Е. Шульман, С.Ю. Урденко. - Киев : Наук. думка, 1989. – 188 с.
105. A comparative study of hematological and blood chemistry of Indian and Italian Grey Mullet (*Mugil cephalus Linneaus 1758*) / F. Fazio, P. Satheeshkumar, D. Senthil Kumar [et al.] // Herbert Open Access Journals. Biology. – 2012. – Vol. 1. - Available at : <http://www.hoajonline.com/journals/pdf/2050-0874-1-5.pdf>
106. A comparative study on the activity of hepatic and muscular catalase in freshwater fish species / E. Ciornea, G. Vasile, D. Cojocaru [et al.] // Analele Științifice ale Universității “Alexandru Ioan Cuza”, Secțiunea Genetică și Biologie Moleculară. – 2009. – Т. 10. – P. 13–18.
107. A preliminary study about the effect of benzo[*a*]pyrene (BaP) injection on the thermal behavior and plasmatic parameters of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) acclimated to different temperatures / M. Martinez-Porchas, M. Henández-Rodríguez, J. Dávila-Ortiz [et al.] // Pan-American Journal of Aquatic Sciences. – 2011. – Vol. 6, no. 1. – P. 76–85.
108. Abd-Aldagir M.I. Changes of fish liver (*Tilapia nilotica*) made by herbicide (Pendimethalin) / M.I Abd-Aldagir., M.K. Sabah Elkhierand, O.F. Idris // Journal of Applied Biosciences. – 2011. – Vol. 43. – P. 2942–2946.
109. Activities of superoxide dismutase and catalase in erythrocytes and plasma transaminases of goldfish (*Carrassius auratus gibelio* Bloch.) exposed to cadmium / R. Zikic, A. Stajn, S. Pavlovic [et al.] // Physiology Research. – 2001. – Vol. 50, iss. 1. – P. 105–116.

110. Activity and expression of aspartate aminotransferase during the reproductive cycle of a fresh water fish, *Clarias batrachus* / A.S. Srivastava, I. Oohara, T. Suzuki [et al.] // Fish Physiology & Biochemistry. – 1999. – Vol. 20, no. 3. – P. 243–250.
111. Activity of oxidative stress biomarkers in the white muscle of red mullet (*Mullus barbatus* L.) from the Adriatic Sea / S.Z. Pavlović, S.S. Borković Mitić, T.B. Radovanović [et al.] // Archives of Biological Sciences. – 2009. – Vol. 61, iss. 4. – P. 693–701.
112. Adams S.M. Assessing cause and effect of multiple stressors on marine systems / S.M. Adams // Marine Pollution Bulletin. – 2005. – Vol. 51, iss. 8–12. – P. 649–657.
113. Adham K.G. Sublethal effects of aquatic pollution in Lake Maryūt on the African sharpthooth catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822) / K.G. Adham // Journal of Applied Ichthyology. – 2002. – Vol. 18. – P. 87–94.
114. Age-Related Biomarkers Can Be Modulated by Diet in the Rat / H. A. MacQueen, W. S. Wassif, I. Walker [et al.] // Food and Nutrition Sciences. – 2011. – Vol. 2, no. 8. – P. 884–890.
115. Age-related changes in antioxidant enzyme activities, fatty acid composition and lipid peroxidation in whole body *Gammarus locusta* (Crustacea: Amphipoda) / A. D. Correia, M. H. Costa, O. J. Luis [et al.] // Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. – 2003. – Vol. 289, iss. 1. – P. 83–101.
116. Age-related Markers assayed at different developmental stage of the annual fish *Nothobranchius rachovii* / Chin-Yuan Hsu, Ya-Chi Chiu, Wei-Lin Hsu [et al.] // Journal of Gerontology. – 2008. – Vol. 63A, iss. 6. – P. 1267–1276.
117. Ajani F. Histopathological and enzyme changes in *Clarias gariepinus* (Burchell 1822) exposed to nitrite at different water temperature/ F. Ajani, B.O. Emikpe, O.K. Adeyemo // Nature and Science. – 2011. – Vol. 9, no. 5. – P. 119–124.
118. Almroth B. C. Oxidative damage in rainbow trout caged in a polluted river / B. C. Almroth, J. Sturve, L. Förlin // Marine Environmental Research. – 2008. – Vol. 66, iss. 1. – P. 90–91.

119. An approach to the interaction between Trichodiniasis and pollution with Benzo-
a-pyrene in catfish (*Clarias gariepinus*) / H.A.M. Osman, M.M. Ismaiel, T.W. Abbas [et
al.] // World Journal of Fish and Marine Science. – 2009. – Vol. 1, iss. 4. – P. 283–289.
120. An Investigation of Antioxidant Enzymes Activities in Liver of *Cyprinus carpio*
Taken from Different Stations in the Karakaya Dam Lake / H. R. Yilmaz, Y. Turkoz, E.
Yuksel [et al.] // International Journal of Science & Technology. – 2006. – Vol. 1, no 1.
– P. 1–6.
121. Antioxidant efficiency and detoxification enzymes in spotted dogfish *Scyliorhinus*
canicula / S. Gorbia, D. Pellegrinib, S. Tedescoa [et al.] // Marine Environmental
Research. – 2004. – Vol. 58, iss. 2-5. – P. 293–297.
122. Antioxidant enzymes in liver of dab *Limanda limanda* from the North Sea / D.R.
Livingstone, S. Archibald, J.K. Chipman [et al.] // Marine Ecology Progress Series. –
1992. – Vol. 91. – P. 97–104.
123. Antioxidant enzymes in *Oreochromis mossambicus* as biochemical indicators of
aquatic pollution from Chromep lake at Chennai, India / S. Ganesan, C. Prabhakar, P.
Saravanan [et al.] // International Journal of Resent Scientific Research. – 2011. – Vol.
2, iss. 4. – P. 91–93.
124. Antioxidant responses and plasma biochemical characteristics in the freshwater
rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, after acute exposure to the fungicide
propiconazole / Z.-H. Li, V. Zlabek, J. Velišek [et al.] // Czech Journal of Animal
Sciences. – 2011. – Vol. 56, iss. 2. – P. 61–69.
125. Armour C. Guidance for evaluating and recommending temperature regimes to
protect fish / C. Armour ; U.S. Fish and Wildlife Service. – U.S.A., 1991. – 13 p. -
(Biological Report ; 90 (22)).
126. Aspartate- and alanine-aminotransferase in early development of keta / M.V.
Samsonova, N.O. Minkova, E.V. Mikodina [et al.] // Ontogenez. – 2003. – Vol. 34, iss.
1. – P. 19–23.
127. Assessment of environmental quality and inland water pollution using biomarker
responses in caged carp (*Cyprinus carpio*): use of a bioactivation: detoxication ratio as a

- biotransformation index (BTI) / R. Van der Oost, S.C.C. Lopes, H. Komen [et al.] // Marine Environmental Research. – 1998. – Vol. 46, iss. 1–5. – P. 315–319.
128. Assessment of pollution in the West Black Sea Coast of Turkey using biomarker responses in fish. / A. Bozcaarmutlu, C. Sampaz, Z. Aygun [et al.] // Marine Environmental Research. – 2009. – Vol. 67, iss. 4/5. – P. 167–176.
129. Azare B.A. Molluscicidal activity of crude water leaf extracts of *Alternanthera sessilis* on *Bulinus* (Phy) *globosus* / B.A. Azare, S.K. Okwute, S.L. Kela // African Journal of Biotechnology. – 2007. – Vol. 6, no. 4. – P. 441–444.
130. Bagnyukova T.V. Coordinated response of goldfish antioxidant defenses to environmental stress / T.V. Bagnyukova, O.I. Chahrak, V.I. Lushchak // Aquatic Toxicology. – 2006. – Vol. 78. – P. 325–331.
131. Bagnyukova T.V. Adaptive response of antioxidant enzymes to catalase inhibition by aminotriazole in goldenfish liver and kidney / T.V. Bagnyukova, K.B. Storey, V.I. Lushchak // Comparative Biochemistry and Physiology Pt. B. – 2005. – Vol. 142, iss. 3. – P. 335–341.
132. Baird O.E. Behavioral thermoregulation of brook and rainbow trout: comparison of summer habitat use in an Adirondack River, New York / O.E. Baird, C.C. Krueger // Transactions of the American Fisheries Society. – 2003. – Vol. 132. – P. 1194–1206.
133. Baseline health parameters and species comparisons among free-ranging atlantic sharpnose (*Rhizoprionodon terraenovae*), bonnethead (*Sphyrna tiburo*), and spiny dogfish (*Squalus acanthias*) sharks in Georgia, Florida, and Washington, USA / K.H. Haman, T.M. Norton, A.C. Thomas [et al.] // Journal of Wildlife Diseases. – 2012. – Vol. 48, no. 2. – P. 295–306.
134. Behavioral and neurotoxic effects of arsenic exposure in zebrafish (*Danio rerio*, Teleostei: Cyprinidae) / M. R.de Castro, J.V. Lima, D.P.S. de Freitas [et al.] // Comparative Biochemistry and Physiology Pt. C. – 2009. – Vol. 150, iss. 3. – P. 337–342.
135. Behavioral thermoregulation in two freshwater fish species / A.J.W. Ward, E.M.A. Hensor, M.M. Webster [et al.] // Journal of Fish Biology. – 2010. – Vol. 76. – P. 2287–2298.

136. Berlett B. S. Protein Oxidation in Aging, Disease, and Oxidative Stress. / B. S. Berlett, E. R. Stadtman // Journal of Biological Chemistry. – 1997. – Vol. 272. – P. 20313–20316.
137. Bhattacharya H. Toxicity studies of nonylphenol on rosy barb (*Puntius conchonioides*): A biochemical and histological evaluation. / H. Bhattacharya, Q. Xiao, L. Lun // Tissue and Cell. – 2008. – Vol. 40, iss. 4. – P. 243–249.
138. Biochemical biomarkers in adult female perch (*Perca fluviatilis*) in a chronically polluted gradient in the Stockholm recipient (Sweden) / T. Hansson, D. Schieden, K.K. Lehtonen [et al.] // Marine Pollution Bulletin. – 2006. – Vol. 53, iss. 8-9. – P. 451–468.
139. Biochemical profile of blood plasma of tench (*Tinca tinca* L.) during pre- and postspawning period / M. Svoboda, J. Kouřil, J. Hamáčková [et al.] // Acta Veterinaria Brno. – 2001. – Vol. 70. – P. 259–268.
140. Biochemical responses and DNA damage in red sea bream from coastal Fujian Province, China / S. Gopalakrishnan, Z. Nai, H. Thilagam [et al.] // Ecotoxicology and Environmental Safety. – 2011. – Vol. 74. – P. 1526–1535.
141. Biochemical variations among some species of pond fishes / A.S.S. Naushad, B. Kumar Tiwari, P. Singh [et al.] // Global Journal of Biology, Agriculture & Health Sciences. – 2013. – Vol. 2, iss. 2. – P. 1–6.
142. Biomarker response in caged rockfish (*Sebastes schlegelii*) from Masan Bay and Haegeumgang, South Korea/ H. Jung, S.-J. Kim, T.-K. Lee [et al.] // Marine Pollution Bulletin. – 2008. – Vol. 57, iss. 6-12. – P. 599–606.
143. Biomarkers in croakers *Micropogonias furnieri* (Teleostei: Sciaenidae) from polluted and non-polluted areas from the Patos Lagoon estuary (Southern Brazil): Evidences of genotoxic and immunological effects / L.L. Amando, C.E. Rosa, A.M. Leite [et al.] // Marine Pollution Bulletin. – 2006. – Vol. 52. – P. 199–206.
144. Biomarkers of exposure and effect in the Brazilian flounder *Paralichthys orbignyanus* (Teleostei: Paralichthyidae) from the Patos Lagoon estuary (Southern Brazil) / L.L. Amando, R.B. Robaldo, L. Geracitano [et al.] // Marine Pollution Bulletin. – 2006b. – Vol. 52. – P. 207–213.

145. Biomarkers responses in flounder (*Platichthys flesus*) and mussel (*Mytilus edulis*) in the Klaipeda-Butinge area (Baltic Sea) / J. Barsiene, K.K. Lehtonen, A. Koehler [et al.] // Marine Pollution Bulletin. - 2006. – Vol. 53, iss. 8-9. – P. 422–436.
146. Biotransformation and glutathione homeostasis in rainbow trout exposed to chemical and physical stress / P. Lindstrom-Seppa, S. Roy, S. Huuskonen [et al.] // Marine Environmental Research. – 1996. – Vol. 42, iss. 1–4. – P. 323–327.
147. Cain K. Plasma biochemistry reference values of wild caught southern stingrays (*Dasyatis americana*) / K. Cain, C.A. Harms, A. Segars // Journal of Zoo and Wildlife Medicine. – 2004. - Vol. 35, no. 4. – P. 471–476.
148. Cancio I. Seasonal variation of peroxisomal enzyme activities and peroxisomal structure in mussels *Mytilus galloprovincialis* and its relationship with the lipid content / I. Cancio, A. Ibabe, M. P. Cajaraville // Comparative Biochemistry & Physiology Pt. C. – 1999. – Vol. 123, iss. 2. – P. 135–144.
149. Chainy G.B. Testosterone-induced changes in testicular antioxidant system / G.B. Chainy, S. Samantaray, L. Samanta // Andrologia. – 1997. – Vol. 29. – P. 343–349.
150. Changes in hematological and serum biochemical values in jundia *Rhamdia quelen* due to sub-lethal toxicity of cypermethrin / A. Borges, L.V. Scotti, D.R. Siqueira [et al.] // Chemosphere. – 2007. – Vol. 69, iss. 6. – P. 920–926.
151. Cheung Hin Ying. Effects of hypoxia on sex determination and differentiation in the Japanese medaka (*Oryzias latipes*) / Cheung Hin Ying. - Thesis (M. Phil.). - City University of Hong Kong, 2008. – 75 p.
152. Chromium(III) induces oxidative stress in goldfish liver and kidney / O.V. Lushchak, O.I. Kubrak, O.V. Lozinsky [et al.] // Aquatic Toxicology. – 2009. – Vol. 93, iss. 1. – P. 45–52.
153. Chronological and physiological ageing in a polar and a temperate mud clam / E. Philipp, T. Brey, H.-O. Portner, D. Abele // Mechanisms of Ageing & Development. – 2005a. – 126. – P. 598–609.
154. Comparative antioxidant enzyme study in freshwater fish with different types of feeding behavior / A.A.R. Radi, D.Q. Hai., B. Matkovics [et al.] // Comparative Biochemistry and Physiology Pt. C. – 1985. – Vol. 81. – P. 395–399.

155. Comparative study of the biochemical and haematological parameters of four wild Tyrrhenian fish species / F. Fazio, S. Marafioti, F. Arfuso [et al.] // *Veterinari Medicina*. – 2013. – Vol. 58, no. 1. – P. 576–581.
156. Comparative study of haematological profile on *Gobius niger* in two different habitat sites: Faro Lake and Tyrrhenian Sea / F. Fazio, C. Faggio, S. Marafioti [et al.] // *Cahiers de Biologie Marine*. – 2012. – Vol. 53, iss. 2. – P. 213–219.
157. Coppo J.A. Physiological variation of enzymatic activities in blood of bullfrog, *Rana catesbeiana* (Shaw, 1802) / J.A. Coppo, N.B. Mussart, S.A. Fioranelli // *Revista Veterinaria*. – 2001-2002. – Vol. 12/13, num. 1 y 2. – P. 22–27.
158. Cytotoxicity of chromium ions may be connected with induction of oxidative stress / O.Yu. Vasylykiv, O.I. Kubrak, K.B. Storey [et al.] // *Chemosphere*. – 2010. – Vol. 80. – P. 1044–1049.
159. Dautremepuits C. Antioxidant response modulated by copper in healthy or parasitized carp (*Cyprinus carpio* L.) by *Ptychobothrium* sp. (Cestoda) / C. Dautremepuits, S. Betoulle, G. Vernet // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – General Subject*. – 2002. – Vol. 1573, iss. 1. – P. 4–8.
160. Davies K.J.A. Protein Damage and Degradation by Oxygen Radicals. I. General aspects / Kelvin J.A. Davies // *Journal of Biological Chemistry*. – 1987. – Vol. 262, iss. 20. – P. 9895–9901.
161. Davies K.J.A. Protein Damage and Degradation by Oxygen Radicals. III. Modification of secondary and tertiary structure / Kelvin J.A. Davies // *Journal of Biological Chemistry*. – 1987. – Vol. 262, iss. 20. – P. 9908–9913.
162. De Smet H. Stress responses and changes in protein metabolism in carp *Cyprinus carpio* during cadmium exposure / H. De Smet, R. Blust // *Ecotoxicology and Environmental Safety*. – 2001. – Vol. 48, iss. 3. – P. 255–262.
163. Detection of protein carbonyls in aging liver tissue: A fluorescence-based proteomic approach / R. Chaudhuria, E.M. de Waala, A. Pierceb [et al.] // *Mechanisms of Ageing and Development*. – 2006. – Vol. 127, iss. 11. – P. 849–861.

164. Early-age changes in oxidative stress in brown trout, *Salmo trutta* / C. Almroth, A. Johansson, L. Förlin [et al.] // Comparative Biochemistry & Physiology Pt. B. – 2010. – Vol. 155, iss. 4. – P. 442–448.
165. Effect of Arsenic and Chromium on the Serum Amino-Transferases Activity in Indian Major Carp, *Labeo rohita* / S.S. Vutukuru, N.A. Prabhath, M. Raghavender [et al.] // International Journal of Environmental Research & Public Health. – 2007. – Vol. 4, iss. 3. – P. 224–227.
166. Effect of dietary nonprotein energy levels on condition and oxidative status of Senegalese sole (*Solea senegalensis*) juveniles / R. Rueda-Jasso, L.E.C. Conceic, J. Dias [et al.] // Aquaculture. – 2004. – Vol. 231. – P. 417–433.
167. Effect of long term exposure of low level diesel oil on the antioxidant defense system of fish / J.F. Zang, H. Shen, T.L. Xu, [et al.] // Bulletin of Environmental Contamination & Toxicology. – 2003. – Vol. 71, iss. 2. – P. 234–239.
168. Effect of North Sea oil and alkalphenole on biomarker response in Juvenile Atlantic cod (*Gadus morhua*) / J. Sturve, L. Hassilberg, H. Falth [et al.] //Aquatic Toxicology. – 2006. – Vol. 78. – P. 73–58.
169. Effect of phenanthrene on hepatic enzymatic activities in tilapia *Oreochromis niloticus* / X. Winju, I. Yuangou, W. Qingyang [et al.] // Journal of Environmental Science. – 2009. – Vol. 21. – P. 854–857.
170. Effect of sex hormone on lipid peroxidation in liver / K. Huh, U.S. Shin, J.W. Choi [et al.] // Archives of Pharmacal Research. – 1994. – Vol. 17. – P. 109–114.
171. Effects of phospholipids in the diet on biochemical factors of sturgeon fish (*Huso-huso*) juveniles / M. Ebrahimnezhadarabi, C. R. Saad, S. A. Harmin //African Journal of Biotechnology. – 2011. – Vol. 10, no. 42. – P. 8511–8516.
172. Effects of progesterone and estradiol benzoate on glutathation depend antioxidant enzyme activities in the brain of female rats / S.B. Pajovic, M.B. Saicic, V.M. Petrovic [et al.] // General Physiology and Biophysics. – 1999. – Vol. 18, no. 1. – P. 35–44.
173. Effects of seasonal and latitudinal cold on oxidative stress parameters and activation of hypoxia inducible factor (HIF-1) in zoarcid fish / K. Heise, M. S Estevez., S.

- Puntarulo [et al.] // Journal of Comparative Physiology B. – 2007. - Vol. 177, iss. 7. – P. 765–777.
174. Effects on Mortality of Biochemical and Limnological Properties on Some Fish Species in Sultansuyu Dam Lake (Malatya), Turkey / Ş. Kandemir, İ. Örün, Z. Talas [et al.] // Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. – 2010. – Vol. 10. – P. 431–437.
 175. Emerging role of *Centella asiatica* in improving age-related neurological antioxidant status / M. Subathra, S. Shila, M.A. Devi [et al.] // Experimental Gerontology. – 2005. – Vol. 40. – P. 707–715.
 176. Fafioye O.O. Toxicity of *Parkia biglobosa* and *Raphia vinifera* extracts on *Clarias gariepinus* juveniles / O.O. Fafioye, A.A. Adebisi, S.O. Fagade // African Journal of Biotechnology. – 2004. – Vol. 3, iss. 11. – P. 627–630.
 177. Farombi E.O. Biomarkers of Oxidative Stress and Heavy Metal Levels as Indicators of Environmental Pollution in African Cat Fish (*Clarias gariepinus*) from Nigeria Ogun River / E.O. Farombi, O.A. Adelowo, Y.R. Ajimoko // International Journal of Environmental Research and Public Health. – 2007. – Vol. 4, iss. 2. – P. 158–165.
 178. Farombi E.O. Effect of Butachlor on Antioxidant Enzyme status and lipid peroxidation in fresh water African catfish, (*Clarias gariepinus*) / E.O. Farombi, Y. R. Ajimoko, O.A. Adelowo // International Journal of Environmental Research and Public Health. – 2008. – Vol. 5, iss. 5. – P. 423–427.
 179. Filho D.W. Antioxidant defenses in marine fish – I. Teleosts / D.W. Filho, C. Giulivi, A. Boveris // Comparative Biochemistry & Physiology Pt. C. – 1993. – Vol. 106, iss. 2. – P. 409–413.
 180. Filho D.W. Antioxidant defenses in marine fish – II. Elasmobranchs / D. W. Filho, A. Boveris // Comparative Biochemistry & Physiology Pt. C. – 1993. – Vol. 106, iss. 2. – P. 415–418.
 181. Filho D.W. Reactive oxygen species, antioxidants and fish mitochondria / D.W. Filho // Frontiers in Bioscience. – 2007. – Vol. 12. – P. 1229–1237.
 182. Finch C.E. Longevity, Senescence, and the Genome / C.E. Finch. – Chicago : University of Chicago Press, 1990. – 938 p.

183. First report about saxitoxins in freshwater fish *Hoplias malabaricus* through trophic exposure / A. de Silva, E.T. Oba, W.A. Ramsdorf [et al.] // *Toxicon*. – 2011. – Vol. 57, iss. 1. – P. 141–147.
184. Freshwater animal models of the toxicity of novel substances. Effect of the history of population / H. Falfushynska, L. Gnetysgyna, T. Shimkiv [et al.] // *Annales Universitatis Mariae Skłodowska, Lublin, Polonia*. – 2010. – Vol. 23. – P. 171–175.
185. Frick N.T. The Metabolic Organization of a Primitive Air-breathing Fish, the Florida Gar (*Lepisosteus platyrhincus*) / N.T. Frick, J.S. Bystriansky, J.S. Ballantyne // *Journal of Experimental Zoology Pt. A*. – 2007. - Vol. 307, iss. 1. – P. 7–17.
186. Fuel Oil Effects on Antioxidant Enzymes and Immunological Responses in the fish *Thalassophryne maculosa* (Pisces: Batrachoididae) / L. Marciano, O. Nusetti, E. Zapata-Vivenes // *Journal of Brazilian Society of Ecotoxicology*. – 2006. – Vol. 1., no. 1. – P. 31–35.
187. Gabriel U.U. Enzymes in selected tissues of catfish hybrid exposed to aqueous extracts from *Lepidagathis alopecuroides* leaves / U.U. Gabriel, F.G. Obomanu, O.D. Oveh // *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry*. – 2009. – Vol. 8, no. 9. – P. 856–864.
188. Gad N.S. Oxidative stress and antioxidant enzymes in *Oreochromis niloticus* as biomarkers of exposure to crude oil pollution / N.S. Gad // *International Journal of Environmental Science and Engineering*. – 2011. – Vol 1. – P. 49–58.
189. Galloway T. Biomarkers in environmental and human health risk assessment / T. Galloway // *Marine Pollution Bulletin*. – 2006. – Vol. 53. – P. 606–613.
190. Gender related differences in the oxidative stress response to PCB exposure in an endangered goodeid fish (*Girardinichthys viviparus*) / A. Vega-López, M. Galar-Martínez, F.A. Jiménez-Orozcob [et al.] // *Comparative Biochemistry & Physiology Pt. A*. – 2007. – Vol. 146, iss. 4. – P. 672–678.
191. Gender-specific ageing and non-Mendelian inheritance of oxidative damage in marine copepods / L. Rodríguez-Graña¹, D. Calliari, P. Tiselius [et al.] // *Marine Ecology Progress Series*. – 2010. – Vol. 401. – P. 1–13.

192. Gray S. Induction of tesis-ova in Japanese medaka (*Oryzias latipes*) exposed to p-nonyphenol / S. Gray, C.D. Metcalfe // Environmental Toxicology and Chemistry. – 1997. – Vol. 16, iss. 5. – P. 1082–1086.
193. Harishekar M. B. Effect of Lead, Alcohol and Vitamin E on Protein carbonyl content in rats / M. B. Harishekar, B. Kiran // J. of Appl. Pharmac. Sci. – 2011. – 01 (09). – P. 154–156.
194. Harms C. Plasma Biochemistry Reference Values of Wild Bonnethead Sharks, *Sphyrna tiburo* / C. Harms, T. Ross, A. Segars // Veterinary Clinical Pathology. – 2002. - Vol. 31, iss. 3. – P. 1–5.
195. Hlavová V. Enzyme activities in the blood plasma of grayling, *Thymallus thymallus* (Linn.), in the breeding season / V. Hlavová // Journal of Fish Biology. – 1989. – Vol. 34, iss. 5. – P. 779–789
196. In situ study on physiological and biochemical response of four fishes with different trophic levels to toxic cyanobacterial blooms in a large Chinese lake / Tong Qui, Ping Xie, Zhixin Ke [et al.] // Toxicon. – 2007. – Vol. 50, iss. 3. – P. 365–376.
197. Induction of hepatic enzymes and oxidative stress in Chinese rare minnow (*Gobiocypris rarus*) exposed to waterborne hexabromocyclododecane (HBCDD) / X. Zhang, F. Yang, X. Zhang [et al.] // Aquatic Toxicology. – 2008. – Vol. 86. – P. 4–11.
198. Influence of season and pollution on the antioxidant defenses of the cichlid fish acará (*Geophagus brasiliensis*) / D.W. Filho, M.A. Torres, T.B. Tribess [et al.] // Brazilian Journal of Medical and Biological Research. – 2001. – Vol. 34, no. 4. – P. 719–726.
199. Ivanina A.V. Oxidative stress and expression of chaperones in aging mollusks / A.V. Ivanina, I. M. Sokolova, A.A. Sukhotin // Comparative Biochemistry & Physiology Pt. B. – 2008. – Vol. 150, iss. 1. – P. 53–61.
200. Jee J.H. Biochemical changes of enzymatic defense system after phenanthrene exposure in liver in olive flounder, *Paralichthys olivaceus* / J.H. Jee, J.C. Kang // Physiological Research. – 2005. – Vol. 54, iss. 6. – P. 585–591.
201. Jena B.S. Age-related effect of aluminum on the catalase activities of the brains of two species of poikilothermic vertebrates / B.S. Jena, S.B. Nayak, B.K. Patnaik // Gerontology. – 2002. – Vol. 48, iss. 1. – P. 34–38.

202. Jen-Lee Y. Serum Metabolic Enzyme Activities and Hepatocyte Ultrastructure of Common Carp after Gallium Exposure / Y. Jen-Lee, C. Hon-Cheng // Zoological Studies. – 2003. – Vol. 42, iss. 3. – P. 455–461.
203. Kavaliers M. Bombesin alters behavioral thermoregulation in fish / M. Kavaliers, M.F. Hawkins // Life Sciences. – 1981. – Vol. 28, iss. 12. – P. 1361–1364.
204. Keramati V. Effect of Diazinon on catalase antioxidant enzyme activity in liver tissue of *Rutilus rutilus* / V. Keramati, S.H. Jamili, M. Ramin // Journal of Fisheries and Aquatic Science. – 2010. - Vol. 5, iss. 5. – P. 368–376.
205. Khansari N. Chronic inflammation and oxidative stress as a major cause of age-related diseases and cancer / N. Khansari, Y. Shakiba, M. Mahmoudi // Recent Patents on Inflammation & Allergy Drug Discovery. – 2009. – Vol. 3, iss. 1. – P. 73–80.
206. Kori-Siakpere O. Variations in alanine aminotransferase and aspartate aminotransferase activities in African catfish: *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822) at different sublethal concentrations of potassium permanganate / O. Kori-Siakpere, R.B. Ikomi, M.G. Ogbe // Scientific Research & Essays. – 2010. – Vol. 5, iss. 12. – P. 1501–1505.
207. Kurhalyuk N. Induction of oxidative stress and antioxidant defenses in the livers of sea trout, *Salmo trutta* L., with ulcerative dermal necrosis / N. Kurhalyuk, H. Tkachenko // Arches of Polish Fisheries. – 2009. – Vol. 19, iss. 4. – P. 229–240.
208. Larvicidal properties of *Lepidagathis alopecuroides* and *Azadirachta indica* on *Anopheles gambiae* and *Culex quinquefasciatus* / F.G. Obomanu, O.K. Ogbalu, U.U. Gabriel [et al.] // African Journal of Biotechnology. – 2006. – Vol. 5, iss. 9. – P. 761–765.
209. Li-Min Lun. Alanine aminotransferase in *Amphioxus*: presence, localization and Up-regulation after acute lippolysaccharide exposure / Li-Min Lun, Shi-Cui Zhang, Yu-Jun Liang // Journal of Biochemistry & Molecular Biology. – 2006. – Vol. 39, iss. 5. – P. 511–515.
210. Lushchak V.I. Effects of different environmental oxygen levels on free radical processes in fish / V.I. Lushchak, T.V. Bagnyukova // Comparative Biochemistry & Physiology Pt. B. - 2006. – Vol. 144, iss. 3. – P. 283–289.

211. Lushchak V.I. Temperature increase results in oxidative stress in goldfish tissues. 1. Indices of oxidative stress / V.I. Lushchak, T.V. Bagnyukova // Comparative Biochemistry & Physiology Pt. C. – 2006. – Vol. 143, iss. 1. – P. 30–35.
212. Lusková V. Annual cycles and normal values of hematological parameters in fishes / V. Lusková. - Praha, 1997. - 70 p. - (Acta Scientiarum Naturalium, Brno ; vol. 31).
213. Lusková V. Influence of spawning on enzyme activity in the blood plasma of fish / V. Lusková // Polish Archives of Hydrobiology. – 1997. – Vol. 44. – P. 57–66.
214. Luxford C. Radicals derived from histone hydroperoxides damage nucleobases in RNA and DNA / C. Luxford, R.T. Dean, M.S. Davies // Chemical Research in Toxicology. – 2000. – Vol. 13, no. 7. – P. 665–672.
215. Madgy A.S.E. Changes in total protein and transaminase activities of grass carp exposed to diquat / A.S.E. Madgy, W.A. Rogers // Journal of Aquatic Animal Health. – 1993. – Vol. 5, iss. 4. – P. 280–286.
216. Maikai V.A. Acute toxicity studies of aqueous stem bark extract of *Ximenia Americana* / V.A. Maikai, P.I. Kobo, A.O. Adaudi // African Journal of Biotechnology. – 2008. – Vol. 7, iss. 10. – P. 1600-1603.
217. Measurement and distribution of hepatic cysteinsulfanate aminotransferase activity in fish / T. Goto, H. Sugiyama, H. Funatsu [et al.] // Suisanzoshoku. – 2003. – Vol. 51, no. 3. – P. 361–362.
218. Measurements of biomarker levels in flounder (*Platichthys flesus*) and blue mussel (*Mutilus trossulus*) from the Gulf of Gdansk (southern Baltic) / J. Kopecka, K.K. Lenhtonen, J. Barsiene [et al.] // Marine Pollution Bulletin. – 2006. – Vol. 53. – P. 406–421.
219. Mejia S. R. Functional Role of Caspases in Huntington's disease / R. Sanchez Mejia, R. M. Friedlander // The Neuroscientist. – 2001. – Vol. 7. – P. 480–489.
220. Metal-catalyzed Oxidation of Proteins. Physiological consequences / E. R. Stadtman, C. N. Oliver // Journal of Biological Chemistry. – 1991. – Vol. 266, iss. 4 - P. 2005–2008.

221. Metwally M.A.A. Biochemical Changes Induced by Heavy Metal Pollution in Marine Fishes at Khomse Coast, Libya / M.A.A. Metwally, I.M. Fouad // Global Veterinaria. – 2008. – Vol. 2, no. 6. – P. 308–311.
222. Mitochondria from females exhibit higher antioxidant gene expression and lower oxidative damage than males / C. Borrás, J. Sastre, D. Garcia-Sala [et al.] // Free Radical Research. – 2003. – Vol. 34, no. 5. – P. 546–552.
223. Mukherjee S. Changes in the kidney peroxidase activity in fish exposed to some industrial pollutants / S. Mukherjee, S. Bhattacharya // Environmental Physiology & Biochemistry. – 1975. - Vol. 5, iss. 5. – P. 300–307.
224. Nassr-Allah H. Abdel-Hamied. Physiological and Histopathological Alterations Induced by Phenol exposure in *Oreochromis aureus* Juveniles / Nassr-Allah H. Abdel-Hamied // Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. – 2007. – Vol. 7. – P. 131–138.
225. Nayak S.B. Effects of age and manganese (II) chloride on peroxidase activity of brain and liver of the teleost, *Channa punctatus* / S.B. Nayak., B.S. Jena, B.K. Patnaik // Experimental Gerontology. – 1999. – Vol. 34, iss. 3. – P. 365–374.
226. Newman S.H. Hematological and Plasma Biochemical Reference Ranges of Alaskan Seabirds: Their Ecological Significance and Clinical Importance / S.H. Newman, J.F. Piatt, J. White // Colonial Waterbirds. – 1997. – Vol. 20, no. 3. – P. 492–504.
227. Nyström T. Aging in bacteria / T. Nyström // Current Opinion in Microbiology. – 2002. – Vol. 5, iss. 6. – P. 596–601.
228. Oluah N.S. Plasma aspartate aminotransferase activity in the Catfish *Clarias albopunctatus* exposed to sublethal zinc and mercury / N.S. Oluah // Bulletin of Environmental Contamination & Toxicology. – 1999. - Vol. 63, iss. 3. – P. 343–349.
229. Onusiriuka B. C. Acute toxicity of water extracts of Akee apple, *Blighia sapida* and sausage plant, *Kigelia africana* on African catfish, *Clarias gariepinus* (Teugels) / B. C. Onusiriuka, E.B.C. Ufodike // Journal of Aquatic Science. – 1994. - Vol. 9. – P. 35–41.
230. Otto D.M.E. Endogenous antioxidant systems of two teleost fish, the rainbow trout and the black bullhead, and the effect of age / D.M.E. Otto, T.W. Moon // Fish Physiology & Biochemistry. – 1996. – Vol. 15, iss. 4. – P. 349–358.

231. Oxidative damage in eelpout (*Zoarces viviparus*), measured as protein carbonyls and TBARS, as biomarkers / C. Almroth, J. Sturve, Å. Berglund [et al.] // Aquatic Toxicology. – 2005. – Vol. 73, iss. 2. – P. 171–180.
232. Oxidative stress biomarkers in *Cyprinus carpio* exposed to commercial herbicide bispyribac-sodium / C. Toni, C. C. de Menezes, V. L. Loro [et al.] // Journal of Applied Toxicology. – 2010. – Vol. 30, iss. 6. – P. 590–595.
233. Oxyradical production as a pollution mediated mechanism of toxicity in the common mussel *Mytilus edulis* and other mollusks / D.R. Livingston, P.G. Martinez, X. Michel // Functional Ecology. – 1990. – Vol. 4, no. 3. – P. 415–424.
234. Padmini E. Liver oxidative stress of the grey mullet *Mugil cephalus* presents seasonal variations in Ennore Estuary / E. Padmini, B. Vijaya Geetha, M. Usha Rani // Brazilian Journal of Medical & Biological Research. – 2008. – Vol. 41, no. 11. – P. 951–955.
235. Papadimitriu E. Glycogen, proteins and aminotransferase (GOT, GPT) changes in the frog *Rana ribibunda* exposed to high concentrations of copper / E. Papadimitriu, N.S. Loumbourdis // Bulletin of Environmental Contamination & Toxicology. – 2005. – Vol. 74, iss. 1. – P. 120–125.
236. Parveza S. Protein carbonyls: novel biomarkers of exposure to oxidative stress-inducing pesticides in freshwater fish *Channa punctata* (Bloch) / S. Parveza, S. Raisuddin // Environmental Toxicology & Pharmacology. – 2005. – Vol. 20, iss. 1. – P. 112–117.
237. Persin F. Serum biochemical profiles of captive and wild northern bluefin tuna (*Thunus thunus* L. 1758) in the Eastern Mediterranean / F. Persin, S. Konyalioglu // Aquaculture Research. – 2008. – Vol. 39. – P. 945–953.
238. Pesticide/Herbicide pollutants in the Kafue river and a preliminary investigation into their biological effect through catalase levels in fish / M. Syakalima, K. Choongo, R. Mwenechanya [et al.] // Japanese Journal of Veterinary Research. – 2006. – Vol. 54, no. 2-3. – P. 119–128.
239. Philipp E. Mitochondrial ageing of a polar and a temperate mud clam / E. Philipp, H.-O. Portner, D. Abele // Mechanisms Ageing & Development. – 2005. – Vol. 126, iss. 5. – P. 610–619.

240. Physiological aging in the Icelandic population of the ocean quahog *Arctica islandica* / J. Strahl, E. Philipp, T. Brey [et al.] // Aquatic Biology. – 2007. – Vol. 1. – P. 77–83.
241. Pollak M. Molecular mechanisms of oxidative stress in aging: free radicals, aging, antioxidants and disease / M. Pollak, C. Leeuwenburgh // Handbook of Oxidants and Antioxidants in Exercise. – Elsevier, 2000. – Pt. 10, ch. 30. – P. 881–923.
242. Protective effect of estrogens against oxidative damage to heart and skeletal muscle *in vivo* and *in vitro* / A.M. Persky, P.S. Green, L. Stubley [et al.] // Experimental Biology and Medicine. – 2000. – Vol. 223, iss. 1. – P. 59–66.
243. Protein measurement with the Folin phenol reagent / O.H. Lowry, N.J. Rosebrough, A.L. Farr [et al.] // Journal of Biological Chemistry. – 1951. – Vol. 193. – P. 265–275.
244. Radhakrishnan M. Effect of cadmium on catalase activity in four tissues of freshwater fish *Heteropneustes fossilis* (Bloch.) / M. Radhakrishnan // Internet Journal of Veterinary Medicine. – 2009. – Vol. 7, no. 1. – P. 1-4.
245. Radi A.A.R. Comparative studies of phospholipid fatty acids and the antioxidant enzyme activity in fish with different feeding habits / A.A.R. Radi, B. Matkovics, I. Csengeri // Comparative Biochemistry and Physiology Pt. B. – 1987. – Vol. 87. – P. 49–54.
246. Rajamanickam V. Effect of heavy metals induced toxicity on metabolic biomarkers in common carp (*Cyprinus Carpio* L.) / V. Rajamanickam, N. Muthuswamy // Maejo International Journal of Science & Technology. – 2008. – Vol. 2, no. 01. – P. 192–200.
247. Reduces enzymatic antioxidative defense in deep-sea fish / B.J. Janssens, J.J. Childress, F. Baguet [et al.] // Journal of Experimental Biology. – 2000. – Vol. 203, iss. 24. – P. 3717–3725.
248. Reproductive protein protects functionally sterile honey bee workers from oxidative stress / S.C. Seehuus, K. Norberg, U. Gimsa [et al.] // Proceedings of the National Academy of Sciences of USA. – 2006. – Vol. 103, no. 4. – P. 962–967.
249. Researches on the activity of oxidoreductase from tissue sampled in different stage of development at *Silurus glanis* / M.O. Arteni, Z. Olteanu, L. Oprică [et al.] // Lucrări Științifice. – 2011. – Vol. 54. – P. 228–232.

250. Response of catalase activity to Ag^+ , Cd^{2+} , Cr^{6+} , Cu^{2+} and Zn^{2+} in five tissues of freshwater fish *Oreochromis niloticus* / G. Atli, Ö. Alptekin, S. Tükel [et al.] // Comparative Biochemistry & Physiology Pt. C. – 2006. - Vol. 143, iss. 2. – P. 218–224.
251. Reynolds W.W. Behavioral thermoregulation and the "final preferendum" paradigm / W.W., Reynolds, M.E. Casterlin // American Zoologist. – 1979. – Vol. 19. – P. 211–224.
252. Role of Inflammation and Oxidative Stress Mediators in Gliomas / A. Conti, C. Guli, D. La Torre [et al.] // Cancers. – 2010. – Vol. 2, iss. 2. – P. 693–712.
253. Ronisz D. Seasonal variation in the activities of selected hepatic biotransformation and antioxidant enzymes in eelpout (*Zoarces viviparus*) / D. Ronisz, D.G.J. Larsson, L. Förlin // Comparative Biochemistry & Physiology Pt. C. – 1999. – Vol. 124, iss. 3. – P. 271–279.
254. Rudneva I.I. Blood Antioxidant System of Black Sea Elasmobranch and Teleosts / I.I. Rudneva // Comparative Biochemistry & Physiology Pt. C. – 1997. – Vol. 118, iss. 2. – P. 255–260.
255. Rudneva I.I. Effect of chronic pollution on hepatic antioxidant system of Black Sea fish species / I.I. Rudneva, N.S. Kuz'minova // International Journal of Science and Nature. – 2011. – Vol. 2, no. 2. – P. 279–286.
256. Seasonal and sex-linked variation in hepatic and extrahepatic biotransformation activities in striped mullet (*Mullus barbatus*) / A. Mathieu, P. Lemaire, S. Carriere [et al.] // Ecotoxicology and Environmental Safety. – 1991. – Vol. 22. – P. 45–57.
257. Seasonal changes in antioxidant defense system of liver and gills of *Salmo trutta caspius*, *Salmo trutta labrax* and *Salmo trutta macrostigma* / N.M. Aras, A. Bayir, A.N. Sirkeciogui [et al.] // Journal of Fish Biology. – 2009. – Vol. 74, iss. 4. – P. 842–856.
258. Seasonal variation of antioxidant and biotransformation enzymes in barnacle, *Balanus balanoides*, and their relation with polyaromatic hydrocarbons / S. Niyogia, S. Biswasa, S. Sarkerb // Marine Environmental Research. – 2001. – Vol. 52, iss. 1. – P. 13–26.

259. Seasonal variations of the activity of antioxidant defense enzymes in red mullet (*Mullus barbatus* L) from the Adriatic sea / S.Z. Pavlović, S.S. Borković Mitić, T.B. Radovanović [et al.] // *Marine Drugs*. – 2010. – Vol. 8. – P. 413–428.
260. Serum biochemical parameter of male and female rainbow trout cultured in Haraz River, Iran / M. Yuosefian, S. Amiri M., Hedayatifard [et al.] // *World Journal of Fish & Marine Sciences*. – 2010. – Vol. 2, no. 6. – P. 513–518.
261. Sex-related responses to oxidative stress in primary cultured hepatocytes of European flounder (*Platichthys flesus* L.) / K. Winzer, G.W. Winston, W. Becher [et al.] // *Aquatic Toxicology*. – 2001. – Vol. 52. – P. 143–155.
262. Shahsavani D. Determination of normal values of some blood serum enzymes in *Acipenser stellatus* Pallas / D. Shahsavani, M. Mohri // *Fish Physiology & Biochemistry*. – 2010. – Vol. 36, no1. – P. 39–43.
263. Shulman G.E. The Biochemical Ecology of Marine Fishes / G.E. Shulman, R.M. Love ; Eds.: A.S. Southward, P.A. Tyler, C.M. Young. – San Diego ; San Francisco ; New York : Acad. Press, 1999. – 351 p. - (Advances in Marine Biology ; vol. 36).
264. Simonata J. Biochemical, physiological and histological changes in neotropical fish *Prochilodus lineatus* exposure to diesel oil / J. Simonata, C. Guedes, C. Martinez // *Ecotoxicology and Environmental Safety*. – 2008. – Vol. 69. – P. 112–120.
265. Singh S. K. Toxicological and Biochemical Alterations of Cypermethrin (Synthetic Pyrethroids) Against Freshwater Teleost Fish *Colisa fasciatus* at Different Season / S. K. Singh, S. K. Singh, R. P. Yadav // *World Journal of Zoology*. – 2010. – Vol. 5, iss. 1. – P. 25–32.
266. Smith A.C. Catalase in fish red blood cells / A.C. Smith // *Comparative Biochemistry & Physiology Pt. B*. – 1976. – Vol. 54, iss. 3. – P. 331–332.
267. Sohal R.S. Role of oxidative stress and protein oxidation in the aging process / R.S. Sohal // *Free Radical Biology and Medicine*. – 2002. – Vol. 33, iss. 1. – P. 37–44.
268. Spry D.J. Metal bioavailability and toxicity to fish in low-alkalinity lakes: A critical review / D.J. Spry, J.G. Wiener // *Environmental Pollution*. – 1991. – Vol. 71. – P. 243–304.

269. State of Black Scorpionfish (*Scorpaena porcus* Linnaeus, 1758) Inhabited Coastal Area of Sevastopol Region (Black Sea) in 1998-2008 / N. Kuz'minova, I. Rudneva, L. Salekhova [et al.] // Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. – 2011. – Vol. 11. – P. 101–111.
270. Study of clinopathological and biochemical changes in some freshwater fishes infected with external parasites and subjected to heavy metals pollution in Egypt / M.A. El-Seify, M.S. Zaki, A.R.Y. Desouky [et al.] // Life Science Journal. – 2011. – Vol. 8, iss. 3. – P. 401–405.
271. Study of some biochemical parameters in the grass carp / E. Ciornea, G. Dumitru, D. Cojocaru [et al.] // Analele Științifice ale Universității “Alexandru Ioan Cuza”, Secțiunea Genetică și Biologie Moleculară. – 2009. – T. 10. – P. 27–30.
272. Sublethal Toxicity Effects of P-CNB on POD and CAT Activity in Liver of Brocarded Carp / Hongyan Shen, Jingliang Yang, Huicong Pang [et al.] // Bioinformatics & Biomedical Engineering. - 2009. – P. 1–4.
273. Sunny F. Sex steroids regulated intermediary metabolism in *Oreochromis mossambicus* / F. Sunny, A. Jacob, O. V. Oommen // Endocrine Research. – 2002. – Vol. 28, no. 3. – P. 175–188.
274. Superoxide Dismutase Undergoes Proteolysis and Fragmentation following Oxidative Modification and Inactivation / D. C. Salo, R. E. Pacifici, S. W. Lin [et al.] // Journal of Biological Chemistry. – 1990. – Vol. 265, iss. 20 – P. 11919– 11927.
275. Svoboda M. The effect of sex on selected blood plasma indices of adult common carp (*Cyprinus caprio* L.) during hormonally induced artificial reproduction / M. Svoboda, V. Lusková, J. Kouřil / Proc. 4th Czech Ichthyol. Conf., USB RIFCH Vodaňany, 2000. – P. 249–252.
276. The Consequences of Feminization in Breeding Groups of Wild Fish / C.A. Harris, P.B. Hamilton, T.J. Runnalls // Environmental Health Perspectives. – 2011. – Vol. 119, no. 3. – P. 306–311.
277. The effect of MS 222 an anesthetic on the peroxide metabolism enzymes in erythrocytes of freshwater and marine fish species / T. Gabrielak, G. Zalesna, H. Roshe,

- G. Peres // Comparative Biochemistry & Physiology Pt. C. – 1989. – Vol. 92, iss. 1. – P. 5–8.
278. The effect of potassium dichromate on free radical processes in goldfish: Possible protective role of glutathione / O.V. Lushchak, O.I. Kubrak, M.Z. Nykorak [et al.] // Aquatic Toxicology. – 2008. – Vol. 87. – P. 108–114.
279. The role of 5-HT in the impairment of thermoregulation observed in rats administered MDMA („ecstasy”) when housed at high ambient temperature / K.S. Saadat, E. O’Shea, M.I. Colado [et al.] // Psychopharmacology. – 2005. – Vol. 179. – P. 884–890.
280. The zebrafish as a vertebrate model of functional aging and very gradual senescence / S. Kishi, J. Uchiyama, A.M. Baughman [et al.] // Experimental Gerontology. – 2003. – Vol. 38, iss. 7. – P. 777–786.
281. Time course variations of antioxidant enzymes activities and histopathology of gilthead seabream gills exposed to malathion / M. Rosety, M. Rosty-Rodriguez, F.J. Ordonez [et al.] // Histology and Histopathology. – 2005. – Vol. 20, iss. 4. – P. 1017–1012.
282. Toxicity of leaf extracts of oleander, *Thevetia neriflora* on tilapia / S. Sambasivam, R. Chandran, G. Karpagam [et al.] // Journal of Environmental Biology. – 2003. – Vol. 24, iss. 2. – P. 201–204.
283. Toxicity of the Herbicide Atrazine: Effects on Lipid Peroxidation and Activities of Antioxidant Enzymes in the Freshwater Fish *Channa Punctatus* (Bloch) / C.D. Nwani, W.S. Lakra, N.S. Nagpure [et al.] // International Journal of Environmental Research and Public Health. – 2010. – Vol. 7, iss. 8. – P. 3298–3312.
284. Toxicological responses of *Cyprinus carpio* exposed to the herbicide penoxsulam in rice field conditions / R. Cattaneo, B. Clasen, V.L. Loro [et al.] // Journal of Applied Toxicology. – 2011. – Vol. 31, iss. 7. – P. 626–632.
285. Treberg J.R. Muscle Enzyme Activities in a Deep-Sea Squaloid Shark, *Centrosyllium fabricii*, Compared With Its Shallow-Living Relative, *Squalus acanthias* / J.R. Treberg, R.A. Martin, W.R. Driedzic // Journal of Experimental Zoology Pt. A. – 2003. – Vol. 300A, iss. 2. – P. 133–139.

286. Trenzado C.E. Divergence of endocrine and metabolic responses to stress in two rainbow trout lines selected for differing cortisol responsiveness to stress / C.E. Trenzado, T.R. Carrick, T.G. Pottinger // *General and Comparative Endocrinology*. – 2003. – Vol. 133, iss. 3. – P. 332–340.
287. Trivalent chromium induces oxidative stress in goldfish brain / O.V. Lushchak, O.I. Kubrak, I.M. Torous [et al.] // *Chemosphere*. – 2009. – Vol. 75, iss. 1. – P. 56–62.
288. Van der Oost, R. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review / R. van der Oost, J. Beyer, N.P.E. Vermeulen // *Environmental Toxicology and Pharmacology*. – 2003. – Vol.13. – P. 57–149.
289. Vasile G. A comparative study on the activity of alanin-aminotransferase in *Hypophthalmichthys molitrix* and *Aristichthys nobilis* / G. Vasile, E. Ciornea, D. Cojocaru // *Analele Științifice ale Universității “Alexandru Ioan Cuza”, Secțiunea Genetică și Biologie Moleculară*. - 2006. - T. 7. - P. 79–82.
290. Venkateswara Rao J. Biochemical alterations in euryhaline fish, *Oreochromis mossambicus* exposed to sub-lethal concentrations of an organophosphorus insecticide, monocrotophos / J. Venkateswara Rao // *Chemosphere*. – 2006. – Vol. 65, iss. 10. – P. 1814–1820.
291. Venkateswara Rao J. Sublethal effects of an organophosphorus insecticide (RPR-II) on biochemical parameters of tilapia, *Oreochromis mossambicus* / J. Venkateswara Rao // *Comparative Biochemistry & Physiology Pt. C*. – 2006. – Vol. 143, iss. 4. – P. 492–498.
292. Venkateswara Rao J. Toxic effects of novel organophosphorus insecticide (RPR-V) on certain biochemical parameters of euryhaline fish, *Oreochromis mossambicus* / J. Venkateswara Rao // *Pesticide Biochemistry and Physiology*. – 2006. – Vol. 86, iss. 2. – P. 78–84.
293. Visser Z. The use of biomarker responses to assess pesticide exposure in the Crocodile- and Olifants River systems: Dissertation Master of Science in aquatic health / Zola Visser. – University of Johannesburg, 2008. - 128 p.
294. Wegwu M.O. Evaluation of selected biochemical indices in *Clarias gariepinus* Exposed to Aqueous Extract of Nigerian Crude Oil (Bonny Light) / M.O. Wegwu, S.I.

- Omeodu // Journal of Applied Sciences and Environmental Management. – 2010. – Vol. 14, no. 1. – P. 77–81.
295. Winston G.W. Pro-oxidant and antioxidant mechanism in aquatic organisms / G.W. Winston, R.T. Di Giulio // Aquatic Toxicology. – 1991. – Vol. 19. – P. 137–161.
296. Xenobiotic metabolism markers in marine fish with different trophic strategies and their relationship to ecological variables / M. Sole, S. Rodriguez, V. Papiol [et al.] // Comparative Biochemistry & Physiology Pt. C. – 2009. – Vol. 149, iss. 1. – P. 83–89.
297. Yagi K. Inhibitory effect of female hormones on lipid peroxidation / K. Yagi, S. Komura // Biochemistry International. – 1986. - Vol. 13, no. 6. – P. 1051–1055.
298. Yildirim N.C. Evolution of environmental pollution at Munzur river of Tunceli applying oxidative stress biomarkers in *Capoeta trutta* (Heckel, 1843) / N.C. Yildirim, F. Benzer, D. Danabas // Journal of Animal & Plant Sciences. – 2011. – Vol. 21, no. 1. – P. 66–71.
299. Yin D. The essential mechanisms of aging: irreparable damage accumulation of biochemical side-reactions / D. Yin, K. Chen // Experimental Gerontology. – 2005. – Vol. 40, iss. 6. – P. 455–465.
300. Younis A.A.E. Effect of some ectoparasites on the blood and serum constituents of *Oreochromis niloticus* fish with referring to treatment / A.A.E. Younis // Beni-Suef Veterinary Medical Journal. – 1999. - Vol. 9, no. 3. – P. 341–351.
301. Yuosefism M. Serum Biochemical Parameter of Male, Immature and Female Persian Sturgeon (*Acipenser persicus*) / M. Yuosefism, S. Amiri, M. Kor Davood // Australian Journal of Basic and Applied Sciences. – 2011. – Vol. 5, iss. 5. – P. 476–481.
302. Zha J. Effects of pentachlorophenol on the reproduction of Japanese medaka (*Oryzias latipes*) / J. Zha; Z. Wang, D. Schlenk // Chemico-Biological Interactions. – 2006. – Vol. 161, iss. 1. – P. 26–36.