

Ключевые слова:
биохимический состав мышц и печени, карповые рыбы, липиды, ферменты аминотрансфераз, лещ

Keywords:
biochemical composition of muscles and liver, cyprinid fish, lipids, aminotransferase enzymes, bream

Биохимический состав печени и мышц карповых рыб

DOI

Р.А. Гулиев – директор по производству, Федеральная сеть клинико-диагностических лабораторий СИТИЛАБ; соискатель **И.А. Бурлаков** – советник министра, Министерство промышленности и природных ресурсов Астраханской области д-р биол. наук, доцент, профессор **И.В. Волкова** – кафедра Гидробиологии и общей экологии, Астраханский государственный технологический университет (ГБОУ ВО «АГТУ»); канд. биол. наук, доцент **Э.И. Мелякина** – кафедра Гидробиологии и общей экологии, Астраханский государственный технологический университет (ГБОУ ВО «АГТУ»); д-р биол. наук, доцент, профессор **В.Н. Крючков** – кафедра Гидробиологии и общей экологии, Астраханский государственный технологический университет (ГБОУ ВО «АГТУ»);
@ 30ruslan@gmail.com; bur-444@mail.ru; gridasova@mail.ru; melyakina_el@mail.ru; kvn394@rambler.ru

BIOCHEMICAL COMPOSITION OF THE LIVER AND MUSCLES OF CYPRINID FISH

R.A. Guliyev – Production Director, Federal Network of Clinical and Diagnostic Laboratories CITILAB;
 applicant I.A. Burlakov – adviser to the Minister, Ministry of industry and natural resources of the Astrakhan region
 Doctor of Biological Sciences, associate Professor I.V. Volkov – Department of Hydrobiology and General ecology, Astrakhan state technical University (GBOU VO AGTU);
 Cand. Biol. Sciences, associate Professor E.I. Melekhina – Department of Hydrobiology and General ecology, Astrakhan state technical University (GBOU VO "ASTU");
 Doctor of Biological Sciences, Associate Professor, Professor V.N. Kryuchkov – Department of Hydrobiology and General Ecology, Astrakhan State Technological University (SBEI VO "AGTU"), 30ruslan@gmail.com; bur-444@mail.ru; gridasova@mail.ru; melyakina_el@mail.ru; kvn394@rambler.ru

Disorders in the liver are often accompanied by changes in its lipid composition. And since the liver performs many functions in the body, indicators of liver metabolic processes can reflect the living conditions and General condition of the fish body. The article provides information about some biochemical parameters of the liver and muscles of bream caught in the waters of the Volga Delta in different years. It seems that the causes of changes in the accumulation of lipids in the liver and muscles may be different factors (fish species, season, physiological state). Ultimately, the lipid content is determined by a number of processes. The complex of physiological and biochemical parameters proposed by the authors can be used to assess the degree of environmental stress on cyprinid fish.

Адаптация видов к условиям существования предполагает единство организма и среды. Следствием влияния условий среды на живые организмы являются реакции органов и систем органов, отражением которых, в частности, служат биохимические показатели.

Липиды у рыб выполняют многие уникальные функции, которые зачастую не характерны для высших позвоночных, именно поэтому процессу липидного обмена рыб посвящено множество работ.

Интерес к липидам в тканях продиктован тем, что, как было

показано в ранее проведённых исследованиях [11] нарушения в печени зачастую сопровождаются изменениями в её липидном составе. Поскольку печень осуществляет в организме множество функций, показатели метаболических процессов печени могут отражать условия обитания и общее состояние организма рыб.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Объектом исследования послужили разновозрастные лещи (*Abramis brama orientalis*, *Abramis Cuvier*), отловленные в водоёмах дельты Волги в разные годы.

Морфобиологический анализ выполняли по методике И.Ф. Правдина [6].

Белок и гликоген определялся спектрофотометрически [5].

Общие липиды в тканях определялись по Цольнеру в модификации С.И. Седова [8].

Биохимический анализ крови осуществлялся с использованием биохимического автоматического анализатора BS-200, активность ферментов – по методу Райтмана-Френкеля [10].

Лизоцим в сыворотке крови определяли методом серийных разведений по литическому воздействию на тест-микроорганизмы *Micrococcus lysodeicticus* [1].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для того, чтобы нивелировать возможное влияние возрастных изменений биохимических показателей леща, при анализе использовались особи обоего пола в возрасте от 3 до 4+, длиной от 23,0 до 35,0 см.

Сведения о некоторых биохимических показателях печени леща представлены в таблице 1.

Упитанность является косвенным показателем накопления жиров в организме. Как видно из таблицы, от весны к осени происходит увеличение коэффициента упитанности как у самцов, так и у самок. Так, у самцов упитанность от весны к осени увеличилась с 1,12 до 2,11, у самок этот показатель составил соответственно 1,19 и 1,99 ($P<0,05$).

Наименьшее содержание белка в печени у самок леща было отмечено летом и составило $71,44 \pm 5,5$ мг/г. Это несколько меньше весеннего показателя, хотя разница между весенним и летним содержанием белка в печени недостоверна. У самцов наименьшее содержание белка в печени наблюдается летом. В дальнейшем и у самцов, и у самок наблюдается повышение концентрации белка в печени до величин $80,40 \pm 4,22$ и $64,40 \pm 3,32$ мг/кг, соответственно ($P<0,05$).

Что касается общих липидов, то наблюдается отчётливо выраженная тенденция повышения их содержания в печени с 13,2 мг/г до 17,42 мг/г у самок осенью, а у самцов с 10,54 до 15,22 мг/г.

Нарушения в печени зачастую сопровождаются изменениями в её липидном составе. А поскольку печень осуществляет в организме множество функций, показатели метаболических процессов печени могут отражать условия обитания и общее состояние организма рыб. В статье приводятся сведения о некоторых биохимических показателях печени и мышц леща, отловленных в водоёмах дельты Волги в разные годы. Представляется, что причинами изменений в накоплении липидов в печени и мышцах могут быть разные факторы (вид рыб, сезон, физиологическое состояние). В конечном итоге содержание липидов определяется целым рядом процессов. Предложенный авторами комплекс физиолого-биохимических показателей может быть использован для оценки степени стрессового воздействия окружающей среды на карповых рыб.

Как правило, термин «общие липиды» обозначает все жироподобные вещества, которые могут быть выделены из органа (ткани, организма) экстрагированием соответствующим растворителем. Состав общих липидов сложен, но в целом они состоят из липидов запасных (это в основном триацилглицерины) и липидов биологических мембран (фосфолипидов и холестерина) [9].

Таким образом, можно констатировать увеличение содержания в печени леща от весны к осени как водорастворимых белков, так и суммарных (общих липидов). Это увеличение, очевидно, связано с запасом веществ после нереста во время нагула, для подготовки к зиме и последующему созреванию половых продуктов. Различия в накоплении белка и липидов между самцами и самками можно объяснить различной интенсивностью протекания метаболизма, в связи с различной потребностью в запасаемых веществах: гонады самок значительно больше, чем у самцов, и требуют для своего созревания больше белков и липидов, а также и энергии.

Наибольшее содержание общих липидов в мышцах леща было отмечено осенью, у самок и самцов, соответственно – $72,55 \pm 3,85$ и $92,36 \pm 3,90$ мг/г. Разница в накоплении липидов у самок в мышцах весной и осенью была незначительной, в то же время у самцов с весны к осени наблюдалась устойчивая тенденция увеличения концентрации липидов с $65,10 \pm 2,32$ до $72,55 \pm 3,85$ мг/г у самок ($P<0,05$) и с $72,50 \pm 4,06$ до $92,36 \pm 3,90$ мг/г у самцов ($P<0,05$). Что касается белковой составляющей, то наблюдается обратная тенденция, и к осени содержание водорастворимых белков в мышцах леща снижается у представителей обоих полов.

Таблица 1. Биохимический состав печени леща в зависимости от сезона и пола /

Table 1. Biochemical composition of bream liver depending on season and sex

Месяц	Пол	Упитанность	Белок, мг/г	Липиды, мг/г	Гликоген, мг/г
апрель	♀♀	$1,19 \pm 0,02$	$73,20 \pm 4,30$	$13,20 \pm 1,11$	$26,14 \pm 0,98$
	♂♂	$1,12 \pm 0,02$	$66,47 \pm 3,40$	$10,54 \pm 1,24$	$27,16 \pm 0,95$
июль	♀♀	$1,65 \pm 0,03$	$71,44 \pm 5,50$	$16,25 \pm 1,70$	$29,44 \pm 1,26$
	♂♂	$1,61 \pm 0,07$	$53,15 \pm 3,85$	$11,48 \pm 1,08$	$19,66 \pm 1,42$
октябрь	♀♀	$1,99 \pm 0,04$	$80,40 \pm 4,22$	$17,42 \pm 1,55$	$45,45 \pm 1,64$
	♂♂	$2,11 \pm 0,05$	$64,40 \pm 3,32$	$15,22 \pm 1,90$	$37,6 \pm 1,83$



Рисунок 1. Предлагаемая схема проведения эколого-токсикологического мониторинга водных экосистем

Figure 1. Proposed scheme of ecological and toxicological monitoring of aquatic ecosystems

Исходя из полученных результатов, изменения содержания белков и липидов в печени и в мышцах в разные сезоны, в период от нереста до окончания летнего нагула, можно сделать вывод, что роль печени, как депо необходимых веществ, в большей степени выражена у самок. Самцы же имеют более высокую упитанность. Эти различия можно объяснить тем, что самцы аккумулируют резервные вещества преимущественно в мышцах. Что касается самок, то они, по всей видимости, в большей степени, чем самцы, используют резервные возможности печени.

Мембранные липиды, кроме того, что они являются основными компонентами биомембран (например, холестерин, фосфолипиды), тем не менее, могут накапливаться в клетках (цитоплазме) в том числе и в свободном состоянии. Такие формы накопления встречаются в виде метаболитов, в виде комплексов с белками (как запасные формы липидов) [9].

В настоящее время имеется большое количество литературных данных, которые показывают наличие у рыб сезонной вариабельности содержания общих липидов или их отдельных классов. Так, например, показано, что содержание липидов и, в частности, фосфолипидов и холестерина меняется при смене сезона на год, главным образом коррелируя с созреванием гонад. В мышцах изменения в содержании липидов у разных видов рыб происходит в разной степени [12].

Представляется, что причинами изменений в накоплении липидов в печени и мышцах могут быть разные факторы (вид рыб, сезон, физиологическое состояние). В конечном итоге содержание липидов определяется целым рядом процессов, в частности поступлением жиров с пищей или новообразованием биомембран, вызванным активацией той или иной физиологической функции. Кроме того, изменения в соотношении липидов происходят, например, при стрессе, в связи с биосинтезом кортикостероидов [3].

Таким образом, накопление липидов и, возможно, белков при нагуле карповых рыб (на примере леща) можно считать процессом, направленным на адаптацию метаболизма рыб при переходе от нереста к созреванию гонад.

Вместе с тем, следует отметить следующее. В целом для карповых рыб характерно относительно незначительное использование печени в качестве депо липидов, в отличие, например, от трескообразных (*Gadiformes*) и частично осетрообразных (*Acipenseriformes*), вместе с тем известно, что при некоторых патологических состояниях печени обнаруживается жировая дистрофия последней [4].

Аланинаминотрансфераза (АЛТ) и аспартатаминотрансфераза (АСТ) – это ферменты из подгруппы трансаминаз (аминотрансфераз), синтезируются внутриклеточно, участвуют в аминокислотном обмене. Поскольку указанные ферменты образуются и функционируют в клетках тканей органов, преимущественно в печени, то в кровь они поступают только при повреждении клеток. Следовательно, обнаружение ферментов аминотрансфераз АЛТ и АСТ в крови сверх обычного содержания может свидетельствовать о протекании патологических процессов.

Исследованные рыбы были поделены на две группы, в зависимости от содержания в крови аминотрансфераз (табл. 3).

К первой группе были отнесены рыбы, у которых активность АЛТ и АСТ в крови была соответственно $2,09 \pm 0,27$ и $2,27 \pm 0,11$ ммоль/л·ч. Для печени этих рыб было характерно максимальное содержание белка ($72,26 \pm 3,32$ мг/г) и наименьшее, среди всех исследованных лещей, содержание липидов.

У особей из другой группы было выявлено большее содержание в печени липидов ($20,43 \pm 2,45$ мг/г) ($P < 0,05$). По свидетельству А.В. Герман и В.И. Козлов-

Таблица 2. Биохимический состав мышц леща / **Table 2.** The biochemical composition of muscle of bream

Месяц	♀♀		♂♂	
	Общие липиды, мг/г	ВРБ, мг/г	Общие липиды, мг/г	ВРБ, мг/г
апрель	$65,10 \pm 2,32$	$52,4 \pm 4,55$	$72,50 \pm 4,06$	$50,26 \pm 3,64$
Июль	$60,60 \pm 2,24$	$56,2 \pm 2,49$	$70,50 \pm 3,25$	$48,38 \pm 1,92$
Октябрь	$72,55 \pm 3,85$	$42,94 \pm 1,09$	$92,36 \pm 3,90$	$44,42 \pm 2,12$

Таблица 3. Биохимический состав печени леща в зависимости от степени патологии органа /

Table 3. The biochemical composition of the bream liver, depending on the degree of pathology of the organ

АЛТ в крови, ммоль/л·ч	АСТ в крови, ммоль/л·ч	Коэф. Де Ритиса	Липиды, мг/г	Белок, мг/г	Гликоген, мг/г	Лизоцим в крови, усл. ед./мл
$2,09 \pm 0,27$	$2,27 \pm 0,11$	1,09	$11,30 \pm 1,35$	$72,26 \pm 3,32$	$20,25 \pm 1,06$	$3,52 \pm 0,30$
$4,78 \pm 0,31$	$3,52 \pm 0,28$	0,74	$20,43 \pm 2,45$	$55,15 \pm 4,82$	$9,23 \pm 2,16$	$5,25 \pm 0,40$

ской [2], в норме в печени карповых рыб липиды не накапливаются. Исходя из этого, можно сделать заключение, что повышение содержания общих липидов может быть связано с нарушениями в липидном обмене.

Кроме изменений в липидном обмене были выявлены изменения в содержании белка. Наибольшее содержание белка отмечено в печени рыб первой группы – $72,26 \pm 3,32$ мг/г. При увеличении активности трансамина, в крови прослеживается однозначная тенденция уменьшения содержания белка до $55,15 \pm 4,82$ мг/г.

Гликоген является основным запасаемым веществом в печени. Известно, что уровень гликогена может служить достоверным индикатором состояния стресса. Гликоген – легко мобилизуемое вещество, используемое организмом в качестве энергетического субстрата для обеспечения энергией физиологических процессов, лежащее в основе реакции на экстремальные или повреждавшие факторы внешней среды. Любое, чрезвычайное по силе, изменение факторов среды сопровождается мобилизацией резервов гликогена для возрастающих потребностей организма в глюкозе, что проявляется снижением его запасов.

Лизоцим – это один из факторов неспецифической защиты от патогенов. Нахождение лизоцима в различных органах и тканях во многом определяет их бактерицидную активность, обуславливая защиту организма от сапрофитных и патогенных микроорганизмов.

Роль того или иного вещества, в первую очередь, зависит от той физиологической роли, которую оно играет в организме рыб. И хотя каждый класс веществ выполняет в организме не одну, а несколько функций, чаще всего определяющее значение в конкретной экологической ситуации имеет какая-то одна или небольшое число этих функций [9].

На основании результатов, полученных при выполнении данной работы, можно заключить, что данный комплекс физиологико-биохимических показателей может быть использован для оценки степени стрессового воздействия окружающей среды на карповых рыб.

Как известно, одного только факта присутствия и обнаружения поллютанта в компонентах экосистем (абиотических или биотических) совершенно недостаточно для негативной интерпретации события. В связи с данным обстоятельством, И.И. Рудневой [7] был предложен комплексный экотоксикологический подход в мониторинговых исследованиях, с использованием «индикаторов реагирования» трёх уровней.

Индикаторы первого уровня («индикаторы присутствия»), должны свидетельствовать о самом факте нахождения поллютанта в окружающей среде. По индикаторам «прямых эффектов» судят о превышении пороговых значений содержания поллютантов в среде, когда действием ксенобиотиков были запущены определённые процессы реагирования в организме. Например, И.И. Руднева [7], к числу индикаторов «прямых эффектов» отнесла иммунный статус, показатели липидного обмена, дисфункции ферментов и другие. И, наконец, индикаторы третьего уровня характеризуют эффекты ксенобиотиков на различные морфофункциональные показатели рыб.

При всей ценности такого подхода он не учитывает, что реакции в организме рыб являются следствием

сочетаемого воздействия факторов среды и естественных физиологических процессов, связанных с наглухом, миграциями, генеративными циклами. В связи с этим, при проведении мониторинговых исследований, необходимо учитывать не только влияние загрязнителей.

Наше предложение по общей схеме подобного рода исследований представлено на рисунке 1.

ЛИТЕРАТУРА И ИСТОЧНИКИ

- Генералова Л.П. Методика определения лизоцима жидкостно-гелевым способом. / Л.П. Генералова, О.В. Ситнова – М.: ВНИИПРХ, 1994. – 3 с.
- Generalova L.P. Method of determining lysozyme by liquid-gel method. / L.P. Generalova, O.V. Sitnova – M.: VNIIIPRH, 1994 – P. 3.
- Герман А.В. Гепатосоматический индекс и биохимический состав печени леща *Abramis brama* Шекспинского пруда Рыбинского водохранилища при различных уровнях накопления органических токсикантов / А.В. Герман, В.И. Козловская // Вопросы ихтиологии, 2001, Т. 41, № 2. – С. 249-252.
- Herman A.V. Hepatosomatic index and biochemical composition of the liver of the bream *Abramis brama* of the Sheksninsky ples of the Rybinsk reservoir at different levels of accumulation of organic toxicants / A.V. Herman, V.I. Kozlovskaya // Questions of Ichthyology, 2001. – vol. 41. – no. 2. – P. 249-252.
- Залевская И.Н. Особенности обмена липидов рыб как биомаркеры загрязнения окружающей среды // Современные проблемы физиологии и биохимии водных организмов: Материалы Международной конференции. – Петрозаводск, 2004. – С. 48, 238.
- Zalevskaya I.N. Features of fish lipid metabolism as biomarkers of environmental pollution // Modern problems of physiology and biochemistry of aquatic organisms: Proceedings of the International Conference. – Petrozavodsk, 2004. – P. 48, 238.
- Крючков В.Н. Морфология органов и тканей водных животных / В.Н. Крючков, Г.М. Абдурахманов, Н.Н. Федорова – М.: Наука, 2004. – 144 с.
- Kryuchkov V.N. Morphology of organs and tissues of aquatic animals / V.N. Kryuchkov, G.M. Abdurakhmanov, N.N. Fedorova – M.: Nauka, 2004 – P. 144.
- Методы биохимических исследований / Ред. ред. проф. М.И. Прохорова. – Л.: Изд-во ЛГУ, 1982. – С. 234-241.
- Methods of biochemical research / Ed. prof. M.I. Prokhorov. – L.: LSU Publishing House, 1982. – P. 234-241.
- Правдин И.Ф. Руководство по изучению рыб. – М.: Пищевая промышленность, 1966. – С. 250-263.
- Pravdin I.F. Guide to the study of fish. – M.: Food industry, 1966. – P. 250-263.
- Руднева И.И. Сельскохозяйственные аспекты водной экотоксикологии (обзор литературы) Гигиена и санитария, 2007. – №2. – С. 24-28.
- Rudneva I.I. Agricultural aspects of aquatic ecotoxicology (literature review) Hygiene and sanitation, 2007. – No. 2. – P. 24-28.
- Седов С.И. Некоторые особенности жирового и белкового обмена у каспийского тюленя в естественных условиях и при экспериментальном голодании / С.И. Седов, В.Д. Румянцев, С.Б. Кривасова, М.К. Юсупов // Энергетические аспекты роста и обмена водных животных. – Киев: Наукова думка, 1972. – С. 198-200.
- Sedov, S.I. Some features of fat and protein metabolism in Caspian seals in natural conditions and in experimental starvation / S.I. Sedov, V.D. Rumyantsev, S.B. Krivcova, M.K. Yusupov // Energetic aspects of the growth and exchange of aquatic animals. – Kiev: Naukova dumka, 1972. – P. 198-200.
- Сидоров В.С. Экологическая биохимия рыб. Липиды. – Л.: Наука: Ленингр. отд-ние, 1983. – 240 с.
- Sidorov V.S. Ecological biochemistry of fish. Lipids – L: Nauka: Leningr. otd., 1983. – P. 240.
- Филимонов К.Р. Лабораторная и инструментальная диагностика заболеваний внутренних органов. – М.: Наука, 1995. – 342 с.
- Filimonov K. R. Laboratory and instrumental diagnostics of diseases of internal organs. – M.: Nauka, 1995. – P. 342
- Шайдуллина Ж. М. Сезонная и возрастная динамика морфофункциональных показателей леща реки Урал // Автореф. дисс... канд. биол. наук. – Астрахань, 2009. – 24 с.
- Shaidullina Zh. M. Seasonal and age dynamics of morphophysiological indicators of bream of the Ural River. diss ... cand. Biol. Sciences. – Astrakhan, 2009. – P. 24
- Щепкин В.Я. Сравнительная характеристика липидов печени и мышц ставриды и скорпены // Научные доклады высшей школы: Серия биологические науки, 1972, №2. – С. 36-39.
- Shchepkin V. Ya. Comparative characteristics of liver lipids and muscles of horse mackerel and scorpion // Scientific reports of the higher school: Series of biological sciences, 1972. – No. 2. – P. 36-39.