

## Реакция биохимических маркеров в печени леща *Abramis brama* L. на действие полихлорированных бифенилов, поступающих с кормом

А. А. МОРОЗОВ, В. В. ЮРЧЕНКО

Институт биологии внутренних вод им. И. Д. Папанина РАН  
152742, Ярославская обл., пос. Борок  
E-mail: aleksey.a.morozov@gmail.com

Статья поступила 05.04.2015

Принята к печати 24.06.2015

### АННОТАЦИЯ

Представлены результаты экспериментального исследования влияния на организм леща (*Abramis brama* L.) полихлорированных бифенилов (ПХБ), поступающих с кормом. Изучена реакция компонентов системы биотрансформации ксенобиотиков (активность этоксирезорифин-О-деэтилазы и глутатион-S-трансферазы), антиоксидантной системы (активность супероксиддисмутазы и каталазы) и системы перекисного окисления липидов (содержание диеновых конъюгатов и малонового диальдегида). Установлено, что доза ПХБ 2 мг/кг корма при времени экспозиции 14 сут не вызывает необратимых физиологических перестроек в организме леща. Вероятно, при данном режиме экспозиции защитные системы рыб способны ослаблять воздействие ксенобиотика на организм и сдерживать деструктивные процессы на стабильном невысоком уровне.

**Ключевые слова:** лещ, антиоксидантная система, перекисное окисление липидов, система биотрансформации ксенобиотиков, полихлорированные бифенилы, эксперимент.

Полихлорированные бифенилы (ПХБ) представляют собой класс карбоциклических галогенированных соединений и являются одними из самых распространенных антропогенных загрязнителей. Пик их производства приходился на 1970-е гг. ПХБ широко использовались в качестве теплоносителей в теплообменниках, диэлектриков в трансформаторах, конденсаторах, присадок в гидравлических жидкостях и пластификаторов в лаках, красках, маслах, строительных и отделочных материалах и т. д. ПХБ были включены в первоначальный список Стокгольмской

конвенции о стойких органических загрязнителях, запрещающей их производство и использование [Горбунова и др., 2011].

В настоящее время производство этих соединений прекращено, но из-за устойчивости в окружающей среде и способности к биоаккумуляции ПХБ до сих пор циркулируют в экосистемах в высоких концентрациях [Mamonov et al., 2000; Чуйко и др., 2010; Morozov et al., 2012; и др.]. Помимо утечек из старого оборудования, источниками поступления ПХБ в среду могут быть полигоны, содержащие загрязненные ими отходы [Harrad et al., 1994].

Опасность проникновения ПХБ в живую систему и пребывания в ней заключается в их способности инициировать токсический процесс. Известно, что из-за очень низкой растворимости в воде и высокой липофильности основной путь поступления ПХБ в организм – трофический [Borlakoglu, Naegele, 1991]. В большой степени воздействию ПХБ подвержены рыбы-бентофаги, которые, обитая в загрязненных районах, получают эти соединения в процессе питания как с кормовыми объектами, так и с частицами донных отложений. Кроме того, ПХБ, как и другие липофильные соединения, аккумулируются в гонадах рыб, оказывая негативное влияние на организм потомства с начальных стадий онтогенеза [Matta et al., 2001].

В условиях воздействия на организм ксенобиотиков основу биохимических механизмов адаптации составляет процесс их детоксикации. Этот процесс обеспечивается взаимосвязанными действиями компонентов систем биотрансформации ксенобиотиков и антиоксидантной защиты [Структурные основы..., 1987; Fundamentals..., 1995].

В соответствии с типами ферментативных реакций выделяют две фазы биотрансформации [Fundamentals..., 1995; Kadlubar S., Kadlubar F. F., 2010; Katagi, 2010]. В первой в результате окисления, восстановления или гидролиза в молекулу исходного соединения вводятся полярные группы ( $-OH$ ,  $-COOH$ ,  $-NH_2$ ,  $-SH$ ), повышающие его гидрофильность. Основная роль на этом этапе принадлежит изоферментам цитохрома P450 (P450-зависимые монооксигеназы), осуществляющим реакции гидроксилирования ксенобиотиков. Во второй фазе метаболиты ксенобиотиков посредством трансфераз соединяются ковалентными связями с эндогенными гидрофильными соединениями (производными сахаров, аминокислотами, пептидами, сульфатами и др.) и удаляются с желчью, мочой и через жабры.

По мере нарастания концентрации или продолжительности воздействия ксенобиотиков усиливается генерация активных кислородных метаболитов. В результате развивается состояние окислительного стресса, приводящее к нарушению проницаемости мембран и гибели клеток. Поддержание концент-

рации активных кислородных метаболитов на стационарном уровне осуществляет антиоксидантная система (АОС) [Зенков и др., 2001; Regoli, 2012]. Устойчивость организма к внешним воздействиям, а также способность адаптироваться к ним в значительной мере определяются этой системой и, в первую очередь, активностью антиоксидантных ферментов [Илюха, 2001].

Экспериментальный подход обладает неоспоримой ценностью с точки зрения установления механистических связей между известным действующим веществом и ответной реакцией организма [Adams et al., 1992].

Цель настоящей работы – изучение реакции системы детоксикации ксенобиотиков в печени леща на действие ПХБ, поступающих в организм рыб с пищей в количестве, соответствующем таковому в их кормовых объектах в природной среде.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В качестве объекта исследования выбран лещ *Abramis brama* L., типичный бентофаг. Для проведения эксперимента ювенильных особей возрастом 2–3 года отлавливали неводом в сентябре 2010 г. в устьевой зоне р. Сутки ( $58^{\circ}1,18'$  с. ш.,  $38^{\circ}15,976'$  в. д.), впадающей в Волжский плес Рыбинского водохранилища. По содержанию стойких органических загрязнителей Волжский плес водохранилища можно считать фоновым районом для бассейна Верхней и Средней Волги [Герман и др., 2010].

После отлова рыб содержали в рыбодном бассейне объемом  $2 \text{ м}^3$  с аэрируемой проточной водой и акклимировали в течение трех недель к экспериментальным условиям. Во время акклимации и проведения эксперимента температура воды колебалась в пределах  $9,4\text{--}9,7^{\circ}\text{C}$ . Рыб кормили один раз в день. Навеска корма составляла  $1,25\%$  от общей массы особей в бассейне.

Перед началом эксперимента рыб рассаживали в два бассейна: контрольный и опытный. Кормление осуществляли аналогичным образом. Пища для опытной группы рыб содержала растворенную навеску коммерческой смеси ПХБ – препарата Aroclor 1254 – в номинальной концентрации  $2 \text{ мг/кг}$  массы

корма. Для этого навеску Aroclor 1254 растворяли в 96%-ном этиловом спирте [Quabius et al., 2002]. В вытяжном шкафу корм выкладывали тонким слоем и равномерно распыляли на него полученный спиртовой раствор Aroclor 1254, спустя 30 мин перемешивали, герметично упаковывали и хранили при  $-4^{\circ}\text{C}$ . Такое количество ксенобиотика выбрано на основании имеющихся литературных данных: близкие концентрации ПХБ обнаружены в кормовых объектах лебедя в Шекснинском плесе Рыбинского водохранилища на небольшом удалении от промышленной зоны г. Череповца [Козловская, Герман, 1997]. Корм для контрольной группы рыб обрабатывали только веществом-переносчиком (этанолом).

Перед первым кормлением рыб пищей, содержащей Aroclor 1254 (0-е сутки), проведен контрольный отбор проб печени от 10 особей – по 5 из каждого бассейна. После отлова рыб умерщвляли путем спинальной трансекции, измеряли длину тела до конца чешуйного покрова. Вскрывали брюшную полость, иссекали печень. Пробы органов замораживали в жидком азоте. Затем измеряли массу рыбы без органов брюшной полости (массу порки). Все операции по отбору проб печени проводили максимально быстро и на холоде. Аналогичным образом получали материал от подопытных рыб в конце 1, 3, 7 и 14-х суток после первого получения ими корма, содержащего Aroclor 1254, и от контрольных – по истечении 7 и 14 суток.

Для определения активности этоксирезорифин-О-деэтилазы (К.Ф. 1.14.14.1, ЭРОД) навеску печени гомогенизировали в холодном ( $4^{\circ}\text{C}$ ) фосфатном буфере (рН 7,4) в соотношении 1 : 3 (масса/объем). Гомогенат центрифугировали с ускорением 10000 g при  $4^{\circ}\text{C}$  в течение 30 мин. Затем надосадочную жидкость (без жировой фракции) – постмитохондриальный супернатант – отбирали и замораживали в жидком азоте и хранили до проведения аналитической процедуры (не более двух недель). ЭРОД-активность определяли методом флуоресцентной спектрометрии [Whyte et al., 2000]. Измерения проводили на спектрометре LS55 (PerkinElmer) в 96-луночных планшетах. В реакционную смесь, состоящую из фосфатного буфера (рН 7,4), 10 мкМ этоксирезорифина, 4,3 мМ никотинамидадениндинуклеотидфосфата (тетранатриевая

соль), вносили аликвоту супернатанта. Реакционную смесь инкубировали в планшетах 10 мин при  $27^{\circ}\text{C}$ . Интенсивность флуоресценции резорифина, образовавшегося в результате реакции, измеряли при длинах волн возбуждения и испускания 555 и 585 нм соответственно. Количество резорифина вычисляли с помощью калибровочной кривой, построенной с использованием коммерческого аналога резорифина (в концентрациях 0–4 пМ/мкл). Далее в планшетах с имеющейся реакционной смесью измеряли содержание белка [Lorenzen, Kennedy, 1993]. Для этого в каждую лунку дополнительно вносили фосфатный буфер (рН 8,0) и 1,08 мкМ раствор флуорескамина. Реакционную смесь инкубировали 15 мин при  $27^{\circ}\text{C}$ . Интенсивность флуоресценции образовавшихся комплексов флуорескамина с первичными аминами измеряли при длинах волн возбуждения и испускания 400 и 460 нм соответственно. Количество белка вычисляли на основании калибровочного графика, построенного с использованием растворов бычьего сывороточного альбумина (в концентрациях 0–24 мкг/мкл). Каждую пробу анализировали в трех повторностях. Активность фермента выражали в количестве резорифина, образовавшегося за одну минуту и приходящегося на один мкг белка (пмоль/мг/мин).

Измерения всех ниже следующих параметров проводили на спектрофотометре Lambda 25 (PerkinElmer) в односантиметровых кюветах в двух повторностях. Активность ферментов и содержание продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) выражали в пересчете на белок, количество которого определяли методом М. М. Брэдфорд [Bradford, 1976] с использованием бычьего сывороточного альбумина в качестве стандарта.

Активность глутатион-S-трансферазы (GST), супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы и содержание малонового диальдегида (МДА) определяли в постмитохондриальных супернатантах. Для этого навеску органа гомогенизировали в холодном фосфатном буфере (рН 7,5) в соотношении 1 : 5 (масса/объем). Гомогенат центрифугировали с ускорением 12 000 g при  $4^{\circ}\text{C}$  в течение 15 мин.

Определение активности GST (К.Ф. 2.5.1.18) проводили по методу, основанному на измерении количества продукта конъюгации вос-

становленного глутатиона (GSH) с 1-хлор-2,4-динитробензолом (ХДНБ), используемого в качестве субстрата [Habig et al., 1974]. Реакционную смесь получали путем смешивания 100 мМ К-фосфатного буфера, рН 6,5, 100 мМ GSH, 50 мМ ХДНБ и 0,1 мл аликвоты супернатанта. Измеряли оптическую плотность при длине волны 340 нм. Увеличение экстинкции регистрировали в течение 3 мин. Активность фермента рассчитывали, используя коэффициент молярной экстинкции 9,6 л/моль/см, и выражали как количество 1-GS-2,4-динитробензола, образовавшегося за единицу времени и приходящегося на 1 мг белка (мкмоль/мг/мин).

Активность СОД (К.Ф. 1.15.1.1) определяли методом, принцип которого основан на восстановлении нитросинего тетразолия (НСТ) супероксидными радикалами, которые образуются при реакции между феназинметасульфатом (ФМС) и восстановленной формой никотинамидадениндинуклеотида (НАДН) [Spitz, Oberley, 1989]. В присутствии СОД восстановление НСТ уменьшается. Определение проводили с использованием 100 мМ К-фосфатного буфера (рН 7,8). К реакционной смеси, содержащей 0,33 мМ этилендиаминтетрауксусной кислоты, 0,6 мМ ФМС, 1,35 мМ НСТ, 78 мМ НАДН, добавляли 0,3 мл супернатанта. Через 10 мин регистрировали нарастание оптической плотности при 540 нм. Активность фермента выражали в мкмоль/мг/мин.

Метод определения активности каталазы (К.Ф. 1.11.1.6) основан на способности фермента разлагать перекись водорода с образованием воды и кислорода [Aebi, 1984]. В кварцевую кювету к супернатанту добавляли реакционную смесь, содержащую 100 мМ К-фосфатный буфер (рН 7,0) и 1,2 мМ  $H_2O_2$ . Уменьшение оптической плотности регистрировали через одну минуту при 240 нм. Активность каталазы рассчитывали, исходя из коэффициента молярной экстинкции  $H_2O_2$ , равного 22,2 л/моль/см, и выражали в мкмоль/мг/мин.

Содержание МДА определяли по цветной реакции с 2-тиобарбитуровой кислотой (ТБК) [Buege, Aust, 1978]. К суспензии гомогената ткани прибавляли последовательно 30%-ную трихлоруксусную кислоту, 0,5 М соляную кислоту и 1,5 мл 0,75%-ного раствора ТБК.

Смесь тщательно перемешивали и прогревали в течение 15 мин в кипящей водяной бане. После охлаждения в пробах отделяли осадки центрифугированием и экстинкцию измеряли при 532 нм. Для расчетов содержания МДА использовали коэффициент молярной экстинкции  $1,56 \times 10^5$  л/моль/см и выражали в нмоль/мг белка.

Содержание диеновых конъюгатов (ДК) измеряли в гомогенате по методу И. Д. Стальной [1977]. Образец ткани гомогенизировали в экстрагирующей смеси изопропанол-гептан (1 : 1). Полученную суспензию центрифугировали в плотно закрытых пробирках 10 мин с ускорением 4000 g при комнатной температуре. К полученному объему супернатанта добавляли 1/10 дистиллированной воды для лучшего расслоения фаз. После перемешивания и расслаивания фаз отбирали гептановую фазу и добавляли этанол в соотношении 1 : 5. Измерения проводили при 233 нм в кварцевых кюветах. Содержание ДК вычисляли, исходя из коэффициента молярной экстинкции, равного  $2,2 \times 10^{-5}$  л/моль/см и выражали в мкмоль/г ткани.

Вычисление гепатосоматического индекса (ГСИ) проводили по формуле  $ГСИ = M_{печень} \times 100 / M_{порка}$ , где  $M_{печень}$  – масса печени (г),  $M_{порка}$  – масса рыбы без органов брюшной полости.

Морфометрические показатели представлены в работе в виде средних арифметических и стандартных отклонений. Различия между выборками оценивались с применением одностороннего дисперсионного анализа и критерия наименьшей значимой разности. В случае биохимических характеристик большое рассеяние – вариант при небольших объемах выборок (см. таблицу) – обусловило использование непараметрических методов анализа. Значения представлены в виде медианы с медианным стандартным отклонением [Коросов, 2007], расчет проводили в программе Microsoft Excel. Различия контрольных и опытных выборок оценивали с помощью критерия Уилкоксона – Манна – Уитни с уровнем доверительной вероятности 95 %. Корреляционную связь биохимических параметров оценивали с помощью коэффициента Спирмена ( $r$ ). Вычисления производили в программе Statistica.

**Морфометрические показатели леща**

| Сутки | Группа   | N    | Длина тела, мм | Масса тела, г |         | ГСИ            |
|-------|----------|------|----------------|---------------|---------|----------------|
|       |          |      |                | общая         | порки   |                |
| 0     | Контроль | 10   | 154 ± 26       | 69 ± 27       | 60 ± 24 | 1,95 ± 0,39 a  |
| 1     | Опыт     | 10   | 173 ± 17       | 91 ± 26       | 78 ± 23 | 2,17 ± 0,33 a  |
| 3     | Опыт     | 9    | 157 ± 21       | 72 ± 27       | 61 ± 23 | 2,48 ± 0,34 b  |
| 7     | Контроль | 9    | 166 ± 20       | 87 ± 30       | 74 ± 26 | 2,88 ± 0,2 c   |
|       | Опыт     | 9    | 172 ± 20       | 93 ± 30       | 81 ± 27 | 2,53 ± 0,42 b  |
| 14    | Контроль | 10   | 172 ± 19       | 91 ± 28       | 79 ± 25 | 2,76 ± 0,33 bc |
|       | Опыт     | 9    | 165 ± 24       | 82 ± 38       | 72 ± 34 | 2,69 ± 0,24 bc |
|       | p*       | 0,32 | 0,45           | 0,45          | <0,001  |                |

Примечание. Данные представлены в виде среднего арифметического ± стандартное отклонение; N – количество особей в выборке; ГСИ – гепатосоматический индекс; \* – уровень значимости для одностороннего дисперсионного анализа; буквенные индексы обозначают различия выборок (критерий наименьшей значимой разности).

На оси X графиков обозначено количество целых суток, прошедших от начала кормления рыб пищей, содержащей Aroclor 1254. Значения изучаемых показателей, наблюдавшиеся по истечении трех суток, сравнивали с контрольными значениями, полученными в 0-е сутки.

**РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ**

В течение эксперимента смертность рыб не зафиксирована. Длина и масса особей не имели статистически значимых различий между выборками (см. таблицу). Относительный размер печени, выраженный через ГСИ, достоверно различался между особями из разных групп (см. таблицу). Однако эти расхождения признака, вероятнее всего, отражают случайные особенности выборок, нежели реакцию рыб на воздействие.

Каталитическая активность ЭРОД служит показателем индукции цитохрома P450 (CYP1A1-гемопротейна), происходящей в результате поступления в организм полигалогенированных и полициклических ароматических углеводородов [Whyte et al., 2000]. Реакцию ЭРОД в печени леща на действие ПХБ отражает рис. 1. Спустя сутки с момента первого кормления рыб пищей, содержащей Aroclor 1254, активность фермента в 2 раза превышала контрольное значение (0,37 ± 0,19 против 0,15 ± 0,05 пмоль/мг/мин). Максимальная величина показателя наблюдалась по истечении трех суток. Заметное

снижение уровня ЭРОД-активности (на 53 %) отмечалось спустя 7 сут экспозиции, но к концу эксперимента снова существовало двукратное превышение контрольного значения.

Первая фаза биотрансформации заканчивается образованием из липофильных ксенобиотиков реакционно-способных продуктов, которые могут быть как менее, так и более токсичными по сравнению с исходными соединениями. Поэтому в процессах детоксикации чужеродных веществ велика роль второй фазы биотрансформации, обеспечивающей выведение метаболитов из организма. Множество реакций проходит по пути глутатионовой конъюгации, катализируемой GST [Di Giulio, Hinton, 2008]. Результаты анализа активности GST представлены на рис. 2. Наибольшая активность фермента наблюдалась по истечении одних суток (4,58 ± 1,22

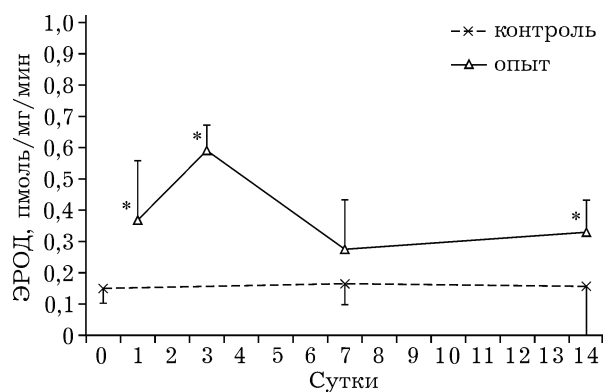


Рис. 1. Активность этоксирезорурфин-О-деэтилазы в печени леща

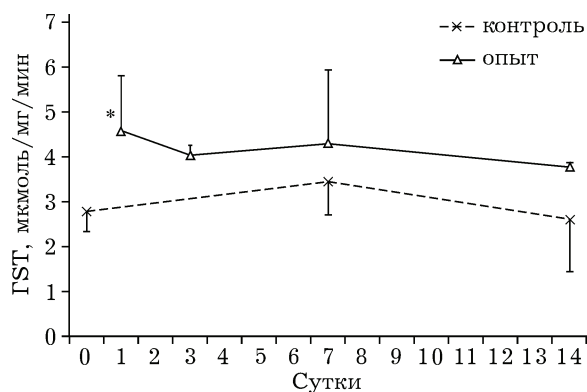


Рис. 2. Активность глутатион-S-трансферазы в печени леща

мкмоль/мг/мин). Затем происходило некоторое снижение уровня активности, однако расхождение опытных и контрольных показаний сохранялось.

Изменения уровней ЭРОД и GST в ходе эксперимента нельзя назвать синхронными, колебания одного показателя находятся в нестрогом соответствии с колебаниями другого ( $r = 0,4$ ;  $p < 0,01$ ). Однако в реакции ЭРОД и GST наблюдалось принципиальное сходство – за ростом активности в начале эксперимента следовал выход показателей на стабильный уровень, превышающий контрольные значения.

Силу ответной реакции можно выразить через коэффициент индукции, т. е. частное от деления величины ферментативной активности в опыте на значение в контроле. В первой опытной точке коэффициенты индукции ЭРОД и GST равнялись 2,46 и 1,65 соответственно. Затем коэффициент индукции ЭРОД возрос до 3,94, а коэффициент GST снизился до 1,45. В разных по дизайну экспериментальных работах, направленных на изучение влияния ПХБ на активность ЭРОД и GST в печени рыб, также отмечена более выраженная индукция ЭРОД [Ankley et al., 1986; Van Schanke et al., 2000]. Как любая приспособительная реакция, ответ системы биотрансформации ксенобиотиков развивается по принципу эффективности, т. е. степень индукции определяется необходимостью синтеза такого количества ферментов, которое позволяет сдерживать развитие токсического процесса. Наблюдаемая реакция со стороны системы биотрансформации свидетельствует об отсутствии кумулятивного эффек-

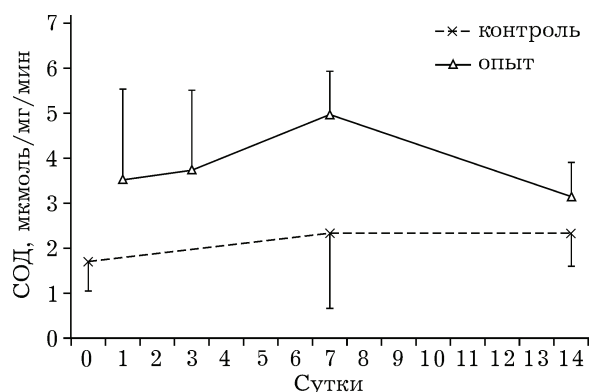


Рис. 3. Активность супероксиддисмутазы в печени леща

та использованной дозы ПХБ. Вероятно, в первые дни воздействия в организме рыб создавался резерв ферментов 1 и 2 фаз биотрансформации, необходимый для вовлечения в метаболизм вновь поступающих ПХБ.

В первой фазе биотрансформации за счет декомпозиции оксигенированного феррокомплекса цитохрома P450 происходит образование супероксидных анион-радикалов. Токсичность супероксид-анионов невысока, однако, как и другие активные формы кислорода, они способны разрушать клеточные структуры и функциональные молекулы, что приводит к нарушению метаболизма и физиологических функций организма [Меньщикова и др., 2006]. Защиту клетки от повреждающего действия активных кислородных метаболитов осуществляет АОС. Так, СОД катализирует реакцию дисмутации супероксид-анионов [Fridovich, 1989]. На рис. 3 представлено изменение активности СОД в ходе эксперимента. Активность увеличивалась в первые сутки и продолжала расти, достигнув максимума к середине эксперимента ( $4,98 \pm 0,96$  мкмоль/мг/мин). Спустя 14 сут уровень ферментативной активности снизился, оставаясь при этом выше контрольного. Наибольший коэффициент индукции равнялся 2,19, а наименьший – 1,35.

Образующаяся в результате действия СОД перекись водорода является более сильным окислителем, чем супероксид-анион, и может давать начало чрезвычайно активному ОН-радикалу [Меньщикова и др., 2006]. Каталаза предупреждает токсические эффекты перекиси водорода, разлагая ее с образованием воды и кислорода. Динамика активности каталазы в ходе эксперимента отли-

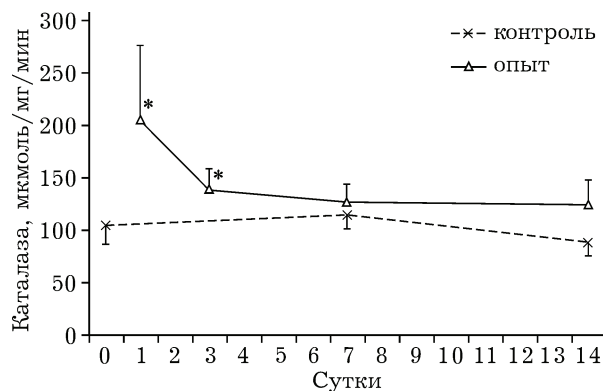


Рис. 4. Активность каталазы в печени леща

чалась от реакции СОД (рис. 4). Наибольшее значение активности каталазы отмечалось в начале эксперимента ( $205,31 \pm 71,56$  мкмоль/мг/мин). Далее в опыте наблюдалось снижение среднего уровня активности фермента, при этом статистически значимое расхождение опытной и контрольной выборок сохранялось. Через 7 сут экспозиции активность каталазы сохранялась на постоянном уровне. В течение эксперимента коэффициент индукции изменялся от 1,95 до 1,4.

В условиях дефицита каталазы, высокая ферментативная активность СОД может приводить к развитию окислительного стресса, что выражается в накоплении продуктов ПОЛ [Меньщикова и др., 2006]. В данном эксперименте измерялось содержание первичных (ДК) и вторичных (МДА) продуктов ПОЛ. Наибольшее содержание ДК (рис. 5) отмечалось по истечении суток ( $1,26 \pm 0,5$  нмоль/мг), спустя трое суток их величина снизилась на

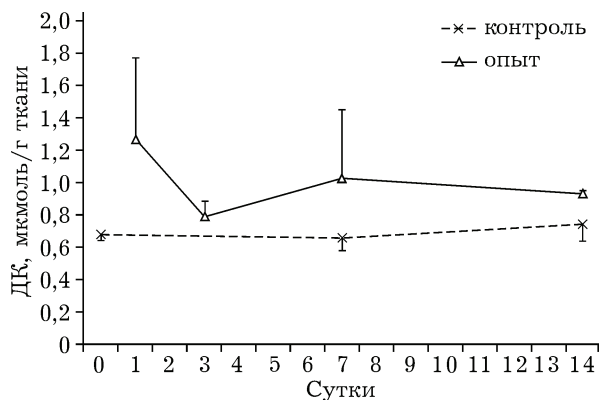


Рис. 5. Содержание диеновых конъюгатов в печени леща

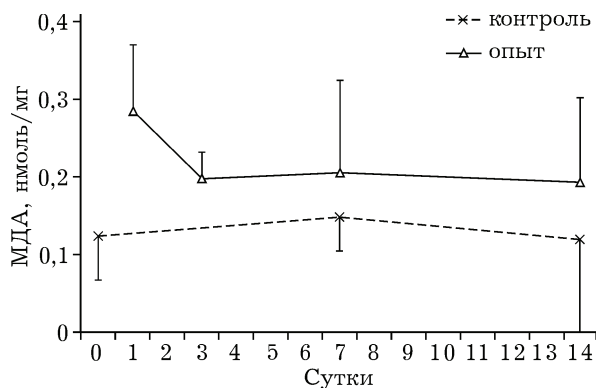


Рис. 6. Содержание малонового диальдегида в печени леща

38 %. К середине эксперимента содержание ДК вновь возросло и составило  $1,02 \pm 0,42$  нмоль/мг. Увеличение концентрации ДК, вероятно, связано с повышением активности СОД при относительно низкой активности каталазы, вызвавшим избыточное образование перекиси водорода. В первые сутки эксперимента содержание МДА (рис. 6) оказалось максимальным ( $0,28 \pm 0,08$  нМ/мг). По прошествии трех суток значение показателя снизилось в 1,5 раза и далее оставалось на этом уровне, выше контрольных значений. К концу эксперимента содержание МДА, как и ДК, не возрастало. Отсутствие накопления продуктов ПОЛ указывает на то, что работа АОС сдерживает развитие окислительного стресса.

Тесная корреляционная связь ( $r = 0,83$ ) при высоком уровне значимости ( $p < 0,01$ ) отмечалась между каталазой и GST. Наблюдаемое соответствие изменения изучаемых показателей свидетельствует о единой направленности защитных механизмов в сторону ослабления повреждающего действия ксенобиотика.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Поступление Aroclor 1254 в организм рыб вызвало усиление соответствующих приспособительных реакций: индукцию ферментов биотрансформации ксенобиотиков и антиоксидантных ферментов. Однако использованная концентрация ПХБ в корме и выбранная длительность его воздействия не вызывает необратимых физиологических перестро-

ек в организме леща. Вероятно, при данном режиме экспозиции организм рыб способен ослаблять воздействие ксенобиотика и сдерживать деструктивные процессы на стабильном невысоком уровне.

Авторы выражают благодарность Г. М. Чуйко, Ю. В. Герасимову, О. А. Анисимовой, М. И. Малину, Д. Д. Павлову, Т. Б. Лапировой, Е. А. Заботкиной и А. А. Филиппову за помощь в проведении эксперимента.

#### ЛИТЕРАТУРА

- Герман А. В., Законнов В. В., Мамонтов А. А. Хлороорганические соединения в донных отложениях, бентосе и рыбе Волжского плеса Рыбинского водохранилища // Водн. ресурсы. 2010. Т. 37, № 1. С. 84–88.
- Горбунова Т. И., Первова М. Г., Забелина О. Н., Салоутин В. И., Чупахин О. Н. Полихлорбифенилы: проблемы экологии, анализа и химической утилизации. М.: КРАСАНД, 2011. 400 с.
- Зенков Н. К., Ланкин В. З., Меньщикова Е. Б. Окислительный стресс: биохимический и патофизиологический аспекты. М.: МАИК "Наука/Интерпериодика", 2001. 343 с.
- Илюха В. А. Супероксиддисмутаза и каталаза в органах млекопитающих различного экогенеза // Журн. эволюционной биохимии и физиологии. 2001. Т. 37, № 3. С. 183–186.
- Козловская В. И., Герман А. В. Полихлорированные бифенилы и полиароматические углеводороды в экосистеме Рыбинского водохранилища // Водн. ресурсы. 1997. Т. 24, № 5. С. 563–569.
- Коросов А. В. Специальные методы биометрии: учеб. пособие. Петрозаводск: Изд-во ПетрГУ, 2007. 364 с.
- Меньщикова Е. Б., Ланкин В. З., Зенков Н. К., Бондарь И. А., Круговых Н. Ф., Труфакин В. А. Окислительный стресс. Прооксиданты и антиоксиданты. М.: Фирма "Слово", 2006. 556 с.
- Стальная И. Д. Метод определения диеновой конъюгации ненасыщенных высших жирных кислот / Современные методы в биохимии / под ред. В. Н. Ореховича. М.: Медицина, 1977. С. 63–64.
- Структурные основы адаптации и компенсации нарушенных функций: руководство / под ред. Д. С. Саркисова. М.: Медицина, 1987. 448 с.
- Чуйко Г. М., Законнов В. В., Морозов А. А., Бродский Е. С., Шелепчиков А. А., Фешин Д. Б. Пространственное распределение и качественный состав полихлорированных бифенилов (ПХБ) и хлороорганических пестицидов (ХОП) в донных отложениях и леще (*Abramis brama* L.) Рыбинского водохранилища // Биол. внутр. вод. 2010. № 2. С. 98–108.
- Adams S. M., Crumby W. D., Greeley M. S., Ryon M. G., Schilling E. M. Relationships between physiological and fish population responses in a contaminated stream // Environ. Toxicol. and Chem. 1992. Vol. 11, N 11. P. 1549–1557.
- Aebi H. Catalase *in vitro* // Methods in Enzymology. 1984. Vol. 105. P. 121–126.
- Ankley J. T., Blazer V. S., Reinert R. E., Agosin M. Effects of Aroclor 1254 on cytochrome P-450-dependent monooxygenase, glutathione S-transferase, and UDP-glucuronosyltransferase activities in channel catfish liver // Aquatic Toxicol. 1986. Vol. 9, N 2–3. P. 91–103.
- Borlakoglu J. T., Haegele K. D. Comparative aspects on the bioaccumulation, metabolism and toxicity with PCBs // Comparative Biochemistry and Physiology/ Part C: Comparative Pharmacology. 1991. Vol. 100, N 3. P. 327–338.
- Bradford M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principal of protein dye binding // Analytical Biochemistry. 1976. Vol. 72, N 1–2. P. 248–254.
- Buege J. A., Aust S. D. Microsomal lipid peroxidation // Methods in Enzymology. 1978. Vol. 52. P. 302–310.
- Di Giulio R. T., Hinton D. E. The toxicology of fishes. Boca Ration: CRC Press, 2008. 1096 p.
- Fridovich I. Superoxide dismutases. An adaptation to a paramagnetic gas // The Journ. of Biol. Chem. 1989. Vol. 264, N 14. P. 7761–7764.
- Fundamentals of aquatic toxicology. Effects, environmental fate, and risk assessment / ed. G. M. Rand. Washington, D.C.: Taylor & Francis, 1995. 1148 p.
- Habig W. H., Pabst M. J., Jacoby W. B. Glutathion-S-transferase: the first step in mercapturic acid formation // The Journ. of Biol. Chem. 1974. Vol. 249, N 22. P. 7130–7139.
- Harrad S. J., Sewart A. P., Alcock R., Bounphrey R., Burnett V., Duarte-Davidson R., Halsall C., Sanders G., Waterhouse K., Wild S. R., Jones K. C. Polychlorinated biphenyls (PCBs) in the British environment: sinks, sources and temporal trends // Environ. Pollution. 1994. Vol. 85, N 2. P. 131–146.
- Kadlubar S., Kadlubar F. F. Enzymatic basis of phase I and phase II drug metabolism // Enzyme- and Transporter-Based Drug-Drug Interactions / eds. K. S. Pang, A. D. Rodrigues, R. M. Peter. Springer, 2010. P. 3–25.
- Katagi T. Bioconcentration, bioaccumulation, and metabolism of pesticides of aquatic organisms // Rev. Environ. Contamination and Toxicol. 2010. Vol. 204. P. 1–132.
- Lorenzen A., Kennedy S. W. A fluorescence based protein assay for use with microplate reader // Analytical Biochem. 1993. Vol. 214, N 1. P. 346–348.
- Mamontov A. A., Mamontova E. A., Tarasova E. N. Tracing the sources of PCDD/Fs and PCBs to Lake Baikal // Environ. Sci. and Technol. 2000. Vol. 34, N 5. P. 741–747.
- Matta M. B., Linse J., Cairncross C., Francendese L., Kocan R. M. Reproductive and transgenerational effects of methylmercury or Aroclor 1268 on *Fundulus heteroclitus* // Environ. Toxicol. and Chemistry. 2001. Vol. 20. P. 327–335.
- Morozov A. A., Chuiko G. M., Brodskii E. S. Functional state of the liver antioxidant system of the bream *Abramis brama* (L.) from Rybinsk Reservoir regions with different anthropogenic loads // Inland Water Biology. 2012. Vol. 5, N 1. P. 147–152.
- Quabius E. S., Nolan D. T., Segner H., Wendelaar Bonga S. E. Confinement stress and starvation modulate the induction of EROD activity after dietary exposure to PCB 126 in Mozambique tilapia (*Oreochromis mos-*



- sambicus*) // Fish Physiol. Biochem. 2002. Vol. 25, N 2. P. 109–119.
- Regoli F. Chemical pollutants and the mechanisms of reactive oxygen species generation in aquatic organisms // Oxidative stress in aquatic ecosystems / eds. D. Abele., J. P. Vazquez-Medina, T. Zenteno-Savin. Blackwell Publishing Ltd., 2012. P. 308–316.
- Spitz D. R., Oberley L. W. An assay of superoxide dismutase in mammalian tissue homogenates // Analytical Biochem. 1989. Vol. 179, N 1. P. 8–18.
- Van Schanke A., Boon J. P., Aardoom Y., van Leest A., van Schooten F. J., Maas L., van den Berg M., Everaarts J. M. Effect of a dioxin-like PCB (CB 126) on the biotransformation and genotoxicity of benzo[a]pyrene in the marine flatfish dab (*Limanda limanda*) // Aquatic Toxicol. 2000. Vol. 50, N 4. P. 403–415.
- Whyte J. J., Jung R. E., Schmitt C. J., Tillitt D. E. Ethoxyresorufin-O-deethylase (EROD) activity in fish as a biomarker of chemical exposure // Critical Reviews in Toxicology. 2000. Vol. 30, N 4. P. 347–570.

## **Responses of Hepatic Biochemical Markers of the Bream *Abramis brama* L. on Polychlorinated Biphenyls Administered with Food**

A. A. MOROZOV, V. V. YURCHENKO

*I. D. Papanin Institute for Biology of Inland Waters, RAS  
152742, Yaroslavl Oblast, Borok  
E-mail: aleksey.a.morozov@gmail.com*

The article presents the results of an experimental study on the bream *Abramis brama* L. exposed to polychlorinated biphenyls (PCBs) administered with food. Responses of the components of hepatic biotransformation system (activity of ethoxyresorufin-O-deethylase and glutathione-S-transferase), antioxidant system (superoxide dismutase and catalase activity) and lipid peroxidation system (conjugated dienes and malonic dialdehyde contents) were studied. It was determined that the 2 mg/kg dose of PCBs did not cause permanent physiological alterations in the bream exposed to such feed for 14 days. Apparently, at these exposure conditions hepatic protection systems of the bream were able to suppress effects of xenobiotics and keep destructive processes on a stable moderate level.

**Key words:** bream, antioxidant system, lipid peroxidation, biotransformation system, polychlorinated biphenyls, experiment.