

## ОСОБЛИВОСТІ ЗМІНИ ДЕЯКИХ БІОХІМІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ У РІЗНИХ ЕКОЛОГІЧНИХ ГРУП РИБ ЗА ДІЇ АНТРОПОГЕННОГО НАВАНТАЖЕННЯ

М. В. ПРИЧЕПА, О. С. ПОТРОХОВ, О. Г. ЗІНЬКОВСЬКИЙ

*Інститут гідробіології НАН України,  
пр. Героїв Сталінграда, 12, Київ – 210, 04210, Україна,  
e-mail Prichepa2013@mail.ru*

*Розглянуто вплив екологічних умов на вміст гормонів тироксину, трийодтироніну, активності ЛДГ та вмісту глюкози у плазмі крові верховодки, плітки, краснопірки, йоржжа та окуня. Вміст трийодтироніну та тироксину визначали імуноферментним методом з використанням стандартних комерційних наборів. Вміст глюкози визначали глюкозооксидазним методом із застосуванням стандартних наборів на спектрофотометрі СФ-26. Активність лактатдегідрогенази оцінювали спектрофотометрично за довжини хвилі 345 нм на СФ-26. Розглянуто зміни вмісту трийодтироніну у плазмі крові всіх досліджуваних видів риб. Встановлено, що у окуня, йоржжа, плітки та краснопірки, які мешкали у антропогенно порушеному оз. Кирилівське вміст цього гормону був нижчим, ніж у риб у Білоцерківського середнього водосховища (р. Рось). Це свідчить про зниження активності окисно-відновних процесів. У всіх досліджуваних риб з оз. Кирилівське зростає активність лактатдегідрогенази. Це вказує на більш широке залучення процесів гліколізу в адаптивних процесах. У верховодки відбувається протилежна реакція. На протизвагу вищезазначеним видам у неї вміст трийодтироніну був вищим у риб з оз. Кирилівське порівняно з водосховищем. Це пояснюється міжвидовими відмінностями у метаболізмі та місцем перебування цього виду у водоймі. Відзначено, що зі зростанням активності ЛДГ підвищується вміст глюкози у плазмі крові. Проте це характерно лише для окуня, йоржжа та плітки, що вочевидь вказує на значні потреби в енергозабезпеченні досліджуваних риб. На основі отриманих результатів виявлені міжвидові відмінності у зміні вмісту окремих гормонів, глюкози, а також активності ЛДГ. Досліджені показники можна у подальшому використовувати для біомоніторингу водойм та виявлення стійких та вразливих видів риб.*

*Ключові слова: гормони, лактатдегідрогеназа, глюкоза, риби, антропогенні чинники, метаболізм*

**Вступ.** Останнім часом підвищується рівень урбанізації, що неминуче впливає на прилеглі водні об'єкти. Саме це поряд із глобальними кліматичними змінами визначає вплив антропогенного забруднення на водні екосистеми. Безперервне зростання скиду господарсько-побутових і промислових стічних вод порушує природний баланс водойм. Це, зокрема, стосується водойм, які розміщені у межах великих міст і зазнають впливу урбанізації. При цьому відбувається насичення водойми біогенними, органічними та токсичними сполуками. Це викликає порушення кисневого режиму та сприяє виникненню гіпоксичних зон, особливо у придонних шарах води (Schiedeck et al., 2007). Сукупність цих чинників водночас із кліматичними змінами здатні модифікувати екологічні умови, до яких еволюційно пристосовані водні тварини. Наслідком цього може бути флуктуація якісного та кількісного складу гідробіонтів, а також спрямованість проходження метаболічних процесів. Глобальні кліматичні зміни в сукупності з антропогенною дією виснажують біологічні ресурси водойм. Тому для прогнозу

екологічного стану водних екосистем потрібна розробка нових методів і рекомендацій щодо його діагностики (Rudneva., 2011; Iwanowicz et al., 2012). Вони допомагають визначати особливості та характер адаптації гідробіонтів та відновлення гомеостазу організму за дії несприятливих чинників довкілля. Одним із пріоритетних напрямів, який сприяє розширенню нашого уявлення про взаємодію біоти та довкілля – це використання в іхтіологічній та гідробіологічній практиці біохімічного моніторингу. На думку низки вчених, одними з найбільш інтегральних показників є гормональна та ферментативна система риб, зокрема зміна вмісту гормонів щитоподібної залози та активності ферментів енергетичного обміну за дії різноманітних чинників (Oliveira et al., 2011, Panepul, Paunesen, 2014). Це, передусім, дає змогу більш повноцінно визначити екологічні умови, де мешкають водні тварини. Крім того для більш повної картини неабияка роль приділяється вибору модельних об'єктів для біомоніторингу. Доцільно використовувати ті види риб, які займають різні екологічні ніші,

розділені таксономічно та мають широкі межі розповсюдження.

Метою роботи є встановлення впливу екологічних умов існування аборигенних риб на їх окремі біохімічні показники.

**Об'єкти і методи дослідження.** Об'єктами досліджень були краснопірка *Scardinius erythrophthalmus* (L.), плітка *Rutilus rutilus* (L.), верховодка *Alburnus alburnus* (L.), йорж звичайний *Gumnocephalus cernua* (L.), окунь річковий *Perca fluviatilis* (L.). Визначено низку гідрохімічних показників, зокрема вміст кисню у оз. Кирилівське становив 1,3–5,0 мг/дм<sup>3</sup>, у р. Рось від 6 до 8,5 мг/дм<sup>3</sup>; температура води від 17,5 до 24,5°C (оз. Кирилівське), від 14,0 до 19,6°C (р. Рось), рН від 7,8–8,2 та 7,3–7,7 відповідно, загальна мінералізація була на рівні 450–490 та 530–580 мг/дм<sup>3</sup>.

Вилів риб проводили з 4 вересня по 5 жовтня у оз. Кирилівське та р. Рось за допомогою гачкових знарядь лову. Кров центрифугували для виділення плазми протягом 15 хв. при 3 тис. об./хв. Зберігали плазму крові за температури -18°C. Вміст трийодтироніну та тироксину в плазмі крові риб визначали імуноферментним методом за допомогою наборів реагентів «Т3 загальний-ІФА-Бест» (Закрите акціонерне товариство «Вектор-Бест», Росія), «Т4-ІФА» (НВЛ Гранум, Україна), та ІФА-аналізатора Rayto RT-2100С. У лабораторних умовах спектрофотометрично визначали активність лактатдегідрогенази (ЛДГ) та вміст глюкози (глюкозооксидазним методом) з використанням стандартних комерційних наборів «Філісіт-Діагностика» (Україна) та спектрофотометра СФ-26. Статистичну обробку даних проводили з використанням програм Statistica 10.0 та програми Excel із пакета Microsoft Office.

**Результати та їх обговорення.** Для досліджень обрано різні за екологічними особливостями водойми. Ділянка на Білоцерківському середньому водосховищі (р. Рось) розміщена вище міста та підлягала мінімальному впливу антропогенного навантаження. На це вказують і дослідження (Хільчевський та ін., 2012). Оз. Кирилівське розташоване в урбанізованому районі м. Київ. Джерелами забруднення озера є поверхневий стік, а також р. Сирець, яка приймає стічні води низки підприємств Куренівської промислової зони. Саме з неї до озера зливається значна кількість біогенних та токсичних сполук, нафтопродуктів (Романенко та ін., 2015; Панасюк та ін., 2015).

Нами розглянуто зміни вмісту гормонів щитоподібної залози. Встановлено, що у риб з р. Рось вміст трийодтироніну (Т3) у плазмі крові був вищим, ніж у оз. Кирилівське у 2,7, 4,3, 1,8 рази та на 16,4 % у окуня, плітки, краснопірки та йоржа відповідно. На противагу цим видам у верховодки вміст Т3 був на 3,5 рази вищий у риб з оз. Кирилівське, ніж з р. Рось. Це, насамперед, свідчить про те, що у досліджуваних риб спостерігається різноспрямована регуляція енергетичного обміну (рис. 2).

Відомо, що Т3 бере активну участь у регуляції енергозабезпечення метаболічних процесів та визначає процеси споживання кисню тканинами риб (Arjona et al., 2011; Peter et al., 2008). Можливо, що вміст Т3 знижувався у риб унаслідок перепадів кисневого режиму у оз. Кирилівське, яке відбувалося унаслідок посиленого самозабруднення водойми через замуленість дна, а також надходження до водойми стічних вод із р. Сирець та Кирилівського струмка (Якушин, 2015).

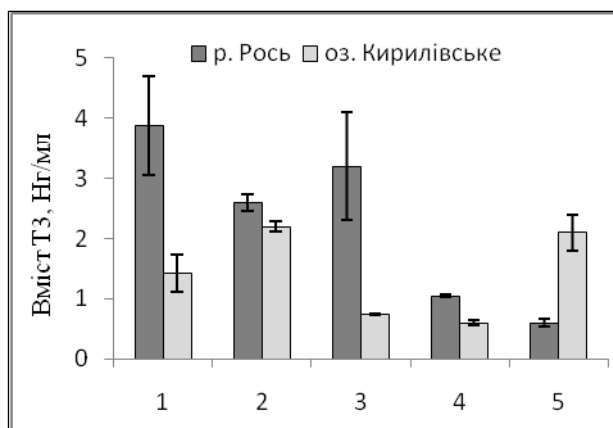


Рис. 1. Вміст трийодтироніну у плазмі крові риб  $M \pm m, n=5$ .

Fig. 1. Content of triiodotironin in blood plasma of fish  
Примітка тут і надалі: 1 – окунь, 2 – йорж, 3 – плітка, 4 – краснопірка, 5 – верховодка.

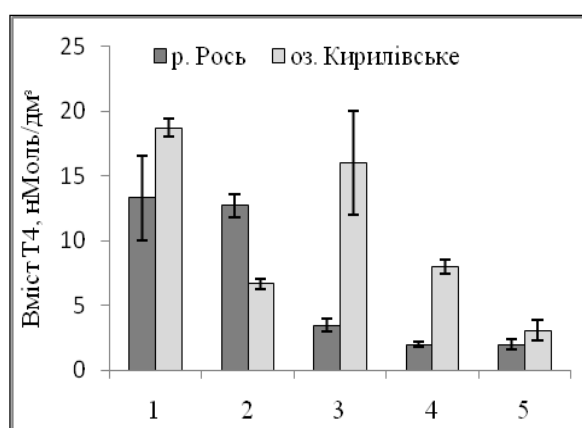


Рис. 2. Вміст тироксину у плазмі крові риб  $M \pm m, n=5$ .

Fig. 2. Content of thyroxine in blood plasma of fish  
Note (thereafter): 1 – river perch, 2 – ruff, 3 – common roach, 4 – common rudd, 5 – common bleak.

У верховодки, як яскраво вираженого пелагічного реолімнофіла, через специфічні особливості метаболізму спостерігалась протилежна картина. Зокрема, вміст Т3 був вищим у цій водоймі, ніж у риб з водосховища р. Рось, де нами не виявлено суттєвого погіршення екологічних умов. Тому що, вид постійно змінює місцеперебування у водоймі, у нього відбувається активне надходження у плазму гормону Т3, що забезпечує сталість обмінних процесів. Це дозволяє цьому виду маневрувати між локальними зонами забруднення. Яскравим прикладом є те, що зграї цих риб часто скупчуються у місцях скидів стічних вод, зокрема й у районі впадіння р. Сирець. За вмістом тироксину (Т4) у верховодки очевидних змін не виявлено, що, можливо, вказує на конвертування цього гормону у Т3. У окуня, плітки та краснопірки вміст цього гормону був на 29,9%, у 4,5 та 4 рази вищий, ніж у риб із р. Рось. Це, вочевидь, пов'язано із взаємодоповнюючою функцією цих гормонів, зокрема з тим, що Т4 – це неактивна форма тиреоїдних гормонів (Arjona et al., 2011). У йоржа вміст Т4 був вищим в 1,9 рази у риб з р. Рось, ніж з оз. Кирилівське. Отже незначне зростання вмісту Т3 у йоржа і, водночас, суттєве підвищення Т4, можливо вказує на своєрідну спрямованість гормонів тиреоїдної залози у цього виду на забезпечення тканинного гомеостазу збереженням на високому рівні у плазмі крові як вмісту Т3, так і Т4. Це особливо важливо, враховуючи, що йорж не схильний до великих міграцій у водоймі і веде осілий придонний спосіб життя.

У подальшому розглянуто зміну активності ЛДГ у плазмі крові риб. Із літературних джерел відомо, що зміна активності цього ферменту використовується як індикатор стресу та тканинної гіпоксії (Panerusa et al., 2000). Крім того зміна цього показника є добрим маркером в токсикологічних дослідженнях (Almeida et al., 2002). Нами встановлено, що у риб із оз. Кирилівське у плазмі крові активність ЛДГ була на 50,5; 60,6; 35,4 та 46,2% вища, ніж у риб з водосховища р. Рось (рис. 3). Це, явно, свідчить про використання для енергообміну гліколітичних процесів. Значне зростання активності цього ферменту у окуня та йоржа порівняно з іншими представниками іхтіофауни вказує на їх видові особливості у проходженні енергетичного обміну. Зокрема, йорж – придонний бентофаг, а окунь – активний пелагічний і, частково, придонний хижак, які потребують чіткого корегування гліколітичних процесів, зокрема за несприятливих екологічних умов, з якими час від часу зіштовхується організм цих риб у оз. Кирилівське. На це може також вказувати й зниження вмісту Т3 у досліджуваних видів, що розглянуто вище (див рис. 1). Для з'ясування інтенсивності енергетичного обміну проаналізовано було розглянуто вміст глюкози у плазмі крові. Цей показник також використовується як індикатор стресу (Almeida et al., 2002).

Встановлено, що у риб із оз. Кирилівське, зокрема окуня, йоржа та плітки вміст глюкози у плазмі крові також вищий (на 13,3, 30,7 та 12,1% відповідно), ніж у р. Рось. Відомо, що глюкоза є універсальним біоенергетичним субстратом, яка швидко транспортується через плазму до тканин.

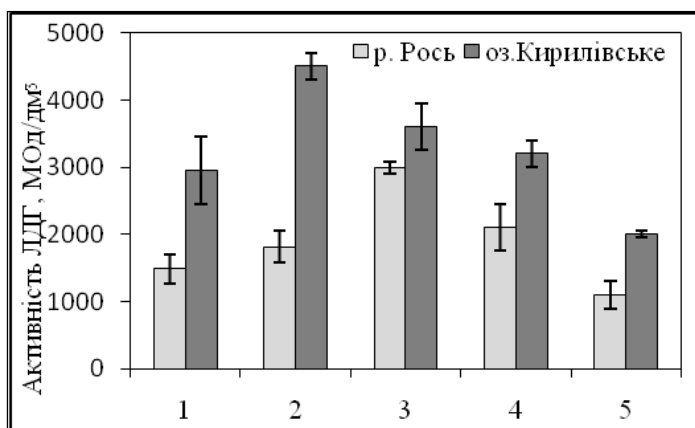


Рис. 3. Активність ЛДГ у плазмі крові риб.  $M \pm m$ ,  $n=5$

Fig. 3. Activity of lactate dehydrogenase in blood plasma of fish

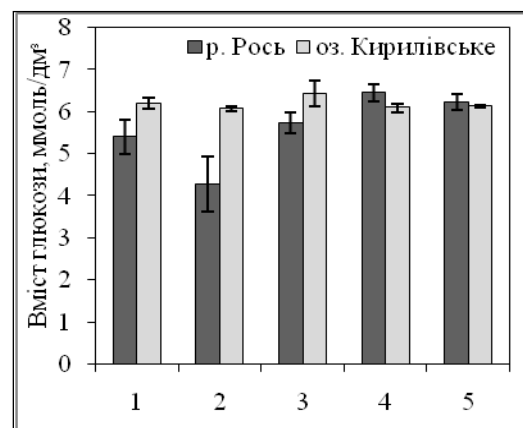


Рис. 4. Вміст глюкози у плазмі крові риб.  $M \pm m$ ,  $n=5$

Fig. 4. Content of glucose in blood plasma of fish

Це можливо вказує на залучення її до гліколітичних процесів у обмін речовин, що підтверджується зростанням активності ЛДГ і зниженням вмісту ТЗ. Саме у йоржа та окуня, які досить вимогливі до якості води виявлено найбільше зростання вмісту глюкози та активності ЛДГ у плазмі крові що, імовірно, підтверджує їх адекватну біохімічну відповідь на несприятливі екологічні умови, які склалися на період досліджень. Враховуючи нестабільність водної системи та наявність застійних зон (Панасюк та ін., 2015, Якушин та ін., 2015), неабияку роль у зміні досліджуваних біохімічних показників міг відіграти вплив вторинного забруднення через накопичення у донних відкладах озера значної кількості металів, зокрема алюмінію, цинку, свинцю (Жежеря та ін., 2016), які здатні утворювати комплексні сполуки та надходити як токсиканти до біоти, зокрема й риби.

**Висновки.** На основі отриманих результатів було показано, що досліджувані види суттєво відрізняються при однакових екологічних умовах за біохімічними показниками. Найбільш чітко це прослідковується за вмістом трийодтироніну, який у риби із оз. Кирилівське був у рази нижчим, ніж у риби з р. Рось. Це вочевидь, може свідчити про інгібування синтезу трийодтироніну щитоподібною залозою внаслідок перепадів кисневого режиму у водоймі і переходом риби на анаеробний обмін. На це ж вказує і зростання активності ЛДГ у плазмі крові всіх досліджуваних риби та збільшенні вмісту глюкози у ній. На противагу цьому нами було встановлено, що у більшості видів із водосховища р. Рось вміст тироксину значно нижчий, ніж у досліджуваних об'єктів із оз. Кирилівське. Отримані результати можуть слугувати показовими індикаторами фізіологічного стану риби та характеризувати екологічні умови у яких вони мешкають.

#### Список літератури:

1. Жежеря В.А., Задорожна Г.М., Батог С.В., Жежеря Т.П. Сучасна гідроекологія: місце наукових досліджень у вирішенні актуальних проблем // Зб. матеріалів III науково-практ. конф. для молодих вчених. 6–7 жовтня 2016 р. – Київ, 2016. – С. 20–23.
2. Панасюк І.В., Томільцева А.І., Зуб Л.М., Погорелова Ю.В. Якість води у міських водоймах та характер освоєння водоохоронних зон (на прикладі озер системи «Опечень», м.Київ) // Екологічна безпека та природокористування, - 2015. – № 4 (20). – С. 63–69.
3. Якушин В.М., Потрохов А.С., Зиньковский О.Г. и др. Численность бактерий и протеолитическая активность в воде озера, расположенного в городской черте // Гидробиол. журн. – 2015. – № 1, Т. 51. – С. 83–92.

4. Романенко О.В., Арсан О.М., Кіпніс Л.С., Ситник Ю.М. Екологічні проблеми київських водойм і прилеглих територій. – Київ «Наукова думка». – 2015. – 189 с.
5. Хільчевський В.К., Савицький В.М., Красова Л.А., Гончар О.М. Польові та лабораторні дослідження хімічного складу води р. Рось. Навч посібн // За ред. В.К.Хільчевського. – К.: Центр. «Київський університет», – 2012. – 143 с.
6. Almeida J.A., Diniz Y.S., Marques S.F. et al. The use of the oxidative stress responses as biomarkers in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) exposed to in vivo cadmium contamination // Environ Int – 2002. – Vol. 270. – P. 673–679.
7. Arjona F.J., Vargas-Chacoff L., Maria del Rio M.P. et al. Effects of cortisol and thyroid hormone on peripheral outer ring deiodination and osmoregulatory parameters in the Senegalese sole (*Solea senegalensis*) // J. Endocrinol. – 2011. – Vol. 208. – P. 323–330.
8. Iwanowicz L.R., Blazer V.S., Hitt N.P. et al. Histologic, immunologic and endocrine biomarkers indicate contaminant effect in fishes of the Asthabula river // Ecotoxicology. – 2012. – Vol. 12. – P. 165–182.
9. Oliveira M., Pacheco M., Santos M.A. Fish thyroidal and stress responses in contamination monitoring – an integrated biomarker approach // Ecotoxicol. Environ. Sci. – 2011. – Vol. 74, № 5. – P. 1265–1270.
10. Panepuca M.N., Fernandes M.N., Sanches F.T. Changes in lactate dehydrogenase and malate dehydrogenase activities during hypoxia and after temperature acclimation in the armored fish *Rhinelepis strigosa* (siluriformes, loricaridae) // Rantin. . Rev. Brasil. Biol. – 2000. – Vol. 60, № 2. – P. 353–360.
11. Peter M.C.S., Leji J., Rejitha V. et al. Physiological responses of African catfish (*Clarias gariepinus*) to water-borne ferric iron: Effects on thyroidal, metabolic and hydromineral regulations // J. Endocrinol Reprod – 2008. – Vol.12. – P. 24–30.
12. Ponepul M.C., Paunesen M.C. Effect of phenol intoxication on some physiological parameters of *Perca fluviatilis* and *Pelophylax rudibundus* // Current trend in Natural sci. – 2014. – Vol. 3 (3). – P. 82–87.
13. Rudneva I. I. Ecotoxicological studies of the Black Sea ecosystem. The Case of Sevastopol Region. – New York (USA): Nova Science Publishers Inc., 2011. – 62 p.
14. Schiedeck D., Sundelin B., Readman J.W., Macdonald R.W. Interactions between climate change and contaminants. // Marine Pollution Bull. – 2007. – Vol. 54. – P. 1845–1856.

#### References:

1. Zhezherya V.A., Zadorozhna A.M., Batog S.V. Zhezherya T.P. Modern hydroecology. Place of research in solving urgent problems. Proceedings of the III Scientific Conference for Young Scientists. – 6-7 October. – 2016 Kyiv. 2016. – P. 20-23.
2. Panasiuk IV, Tomiltseva AI Zyb LM Pogorelov YV Water quality in urban water bodies and character development of water protection zone (for example,

- lakes system "Opechen", Kiev) // Environmental and Natural Resources, - 2015. - №4 (20). - P. 63.-69.
3. 3.Yakushin VM, Potrokhov A.S, Zinkovskiy O.G. et al. The number of bacteria and proteolytic activity in the lake water, which is located in the city // *Gidrobiol. J.* - 2015. - №1, (51). - P. 83-92.
  4. Romanenko O.V, Arsan A.M, Kipnis L.S, Sitnik Y.M. Environmental problems of Kiev ponds and surrounding areas // *Kyiv "Scientific thought".* - 2015. - P. 189.
  5. Hilchevskyy V.K, Savitsky V.M., Krasova L.A, Potter A.M. Field and laboratory studies, the chemical composition of water. Ros. Teach manual // Ed .. V.K.Hilchevskoho. - K. : Center of a publication. "Kyiv University" - 2012. - 143 p.
  6. Almeida J.A., Diniz Y.S., Marques S.F. et al. The use of the oxidative stress responses as biomarkers in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) exposed to in vivo cadmium contamination // *Environ Int* - 2002. - Vol. 270. - P. 673-679.
  7. Arjona F.J., Vargas-Chacoff L., Maria del Rio M.P. et al. Effects of cortisol and thyroid hormone on peripheral outer ring deiodination and osmoregulatory parameters in the Senegalese sole (*Solea senegalensis*) // *J. Endocrinol.* - 2011. - Vol. 208. - P. 323-330.
  8. Iwanowicz L.R. Blazer V.S., Hitt N.P. et al. Histologic, immunologic and endocrine biomarkers indicate contaminant effect in fishes of the Asthabula river // *Ecotoxicology.* - 2012. - Vol. 12. - P. 165-182.
  9. 8.Oliveira M., Pacheco M., Santos M.A. Fish thyroidal and stress responses in contamination monitoring – an integrated biomarker approach // *Ecotoxicol. Environ. Sci.* - 2011.-Vol. 74, № 5. - P. 1265-1270.
  10. Panepuca M.N., Fernandes M.N., Sanches F.T. Changes in lactate dehydrogenase and malate dehydrogenase activities during hypoxia and after temperature acclimation in the armored fish *Rhinelepis strigosa* (siluriformes, loricaridae) // *Rantin. . Rev. Brasil. Biol.* - 2000. - Vol. 60, № 2. - P. 353-360.
  11. Peter M.C.S., Leji J., Rejitha V. et al. Physiological responses of African catfish (*Clarias gariepinus*) to water-borne ferric iron: Effects on thyroidal, metabolic and hydromineral regulations // *J. Endocrinol Reprod* - 2008. -Vol.12. - P. 24-30.
  12. Ponepul M.C., Paunesen M.C. Effect of phenol intoxication on some physiological parameters of perca fluviatilis and pelophylax rudibundus // *Current trend in Natural sci.* - 2014. - Vol. 3(3). - P. 82-87.
  13. Rudneva I. I. Ecotoxicological studies of the Black Sea ecosystem. The Case of Sevastopol Region. /I. I. Rudneva. - New York (USA) : Nova Science Publishers Inc., 2011. - 62 p.
  14. Schiedeck D., Sundelin B., Readman J.W., Macdonald R.W. Interactions between climate change and contaminants. // *Marine Pollution Bull.* - 2007. - Vol. 54. - P. 1845-1856.

## **THE FEATURES OF BIOCHEMICAL PARAMETERS CHANGE IN DIFFERENT ECOLOGICAL GROUPS OF FISH UNDER CONDITIONS OF ANTHROPOGENIC PRESSURE**

**M. V. Prichepa, A. S. Potrokhov, O. G. Zinkovskiy**

*An influence of environmental conditions on the content of hormone thyroxine, triiodothyronine, LDH activity and glucose in the blood plasma of bleak, roach, rudd, ruff and river perch was considered. The content of hormones thyroxine and triiodothyronine was determined by ELISA using standard commercial kits. Glucose was determined by glucosoxidase method using standard sets on a spectrophotometer SF-26. Activity of lactate dehydrogenase was assessed spectrophotometrically at the wavelength of 345 nm using SF-26. The changes in the content of triiodothyronine in the blood plasma of the studied species were considered. It was found that the content of this hormone was lower in perch, ruffe, gossip and scardinius which were lived in the anthropogenically disturbed Cyrilovske Lake than in fish from the Bila Tserkva medium reservoir (Ros River). It indicates a decrease in activity of redox processes. It was established that in all investigated fishes from the Cyrilovske Lake the lactate dehydrogenase activity was increased. It is indicated on widely involvement of glycolysis in adaptive processes. The opposite reaction has been seen in bleak. In contrast to the above mentioned species the content of triiodothyronine was higher in fish from Cyrilovske Lake in comparison with reservoir. It is explained by interspecies differences in metabolism and the fish habitats in the pond. It is noted that an increased glucose level in the blood plasma is connected with increasing of LDH activity. However, it is common only for perch, ruffe and roach, which obviously indicates on a significant need for energy supply of the studied fish. Based on the research data the revealed interspecific difference of changing the content of certain hormones and the activity of LDH and glucose was demonstrated. The investigated parameters can be further used for biomonitoring and identify water-resistant and vulnerable species.*

*Key words: hormones, lactate dehydrogenase, glucose, fish, anthropogenic factors, metabolism.*

*Отримано редколегією 07.02.2017*