

УДК 636.02:597.55:576.344

*В. Я. Бияк, Ю. В. Синюк, В. З. Курант, Ф. А. Прибич*

**ФРАКЦИОННЫЙ СОСТАВ БЕЛКОВ СЫВОРОТКИ  
КРОВИ НЕКОТОРЫХ ВИДОВ РЫБ МАЛЫХ РЕК  
ЗАПАДНОГО ПОДОЛЬЯ**

Представлены результаты исследования белкового состава сыворотки крови наиболее распространенных пресноводных рыб Западного Подолья — карпа, карася, окуня и щуки. Изучены межвидовые различия содержания в сыворотке крови альбуминов и  $\alpha$ ,  $\beta$  и  $\gamma$ -глобулинов у исследованных видов рыб. Выявлена определенная разница в соотношении белковых фракций сыворотки крови у рыб из разных малых рек. Рассмотрена смена фракционного состава белков сыворотки крови исследованных рыб, как ответ их организма на действие факторов внешней среды, что может использоваться для биомониторинга водных экосистем.

*Ключевые слова:* пресноводные рыбы, малые реки, белки, кровь, Западное Подолье, Украина.

Повышение уровня загрязнения пресных водоемов актуализирует проблему объективных методов биомониторинга качества воды, а также разработки эффективных протекторов против воздействия различных токсикантов и средств коррекции биопроизводительных процессов у гидробионтов. Для успешного решения этих заданий необходимо глубокое изучение механизмов компенсаторно-адаптивных реакций водных животных в ответ на воздействие факторов водной среды.

Одним из главных критериев, который определяет физиолого-биохимический статус организма, является поддержание в нем гомеостатического уровня определенных метаболитов, которые занимают центральное место в регуляции обмена веществ, соотношении анаболических и катаболических процессов и формировании физиолого-биохимических адаптаций организма. В описанных процессах ведущая роль принадлежит белковому обмену [16].

В последнее время получил развитие и применение гематологический анализ, который позволяет по морфо-функциональным и биохимическим показателям крови рыб получить информацию о состоянии водной экосистемы [11]. Белки сыворотки крови являются достаточно лабильной систе-

© Бияк В. Я., Синюк Ю. В., Курант В. З., Прибич Ф. А., 2009

мой, отражающей состояние организма, а также изменения, происходящие в нем под воздействием внутренних и внешних факторов. Фореграммы белков сыворотки крови разных видов отличаются расположением и количеством фракций, а также содержанием в них белка [2, 4, 17]. Для рыб установлена зависимость общего содержания белка и их фракционного состава в сыворотке крови от сезона, возраста и физиологического состояния организма [5, 6, 8]. Изменение белкового состава крови рыб связано с изменением химического состава водной среды [9]. Таким образом, рыбы могут быть использованы в качестве биоиндикаторов для оценки состояния загрязнения воды.

В связи с перечисленным, целью нашего исследования было определение белкового состава сыворотки крови наиболее распространенных пресноводных рыб — карпа, карася, окуня и щуки, выловленных в трех малых реках Западного Подолья — Серете, Стрыпе и Золотой Липе. Данные реки являются основным источником водоснабжения коммунальных и агротехнических хозяйств. Негативное антрополическое влияние, которое наблюдается в них, заключается в поступлении в воды рек стоковых вод, мусора, ядохимикатов, солей фосфора и азота, что является причиной существенных изменений в гидрэкосистемах [13].

**Материал и методика исследований.** Для эксперимента использовали карпа *Cyprinus carpio* L., карася *Carassius auratus* L., окуня *Perca fluviatilis* L. и щуку *Esox lucius* L. половозрелого возраста, массой 290—330, 150—230, 170—230 и 200—350 г соответственно. Для исследования рыб отбирали из водоемов непосредственно перед экспериментом путем трального лова промышленным способом, после чего их транспортировали в лабораторию в емкостях из расчета не менее 10 л воды на одну особь в воде из водоемов отлавливания при достаточной аэрации и сразу исследовали.

Общее содержание белков в сыворотке крови определяли методом Лоури и др. [18]. Для исследований белковых фракций сыворотки крови рыб использовали метод и диагностический набор для электрофоретического разделения белков сыворотки крови на агарозе Cormay Gel Protein 100 производства фирмы Cormay (Австрия). Расшифровку фореграмм осуществляли на денситометре этой же фирмы. Полученные результаты обрабатывали статистически по общепринятой методике с использованием *t*-критерия Стьюдента [7].

### **Результаты исследований и их обсуждение**

Полученные данные свидетельствуют об определенных отличиях общего содержания белка у разных видов рыб (табл. 1). Самое высокое содержание общего белка в сыворотке крови обнаружено у карпа из р. Золотая Липа, несколько ниже оно было у особей из р. Стрыпа и на 7,8% ниже у рыб из р. Серет. Наиболее высокая общая концентрация белка у карася также обнаружена у особей, выловленных в р. Золотая Липа. Она была несколько ниже у рыб из рек Серет (на 3,2%) и Стрыпа (на 6,0%). В целом, по общему содержанию белка в сыворотке крови карась превышает другие исследованные виды рыб.

**1. Общее содержание белка (г/л) и значения белкового коэффициента в сыворотке крови некоторых видов рыб малых рек Западного Подолья ( $M \pm m$ ,  $n = 5$ )**

Показатели	Карп	Карась	Окунь	Щука
	р. Серет			
Общий белок	12,82 ± 0,19	15,06 ± 0,11	10,77 ± 0,41	11,57 ± 0,17
Белковый коэффициент	0,70 ± 0,06	0,24 ± 0,01	0,30 ± 0,01	0,33 ± 0,02
	р. Стрипа			
Общий белок	13,36 ± 0,34	14,62 ± 0,17	11,49 ± 0,12	10,83 ± 0,42
Белковый коэффициент	0,41 ± 0,02*	0,16 ± 0,01*	0,48 ± 0,03*	0,21 ± 0,02*
	р. Золотая Липа			
Общий белок	13,91 ± 0,60	15,55 ± 0,36	11,25 ± 0,21	10,78 ± 0,28*
Белковый коэффициент	0,71 ± 0,03	0,16 ± 0,01*	0,39 ± 0,01*	0,24 ± 0,01*
	Среднее значения по трем рекам ( $n = 15$ )			
Общий белок	13,36 ± 0,25	15,08 ± 0,16	11,17 ± 0,17	11,06 ± 0,19
Белковый коэффициент	0,62 ± 0,04	0,19 ± 0,01	0,38 ± 0,02	0,27 ± 0,02

\* Здесь и в табл. 2 отклонения по сравнению с видами из р. Серет статистически достоверные ( $P < 0,05$ ).

Относительно окуня, то самый высокий уровень данного показателя наблюдается у особей из р. Стрипа, а самый низкий — у рыб из р. Серет. У щуки, из р. Серет, напротив, общее содержание белка было самое высокое, а у рыб из рек Стрипа и Золотая Липа оно на 6—7% ниже и приблизительно равное.

По нашему мнению, повышенное общее содержание белка в сыворотке крови рыб, выловленных в отдельных реках, можно рассматривать как следствие отличий в пищевом обеспечении рыб, и как адаптивную реакцию на токсичный стресс, который приводит к синтезу отдельных групп адаптивных белков, или следствие апоптоза, как результат токсической нагрузки [19, 20].

Общие отличия являются следствием вариабельности фракционного состава белков сыворотки крови рыб, которые являются генетически детерминированной гетерогенной системой, содержащей у исследованных видов рыб такие основные фракции, как альбумин,  $\alpha_1$ -,  $\alpha_2$ -,  $\beta$ - и  $\gamma$ -глобулины [17].

Проведенное сравнительное исследование белков сыворотки крови описанных видов рыб показало (табл. 2), что самое высокое содержание альбу-

**2. Фракционный состав белков сыворотки крови некоторых видов рыб малых рек Западного Подолья (% от общего содержания белков,  $M \pm m$ ,  $n = 5$ )**

Виды	Альбумин	Глобулины			
		$\alpha_1$	$\alpha_2$	$\beta$	$\gamma$
р. Серет					
Карп	40,80 ± 2,14	12,33 ± 0,31	14,30 ± 0,58	21,56 ± 1,24	11,02 ± 1,15
Карась	19,12 ± 0,75	36,80 ± 1,08	20,05 ± 1,08	8,36 ± 0,84	15,67 ± 1,34
Окунь	23,18 ± 0,72	15,39 ± 1,35	20,33 ± 0,57	22,98 ± 1,27	18,03 ± 0,88
Щука	25,03 ± 1,22	30,07 ± 0,57	16,93 ± 2,56	13,45 ± 1,18	14,51 ± 0,78
р. Стрипа					
Карп	29,28 ± 1,33*	9,02 ± 0,96*	8,70 ± 0,89*	42,52 ± 0,41*	10,48 ± 1,03
Карась	13,36 ± 0,81*	38,04 ± 0,63	17,90 ± 1,27	16,24 ± 1,81*	14,47 ± 1,06
Окунь	32,38 ± 1,26*	17,66 ± 1,04	18,03 ± 1,04	15,06 ± 0,23*	16,87 ± 0,52
Щука	17,02 ± 1,32*	30,56 ± 0,91	22,51 ± 2,74	16,31 ± 1,20	13,60 ± 0,43
р. Золотая Липа					
Карп	41,44 ± 1,05	7,97 ± 0,48*	13,81 ± 0,63*	27,55 ± 0,43*	9,23 ± 1,21
Карась	13,94 ± 0,51*	29,42 ± 1,14*	20,76 ± 1,27	19,35 ± 1,01*	16,54 ± 0,29
Окунь	28,00 ± 0,74*	17,11 ± 1,50	15,15 ± 1,25*	14,98 ± 1,54*	24,76 ± 2,12*
Щука	19,47 ± 0,59*	26,74 ± 1,42*	20,69 ± 3,16	17,59 ± 0,67*	15,51 ± 1,41
Среднее значения по трем рекам ( $n = 15$ )					
Карп	37,74 ± 2,14	9,83 ± 0,77	12,52 ± 0,96	29,69 ± 2,30	10,23 ± 0,81
Карась	15,62 ± 1,01	34,52 ± 1,49	19,69 ± 0,90	14,53 ± 1,83	15,64 ± 0,72
Окунь	27,50 ± 1,44	16,62 ± 0,91	18,03 ± 0,95	18,08 ± 1,54	19,78 ± 1,43
Щука	20,51 ± 1,38	29,12 ± 0,92	20,05 ± 2,11	15,78 ± 0,94	14,54 ± 0,72

минов наблюдается в сыворотке крови карпа, выловленного в р. Золотая Липа. Почти на таком же уровне было содержание белка в этой фракции у карпа из р. Серет, а у особей этого вида из р. Стрипа оно ниже почти на 30%.

У карася содержание белков во фракции альбумина самое низкое. При этом рыбы из рек Золотая Липа и Стрипа практически не отличаются по величине этого показателя, а у особей, выловленных в р. Серет, он выше на 30%. Среди окуней самую высокую концентрацию белка во фракции альбумина содержат особи из р. Стрипа, на 13,5% она ниже у рыб из р. Золотая Липа и на 28,4% у рыб из р. Серет. Содержание альбумина в сыворотке крови щук высокое у особей из р. Серет и составляет 25%, у рыб из р. Золотая Липа оно составляет 19,5% и у рыб из р. Стрипа — 17%.

Следовательно, отличия содержания альбумина в сыворотке крови исследуемых видов рыб, выловленных из разных рек, разнонаправленные: у карпа из всех исследованных рек содержание альбуминов в крови практически одинаковое; у карася и щуки из рек Стрипа и Золотая Липа оно было ниже против показателя рыб из р. Серет, а у окуня, напротив, выше. Следует отметить, что в количественном отношении среди других белков сыворотки крови альбумин составляет самую большую часть. Этот белок играет существенную роль в поддержании коллоидно-осмотического давления крови, а также служит для организма важным источником аминокислот. Кроме того, с альбумином связывают транспорт целого ряда как низко-, так и высокомолекулярных веществ: аминокислот, жирных кислот, витаминов, гормонов, а также катионов и токсинов [15]. Поэтому увеличение его содержания у рыб, которые испытывают определенное экотоксикологическое давление, может быть свидетельством формирования определенных защитных адаптаций к этим факторам, а уменьшение — напротив, может быть следствием истощения адаптивных ресурсов к хроническому токсическому стрессу [9]. Вероятно, наиболее неблагоприятными являются условия существования в реках Стрипа и Золотая Липа, особенно для карася и щуки. Адаптивные возможности карпа и окуня по этому показателю можно прогнозировать как достаточные.

Относительно фракции глобулинов, среди которых мы дифференцировали  $\alpha_1$ -,  $\alpha_2$ -,  $\beta$ - и  $\gamma$ -глобулины, то отклонение в их концентрации у различных видов рыб, выловленных в разных реках, также значительные. Так, в частности, содержание белка во фракции  $\alpha_1$ -глобулинов самое высокое у карпа из р. Серет, а у карася, окуня и щуки — из р. Стрипа. Концентрация  $\alpha_2$ -глобулинов также самая высокая у карпа, выловленного в р. Серет. Высокое содержание этой фракции белка обнаружено и у карася из этой же реки. Причем по содержанию  $\alpha_2$ -глобулинов карась превышает карпа на 33,5%, а окуня на 27,0%. И только щука по содержанию белка этой фракции почти равна карасю из р. Золотая Липа и даже превышает величину этого показателя у особей из р. Стрипа.

Относительно  $\beta$ -глобулинов, то самое высокое их содержание найдено у карпа из р. Стрипа. Вдвое меньше оно у особей этого вида, выловленных в р. Серет, и несколько выше (на 21,7%) у рыб из р. Золотая Липа. Подобная закономерность отмечена и у карася: самая высокая концентрация  $\beta$ -глобу-

линов обнаружена у рыб из р. Золотая Липа, вдвое меньше она у рыб из р. Серет и несколько возрастает у особей из р. Стрипа.

Несколько другая картина изменения  $\beta$ -глобулинов отмечена в сыворотке крови окуня. У рыб этого вида концентрация белка указанной фракции равна у особей из рек Стрипа и Золотая Липа, а у рыб из р. Серет она выше на 34,4%. У щуки отличия в содержании  $\beta$ -глобулинов из разных рек незначительные. Несколько большая величина данного показателя обнаружена у рыб из р. Золотая Липа, на 7,3% он был ниже у рыб из р. Стрипа и на 23,5% — у особей из р. Серет.

Высокое содержание  $\beta$ -глобулинов и значительные изменения их концентрации может быть связано с тем, что эти белки образуются из других белков сыворотки крови, что отмечают авторы [14]. Кроме этого, согласно литературным данным [3], в составе  $\beta$ -глобулинов содержится трансферин, белок, который связывает и транспортирует ионы железа. Возможно, высокая концентрация этого белка в сыворотке крови связана с разрушением красных кровяных телец, которое происходит под воздействием токсиантов водной среды [9].

Относительно  $\gamma$ -глобулинов, белков, с которыми, в основном, связывают защитные свойства организма, то их высокое содержание обнаружено у окуня, в частности у особей из р. Золотая Липа. У рыб этого вида из р. Серет оно ниже на 27,2%, а у рыб из р. Стрипа — на 31,8%. Относительно других видов исследованных рыб, то можно отметить, что самые низкие величины показателей содержания этой фракции отмечены у карпа и их отличия у рыб из разных рек незначительные. Подобные тенденции изменения исследуемых показателей наблюдаются и у карася и щуки. Вместе с тем, стоит отметить малую вариабельность показателя содержания  $\gamma$ -глобулинов в сравнении с другими белковыми фракциями сыворотки крови рыб, которая свидетельствует об их меньшей чувствительности к воздействию факторов, и, следовательно, подтверждает весомое участие этих белков в формировании адаптивного статуса к условиям обитания у исследованных видов рыб.

Глобулины плазмы крови принимают участие в транспортировке липидов, гормонов, витаминов и ионов металлов. Они образуют важные компоненты системы свертывания крови, а фракция  $\gamma$ -глобулинов содержит антитела иммунной системы [1]. На основании полученных данных относительно содержания  $\gamma$ -глобулинов у исследованных видов рыб из разных малых рек можно судить о защитных свойствах этих видов, а также их адаптивных возможностях в определенных условиях существования.

Наглядное диагностическое значение имеет определение изменения количественных соотношений между фракциями альбуминов и глобулинов, то есть белкового коэффициента крови. Следует отметить, что его значение у рыб значительно ниже, чем у теплокровных животных и человека, у которых оно составляет 1,2—2,0 [16]. Это объясняется особенностями белкового состава крови рыб как экзотермных организмов. Полученные данные свидетельствуют об изменении белкового коэффициента в сыворотке крови

всех исследованных видов рыб из трех малых рек Западного Подолья (см. табл. 1).

Самые высокие значения этого коэффициента обнаружены у карпа, выловленного в реках Серет и Золотая Липа, где они равны, а у рыб из р. Стрипа он ниже на 42%. Самое низкое значение белкового коэффициента обнаружено у карася из рек Стрипа и Золотая Липа, где они также равны; этот показатель возрастает на 33% у рыб из р. Серет.

Сходные с карасем изменения величин белкового коэффициента обнаружены и в сыворотке крови щуки. Этот показатель также практически равен у особей этого вида из рек Стрипа и Золотая Липа и на 33% выше у рыб, выловленных в р. Серет. У окуня высокое значение белкового коэффициента наблюдается у рыб из р. Стрипа, на 18,7% он ниже у особей из р. Золотая Липа и на 37,5% у рыб из р. Серет.

В целом, у рыб из рек Стрипа и Золотая Липа, в сравнении с рыбами из р. Серет, белковый коэффициент у карася и щуки существенно уменьшается, у окуня возрастает, а у карпа он малочувствительный к факторам среды обитания. Связав эти данные с транспортной функцией альбумина, можно утверждать, что при интоксикации организма рыб его функциональная активность и защитные свойства возрастают, что согласуется с ранее полученными данными в условиях интоксикации организма карпа ионами тяжелых металлов [12].

### Заключение

На основании изучения белкового состава сыворотки крови и белкового коэффициента крови исследованных видов рыб можно прогнозировать низкий адаптивный уровень у щуки и карася, высокую метаболическую активность белков сыворотки крови у окуня и выносливость белковой системы крови карпа.

Кровь рыб является достаточно чувствительной тканью организма, которая быстро реагирует на смену лимитирующих факторов водной среды. Поскольку адаптация рыб к условиям существования обеспечивается эволюционно сформированным на основе генетических видоизменений многообразием молекул и биохимических процессов, включительно с модификаций белков сыворотки крови и вариативности их метаболизма, то функциональная нагрузка, вызванная действием факторов среды, приводит к активации синтеза белков сыворотки крови, и, как следствие, к формированию четкого белкового статуса, который характеризуется видовыми особенностями и вариабельностью в конкретных условиях обитания рыб.

\*\*

*Наведено результати дослідження білкового складу сироватки крові найбільш поширених прісноводних риб Західного Поділля — коропа, карася, окуня та щуки. Вивчено міжвидові відмінності вмісту в сироватці крові альбумінів та  $\alpha$ -,  $\beta$ - і  $\gamma$ -глобулінів у досліджених видів риб. Виявлено певну різницю у співвідношенні білкових фракцій сироватки крові риб із різних річок. Розглянуто зміну фракційного складу білків сироватки крові досліджених видів риб як відповідь їхнього організму на*

дію факторів навколишнього середовища, що може бути використано в біомоніторингу водних екосистем.

\*\*

*The results of the blood serum protein composition of the most widely spread Western Podilya fish — carp, crucian carp, perch and pike are given. The interspecific differences of albumins,  $\alpha$ -,  $\beta$ - and  $\gamma$ -globulins content in the blood serum of the investigated species of fish are studied. A certain difference in the correlation of the protein fractions of blood serum in fish from different small rivers is found out. The change of the fractional composition of proteins of blood serum of the investigated species of fish as the feedback of fish organism under the influence of the environmental factors is considered. The abovementioned can be utilized in the process of biomonitoring of the water ecosystems.*

\*\*

1. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф. Биологическая химия. — М.: Медицина, 1982. — 70 с.
2. Коваль Е.З., Богданов Л.В. Сравнение электрофоретических спектров белков у разных видов дальневосточных камбал // Вопр. ихтиологии. — 1982. — Т. 22, № 4. — С. 679—685.
3. Кольман Я., Рём К-Г. Наглядная биохимия. — М.: Мир, 2000. — 470 с.
4. Комаров И.П., Комаров П.В., Денискин П.Г. К изучению белковых фракций сыворотки крови некоторых карповых рыб дельты Волги // Вопр. ихтиологии. — 1975. — Т. 15, № 2. — С. 377—380.
5. Кондратьева Т.П. Изменение содержания общего белка и фракционного состава белков сыворотки крови некоторых черноморских рыб в период нереста // Гидробиол. журн. — 1977. — Т. 13, № 4. — С. 75—79.
6. Кузьмина В.В. Электрофоретическое изучение белков сыворотки крови рыб при длительном голодании // Там же. — 1966. — Т. 2, № 4. — С. 74—77.
7. Лакин Г.Ф. Биометрия. — М.: Высш. шк., 1990. — 351 с.
8. Лукьяненко В.И., Попов А.В., Сегов С.И., Мишин Э.А. Белковый спектр сыворотки крови у различных возрастных групп белуги *Huso huso* // Изв. АН СССР. Сер биол. — 1971. — № 3. — С. 428—433.
9. Лукьяненко В.И., Хабаров М.В. Альбуминовая система сыворотки крови разных по экологии видов осетровых рыб. — Ярославль: ВВО РЭА, 2005. — 232 с.
10. Лукьяненко В.Н. Общая ихтиотоксиология. — М.: Лег. и пищ. пром-сть, 1983. — 320 с.
11. Метелев В.В., Канаев А.И., Дзасохова Н.Г. Водная токсикология. — М.: Колос, 1971. — 247 с.
12. Синюк Ю.В., Курант В.З., Грубинко В.В. Влияние тяжелых металлов на качественный и количественный состав белков сыворотки крови карпа // Гидробиол. журн. — 2003. — Т. 39, № 3. — С. 56—64.
13. Соколовський О., Кордубан В. Екологія Тернопілля в цифрах і фактах на межі тисячоліть // Міський екологічний бюлетень. — Тернопіль: Мальва-ОСО, 2001. — № 4. — 176 с.



14. Троицкий Г.В., Окулов В.И., Соркина Д.А. О возможности трансформации альбумина и  $\gamma$ -глобулина плазмы крови в  $\alpha$ - и  $\beta$ -глобулины // Биохимия. — 1961. — Т. 26, № 1. — С. 44—51.
15. Череп С.И. Транспортная функция сывороточного альбумина. — Бухарест: Изд-во Акад. соц. респ. Румынии, 1975. — 183 с.
16. Шульман Г. Е. Физиолого-биохимические особенности годовых циклов рыб. — М.: Пищ. пром-сть, 1972. — 368 с.
17. Шульман Г.Е., Куликова Н.И. О специфичности белкового состава сыворотки крови рыб // Успехи совр. биологии. — 1966. — Т. 62, вып. 4. — С. 42—46.
18. Lowry O.H., Rosebrough N.Z., Farr A.L., Randall R.C. Protein measurement with the Folin phenol reagent // J. Biol. Chem. — 1951. — Vol. 193, N 1. — P. 265—275.
19. Samali A., Cotter T.G. Heat shock proteins increase resistance to apoptosis // Exper. Cell Res. — 1996. — Vol. 223, N 1. — P. 163—170.
20. Sanders B.M., Martin L.S. Stress proteins as biomarkers of contaminant exposure in archived environmental samples // Sci. Total. Environ. — 1993. — Vol. 139/140. — P. 459—470.

<sup>1</sup> Тернопольський національний педагогічний університет

<sup>2</sup> Научно-практический центр «Феномен», Черновцы

Поступила 03.02.09