

УДК 597.556.331.1:574.64:577.15

НЕКОТОРЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ БИОХИМИЧЕСКОГО СТАТУСА ОКУНЕЙ *PERCA FLUVIALILIS* (L.) С РАЗНЫМ СОДЕРЖАНИЕМ РТУТИ В МЫШЦАХ

© 2025 г. Д. В. Гарина*, **, @, А. Ф. Тарлева*

*Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина Российской академии наук,
пос. Борок, д. 109, Ярославская обл., Некоузский р-н, 152742 Россия

**Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова,
ул. Советская, д.14, г. Ярославль, 150003 Россия

@E-mail: darina@ibiw.ru

Поступила в редакцию 02.02.2024 г.

После доработки 17.12.2024 г.

Принята к публикации 19.12.2024 г.

Исследованы биохимические показатели (общий холестерин, холестерин липопротеинов высокой и низкой плотности, триглицериды в сыворотке крови, концентрация общего водорастворимого белка в сыворотке крови и печени, активность пептидаз слизистой оболочки кишечника) окуня *Perca fluviatilis* (L.) из трех водоемов Вологодской и Ярославской областей России, с различным уровнем ртутного загрязнения. Показано, что у окуней с наибольшей концентрацией ртути в мышцах (0.60 мг/кг сырой массы, оз. Кубенское) уровень ХС ЛПВП и ХС ЛПНП, общего ХС достоверно выше по сравнению с таковыми рыб из р. Сунога и судоходного канала пос. Борок (0.38 и 0.012 мг ртути/кг сырой массы соответственно). Наименьшее количество водорастворимого белка в печени и наибольшее — в сыворотке крови, а также сравнительно низкая активность пептидаз слизистой оболочки кишечника также обнаружены у окуней из оз. Кубенское, концентрация ртути в мышцах которых была относительно высокой.

Ключевые слова: окунь *Perca fluviatilis* (L.), ртуть, холестерин, триацилглицериды, липопротеины, белок, кишечные пептидазы

DOI: 10.31857/S1026347025040045

Ртуть обладает высокой токсичностью и не является жизненно необходимым элементом для жизнедеятельности организмов (Driscoll *et al.*, 2013; Martinez-Finley, Aschner, 2014). Она обладает уникальными экогеохимическими и экотоксикологическими свойствами, которые обусловлены ее вездесущностью, разнообразием форм, высокой скоростью переноса в окружающей среде (Selin, 2009; UNEP, 2019). В водных экосистемах сульфатредуцирующие микроорганизмы в условиях повышенного содержания сульфатов и низких значений pH преобразовывают неорганическую ртуть в ее органическую форму — метилртуть (Gilmour *et al.*, 1992; Weber, 1993). Метилртуть, обладая высокой проникающей способностью, включается в трофические цепи водоема, накапливается в тканях гидробионтов. Максимальной концентрации метилртуть достигает в тканях животных высших трофических уровней: хищных рыб, рыбоядных птиц и млекопитающих (Scheuhammer *et al.*, 2007). На накопление ртути в организме

рыб влияет также возраст, размеры и масса тела, стадия зрелости гонад (Комов, Степанова, 2001; Комов и др., 2004).

Несмотря на то, что токсичность ртути для рыб исследована в меньшей степени, чем для млекопитающих (Комов и др., 2017), имеются сведения о том, что аккумуляция ртути в тканях рыб вызывает замедление их роста, эндокринные нарушения, снижение успешности нереста, подавление иммунитета и повреждение таких органов, как печень и почки (Klaper *et al.*, 2008; Morcillo *et al.*, 2017), сердечно-сосудистой системы (Monteiro *et al.*, 2013), нервной системы (Berntssen *et al.*, 2003), ухудшение вылупления, выживания и роста эмбрионов и личинок (Yu *et al.*, 2019). Воздействие метилртути на организм животных сильно специфично в каждом конкретном месте их обитания и зависит, в частности, от условий кормодобывания (Chételat *et al.*, 2020, биогеохимических особенностей образования и круговорота метилртути (Obrist *et al.*, 2018).

Одной из задач современной токсикологии является поиск биомаркеров, позволяющих диагностировать негативное воздействие токсикантов на ранних стадиях, до наступления выраженных клинических эффектов. Среди биохимических биомаркеров особое значение имеют биомаркеры крови (Rozas-Serri *et al.*, 2022). Концентрация отдельных фракций сывороточных белков, а также общего сывороточного белка является важным показателем белкового обмена как в норме, так и при воздействии токсикантов (Лукьяненко, Хабаров, 2005; Chernecky, Berger, 2008). Так, действие ртути на организм рыб проявляется в снижении концентрации общего сывороточного белка и альбуминов и увеличении концентрации α - и β -глобулинов (Дохолян и др., 1976; цит. по: Лукьяненко, 1983).

Наиболее активный синтез белков крови (альбуминов и глобулинов), а также структурных липидов происходит в печени. В эколого-токсикологических исследованиях в качестве биомаркеров часто используются липиды, поскольку их концентрация в органах и тканях рыб меняется уже на ранних этапах влияния различных факторов среды (Васильева и др., 2018). В частности, у окуней под воздействием ртути обнаружено повышение уровня триацилглицеринов в печени, увеличение содержания общих липидов в мышцах, изменение в соотношении некоторых фосфолипидов в тканях и органах, изменение концентрации отдельных жирных кислот в липидах мышц и некоторые другие (Богдан и др., 2002; Немова, 2005).

Имеются сведения о том, что ртуть оказывает ингибирующее действие на активность пищеварительных ферментов рыб (Sastry, Gupta, 1980; Gupta, Sastry, 1981; Голованова и др., 2002, 2012). Для окуней из природных водоемов центрального, южного и северо-западного регионов России наиболее детально выполнены исследования влияния соединений ртути, накопленных в тканях, на активность гликолитических ферментов, расщепляющих углеводы, и их кинетические характеристики (Голованова и др., 2012). Изучено влияние корма с повышенным содержанием ртути на активность протеиназ, расщепляющих белковую пищу, у некоторых гидробионтов, обитающих в водоемах средней полосы России, в условиях эксперимента (Голованова и др., 2002; Кузьмина и др., 2013). Однако в доступной нам литературе мы не нашли данных об активности кишечных протеиназ у окуня *Perca fluviatilis* (L.) — хищника, основу питания которого составляет белковая пища, и накапливающего ртуть в тканях в высоких концентрациях, — из природных водоемов с разным уровнем ртутного загрязнения.

Цель работы: изучить влияние ртути, накопленной в различной концентрации в мышечной ткани, на некоторые биохимические показатели (общий холестерин, холестерин липопротеинов высокой

и низкой плотности, триацилглицериды в сыворотке крови, содержание общего водорастворимого белка в сыворотке крови и печени, активность пептидаз слизистой оболочки кишечника) у окуней *Perca fluviatilis*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование выполнено на речном окуне *Perca fluviatilis* (L.), отловленном в трех водоемах: оз. Кубенское (Усть-Кубинский и Вологодский р-ны Вологодской области), в мае 2022 г.; р. Сунога и судоходный канал (пос. Борок Некоузского р-на Ярославской области), в июне 2022 г. и октябре 2022 г. соответственно. На озере Кубенское было отловлено 10 окуней со средней массой 270 ± 48.5 г, средней длиной 24.7 ± 1.5 см. На ручье Сунога отловлено 12 окуней со средней массой 44.8 ± 5.0 г, средней длиной 14.0 ± 0.6 см. На судоходном канале отловлено 13 особей, со средней массой 90.6 ± 5.7 г, средней длиной 16.7 ± 0.3 см. Общее количество особей — 35 (табл. 1).

Описание мест отлова окуней

Озеро Кубенское — одно из наиболее крупных на территории Вологодской области; находится на границе Вологодского и Усть-Кубинского районов. Озеро мелководное, средняя глубина составляет 2.5 м, максимальная — 4.5 м (Поляков, 2002). В последнее время растет загрязненность озера вследствие интенсивного судоходства, хозяйственных и бытовых сбросов, атмосферного переноса загрязняющих веществ из промышленных городов (Тропин, 2020). Окунь был отловлен в северной части озера в прибрежье, с двух точек отбора: $59^{\circ}49'12.1''$ с. ш. $39^{\circ}10'11.3''$ в. д.; $59^{\circ}49'57.0''$ с. ш. $39^{\circ}5'29.4''$ в. д. Содержание ртути в донных отложениях озера — в среднем 0.054 мг/кг сухой массы (Удоденко, неопубликованные данные).

Место отлова окуней второй выборки — ручей Сунога. Ручей Сунога является притоком 2-го порядка Рыбинского водохранилища; течет от деревни Малое и Большое Дьяконово и имеет длину, вместе с заливом, около 2 км; впадает в р. Шумаровка (Ресурсы..., 1966). Координаты точки отлова — $58^{\circ}02'31.1''$ с. ш. $38^{\circ}14'26.3''$ в. д. Концентрация соединений ртути в донных отложениях р. Сунога, по данным 2017 г., — 0.030 мг/кг сухой массы (Комов и др., 2017).

Место отлова третьей выборки окуней — судоходный канал пос. Борок, впадающий в Красный ручей Волжского плеса Рыбинского водохранилища. Координаты точки отлова — $58^{\circ}03'55.4''$ с. ш. $38^{\circ}15'16.8''$ в. д. Концентрация соединений ртути в донных отложениях судоходного канала,

Таблица 1. Биохимические параметры крови и печени окуней

Место отлова	n	m, г	L, см	C_{Hg} , мкг/г	АП, мкмоль/л	$C_{ОВБ} (СК)$, мг/мл	$C_{ОВБ} (П)$, мг/г	$C_{ХСЛПВП}$, ммоль/л	$C_{ХСЛПНП}$, ммоль/л	$C_{ОХС}$, ммоль/л	$C_{ТГ}$, ммоль/л	IA
оз. Кубенское	10	270 ± 48.5^a 110–618	24.7 ± 1.5^a 18–34	0.60 ± 0.05^a 0.34–0.88	5.4 ± 0.2^a 3.2–7.6	91 ± 3.9^a 76–112	146 ± 7.9^a 100–217	3.6 ± 0.4^a 1.7–5.6	1.4 ± 0.4^a 0.8–4.1	6.6 ± 0.5^a 4.2–9.3	4.9 ± 0.6^a 3.0–7.4	0.98 ± 0.25 0.21–2.77
р. Сунога	12	45 ± 5.0^b 17–72	14.0 ± 0.6^b 10–17	0.38 ± 0.04^b 0.17–0.62	7.7 ± 0.2^b 6.0–9.4	74 ± 2.7^b 64–95	202 ± 23.1^b 122–353	5.1 ± 0.2^b 3.5–6.5	3.6 ± 0.4^b 0.7–6.1	11.5 ± 1.0^b 5.9–7.9	4.5 ± 0.7^a 1.7–8.7	1.28 ± 0.18 0.64–2.81
Канал	13	91 ± 5.7^c 52–127	16.7 ± 0.3^b 15–19	0.12 ± 0.01^c 0.10–0.15	–	71 ± 2.8^b 48–83	162 ± 3.7^a 144–187	5.8 ± 0.34^b 4.0–7.3	1.6 ± 0.3^a 0.4–3.6	12.9 ± 0.7^b 7.1–16.3	9.9 ± 0.8^b 4.0–4.3	1.29 ± 0.14 0.28–2.06

Примечание. Над чертой приведены средние значения и их ошибки ($M \pm m$); разные надстрочные индексы указывают на статистически значимые различия между показателями в столбце (ANOVA, LSD-тест, $p < 0.05$); под чертой – пределы значений показателей. n – количество особей; m – масса; L – длина; C_{Hg} – концентрация ртути в мышцах; $C_{ОВБ} (СК)$ – концентрация общего водорастворимого белка в сыворотке крови; $C_{ОВБ} (П)$ – концентрация общего водорастворимого белка в печени; $C_{ХСЛПВП}$ – концентрация холестерина липопротеинов высокой плотности в сыворотке крови; $C_{ХСЛПНП}$ – концентрация холестерина липопротеинов низкой плотности в сыворотке крови; $C_{ОХС}$ – концентрация общего холестерина в сыворотке крови; $C_{ТГ}$ – концентрация триглицеридов в сыворотке крови; IA – индекс атерогенности.

по данным 2017 г. – 0.006 мг/кг сухой массы (Комов и др., 2017).

Содержание валовой ртути в пробах мышц рыб определяли методом пиролиза (Sholupov *et al.*, 2004) на базе лаборатории физиологии и токсикологии ИБВВ РАН на атомно-адсорбционном спектрометре РА915М с пиролитической приставкой ПИРО (Lumex, Санкт-Петербург). Образец мышечной ткани массой 50–70 мг на кварцевом дозаторе помещали в атомизатор приставки для термического разложения при температуре 580–600 °С. Выделившаяся из образца ртуть в потоке газа-носителя (воздуха) поступает в аналитическую кювету анализатора. Концентрация ртути рассчитывалась на основании результатов измерения атомного поглощения при резонансной длине волны 253.7 нм с помощью ПО "РАПИД". Предел обнаружения 0.002 мг/кг. Точность анализа определяли с помощью сертифицированного биологического материала DORM-4 и DOLT-5 (Институт химии окружающей среды, Канада). Отклонения от стандарта составили 5–8%.

Отбор проб и биохимические методы анализа

Рыбы были отловлены неводом (оз. Кубенское, судоходный канал) и на удочку (р. Сунога) и транспортированы в лабораторию в каннах с аэрируемой водой. Отбор проб (навески печени, мышц, целый пищеварительный тракт, сыворотка крови) производили через 1–2 ч после транспортировки. Перед началом отбора проб рыб измеряли, взвешивали, определяли пол, стадию зрелости половых продуктов (Сакун, Буцкая, 1968). Кровь отбирали после каудозектомии из хвостовых сосудов рыб, отстаивали в течение часа при комнатной температуре и затем в течение 3–4 ч – при 4 °С до образования сгустка. Отстоявшуюся сыворотку отбирали в пробирки, хранили до начала анализа при 4 °С. Пищеварительный тракт изымали целиком, взвешивали и замораживали при –18 °С. Иссекали печень и отбирали пробу массой навески от 80 до 180 мг, после чего также замораживали в пробирках Эппендорф при –18 °С. Кусочки белых мышц (1–2 г) вырезали с двух сторон туловища рыбы под спинным плавником, замораживали и хранили при –18 °С.

Концентрацию общего водорастворимого белка (ОВБ) в сыворотке крови, экстрактах печени определяли микробиуретовым методом (Itzhaki, Gill, 1964). Концентрацию общего холестерина (ОХС) и холестерина липопротеинов высокой (ХС ЛПВП) и низкой (ХС ЛПНП) плотности, триглицеридов (ТГ) в сыворотке крови определяли энзиматическим колориметрическим методом с использованием биохимических наборов ("Агат", г. Москва) по стандартному протоколу.

Для получения водорастворимой фракции белков печени навески тканей (80–150 мг)

гомогенизировали в экстрагирующем буфере: к пробе ткани прибавляли 400 мкл буфера и растирали тефлоновым пестиком в течение 1–2 мин. Состав экстрагирующего буфера: 0.05 М фосфатный буфер (pH 7.2–7.5), 0.3 М NaCl, 5 mM ЭДТА, 0.1% раствор тритона X-100. Центрифугировали гомогенаты на центрифуге с охлаждением при 10 000 об./мин в течение 1 ч, отбирали надосадочную жидкость (экстракт), которую использовали в дальнейшем для биохимического анализа.

Определение активности пептидаз

Для получения препаратов, содержащих исследуемые пептидазы, кишечник рыб помещали на ледяную баню, очищали от жира, разрезали вдоль, изымали содержимое и специальным скребком снимали слизистую оболочку среднего отдела кишечника. Затем отбирали требуемое количество материала для приготовления исходного гомогената. Пробы гомогенизировали в стеклянном гомогенизаторе с небольшим количеством раствора Рингера для холоднокровных животных (103 мМ NaCl, 1.9 мМ KCl, 0.45 мМ CaCl₂) при температуре –4 °С. Полученный гомогенат дополнительно разводили раствором Рингера до конечного разведения – 1 : 99.

Протеолитическую активность оценивали по увеличению концентрации тирозина методом Ансона (Anson, 1938) в некоторой модификации (Кузьмина, Егорова, 1988). В качестве субстрата использовали 1% раствор казеина (pH 7.4). В каждую пробирку приливали 0.5 мл гомогената и 0.5 мл субстрата. Инкубацию гомогената и субстрата осуществляли при температуре 20 °С в течение 30 мин при непрерывном перемешивании. Активность ферментов определяли в 4–5 повторностях, с учетом фона (количество тирозина в исходном гомогенате). Об уровне ферментативной активности протеиназ кишечника судили по приросту продуктов реакции за 1 мин инкубации субстрата и ферментативно активного препарата, с учетом фона, в расчете на 1 г сырой массы ткани, мкмоль/(г*мин). Интенсивность окрашивания определяли на фотокolorиметре (КФК-2) при красном светофильтре, $\lambda = 670$ нм.

Статистическая обработка данных

Статистическая обработка данных произведена с помощью программ Statistica 10, Statgrafics 16.1.17 и программы Excel (Microsoft Office 2010). Данные, представленные в таблице в виде средних и их ошибки, обработаны с помощью однофакторного дисперсионного анализа ANOVA и процедуры LSD-теста при $p = 0.05$. Для обработки полученных

данных, с учетом возможного влияния на результаты таких факторов, как тип водоема, стадия зрелости гонад, пол, были использованы регрессионный анализ и метод главных компонент (Principal Components).

Индекс атерогенности рассчитан по формуле:

$$IA = (C_{OXC} - C_{XCLPVP}) / C_{XCLPVP},$$

где IA – индекс атерогенности; C_{OXC} – концентрация общего холестерина; C_{XCLPVP} – концентрация холестерина липопротеинов высокой плотности.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ содержания ртути в мышцах окуней, отловленных в трех разных водоемах, показал четкую дифференциацию групп рыб по этому параметру. Так, средняя концентрация ртути в мышцах окуней из Кубенского озера в 1.6 раза выше, чем в мышцах окуней Суноги, и в 5 раз выше, чем в мышцах окуней судоходного канала: 0.60 ± 0.05 , 0.38 ± 0.04 и 0.12 ± 0.005 мг/кг ($F = 51.0$, $p < 0.05$). При этом наибольшие по размеру особи окуней были пойманы в оз. Кубенское, наименьшие – в р. Сунога (табл. 1). Число особей, содержащих ртуть в мышцах в концентрации 0.60 мг/кг сырой массы или выше (предельно допустимый уровень для хищных видов рыб, употребляемых человеком в пищу (Санитарные правила и нормы..., 1997)), составило в Кубенском озере 47%, в Суноге – 8%, в судоходном канале такие особи отсутствовали. Регрессионный анализ показал наличие статистически значимой средней по силе положительной связи между а) длиной рыб и концентрацией ртути в мышцах рыб: $r = 0.496$, $r^2 = 0.246$, $p < 0.05$; б) массой рыб и концентрацией ртути: $r = 0.523$, $r^2 = 0.274$, $p < 0.05$. У окуней Кубенского озера отрицательная корреляционная связь, близкая к статистически значимой, отмечена между содержанием ртути в мышцах и двумя показателями: концентрацией ХС ЛПВП ($r = -0.620$, $r^2 = -0.384$, $p = 0.05$) и общего ХС ($r = -0.615$, $r^2 = -0.378$, $p = 0.05$). Для всех других биохимических показателей связь с содержанием ртути в мышцах отсутствует. У окуней Суноги отмечена статистически значимая отрицательная связь между концентрацией общего белка в печени ($r = -0.671$, $r^2 = -0.451$, $p < 0.05$), а у окуней судоходного канала – общего белка сыворотки крови с содержанием ртути в мышечной ткани ($r = -0.412$, $r^2 = -0.170$, $p < 0.05$).

Однофакторный дисперсионный анализ показал статистически значимые отличия у окуней из разных водоемов по всем изучаемым биохимическим параметрам (за исключением расчетного показателя – индекса атерогенности). Концентрация

ОВБ в сыворотке крови окуней Кубенского озера была выше таковой у окуней Суноги и судоходного канала ($F = 10.6$, $p < 0.05$) (табл. 1). В то же время содержание ОВБ в печени рыб Кубенского озера было минимальным по сравнению с показателем у окуней из других водоемов ($F = 5.4$, $p < 0.05$). Содержание ОХС, ЛПВП и ЛПНП в сыворотке крови — наименьшее у рыб из Кубенского озера среди трех изученных групп; у окуней двух других групп данные показатели варьируют, характер их изменения не столь однозначен. Концентрация ТГ в сыворотке крови рыб из судоходного канала в 2 раза выше, чем у рыб из двух других водоемов, значения показателя у которых близки ($F = 17.7$, $p < 0.05$). Наконец, у окуней Кубенского озера уровень активности пептидаз кишечника на 30% ниже, чем у окуней из р. Сунога ($F = 29.4$, $p < 0.05$) (табл. 1).

Статистическая обработка полученных данных методом главных компонент позволила предположить, какие факторы, кроме концентрации накопленной ртути в тканях, вероятнее всего оказывали влияние на изученные биохимические показатели (табл. 2). Редукция данных с использованием критерия “каменистой осыпи” выявила 4 наиболее значимых компоненты (рис. 1).

Уравнение первой главной компоненты, определяющей основную часть изменчивости, имеет вид: $0.41112 \cdot \text{Тип водоема} - 0.353987 \cdot \text{Конц. Нг} - 0.349794 \cdot \text{Длина} - 0.3254 \cdot \text{Масса} - 0.00932807 \cdot \text{Пол} - 0.259622 \cdot \text{Гонады} + 0.173569 \cdot \text{Конц. белка (печень)} - 0.31204 \cdot \text{Конц. белка (сыворотка)} + 0.227695 \cdot \text{Конц. ТГ} + 0.276497 \cdot \text{Конц. ХС ЛПВП} + 0.089709 \cdot \text{Конц. ХС ЛПНП} + 0.362855 \cdot \text{Конц. общего ХС} + 0.120163 \cdot \text{Индекс атерогенности}$.

Первая главная компонента изменчивости положительно связана с типом водоема (0.411), мы предполагаем, что преимущественно с его кормовой базой. При этом первая компонента

отрицательно коррелирует с концентрацией ртути в мышцах (-0.354), а также с длиной (-0.350) и массой (-0.325) рыб. Это, по нашему мнению, отражает тот факт, что в озере Кубенское (значительно отличающемся от водоемов Ярославской области и выделяющемся как бы в отдельный кластер) были отловлены самые крупные особи с наибольшим содержанием ртути в мышцах. Второй по величине (по сравнению с другими параметрами липидного обмена) вклад в “изменчивость” особей, иллюстрируемую первой главной компонентой, вносит концентрация общего холестерина (0.363). Далее находятся по значимости вклад признаков “концентрация ХС ЛПВП” (0.276), “концентрация триглицеридов” (0.228) и затем — “концентрация белка в печени” (0.174). Такие признаки, как “концентрация ХС ЛПНП” и “индекс атерогенности”, вносят наименьший вклад в первую компоненту изменчивости.

Кроме уже упомянутых вкладов признаков, отрицательно коррелирующих с первым фактором (компонентой), стоит отметить вклад признаков “концентрация общего белка в сыворотке крови” (-0.312) и “стадия зрелости гонад” (-0.260). Пол не вносит сколько-нибудь значимого вклада в изменчивость, описываемую первой главной компонентой (-0.009). Графически эти закономерности представлены на рис. 2.

Таким образом, результаты регрессионного анализа и анализа данных методом главных компонент согласуются с предположением, что наиболее высокая концентрация ртути в мышцах окуней из Кубенского озера связана с их наибольшими размерами по сравнению с окунями из других изученных нами водоемов, а также с бедной кормовой базой озера, и это находит подтверждение при изучении данных литературы (Степанова, Комов, 2004; Гремячих, Комов, 2015; Тропин и др., 2019).

Таблица 2. Факторные нагрузки признаков, выявленные методом главных компонент

	Компонента 1	Компонента 2	Компонента 3	Компонента 4
Тип водоема	0.41112	-0.0238127	-0.232603	-0.116282
Концентрация ртути в мышцах	-0.353987	-0.0471461	0.154826	0.326831
Длина рыбы	-0.349794	0.193011	-0.352324	-0.034226
Масса рыбы	-0.3254	0.255699	-0.361117	0.0973131
Пол	-0.00932807	0.139681	0.366098	-0.594683
Гонады	-0.259622	0.290672	0.0575218	-0.454982
Концентрация белка в печени	0.173569	0.355644	0.388509	-0.0751624
Концентрация белка в сыворотке крови	-0.31204	0.0948852	-0.091853	-0.00190805
Концентрация триглицеридов	0.227695	0.208701	-0.463565	-0.24649
Концентрация ХС ЛПВП	0.276497	-0.218145	-0.113715	0.0723871
Концентрация ХС ЛПНП	0.089709	0.409323	0.335404	0.441013
Концентрация общего ХС	0.362855	0.264215	-0.130202	0.138603
Индекс атерогенности	0.120163	0.571481	-0.115768	0.151688

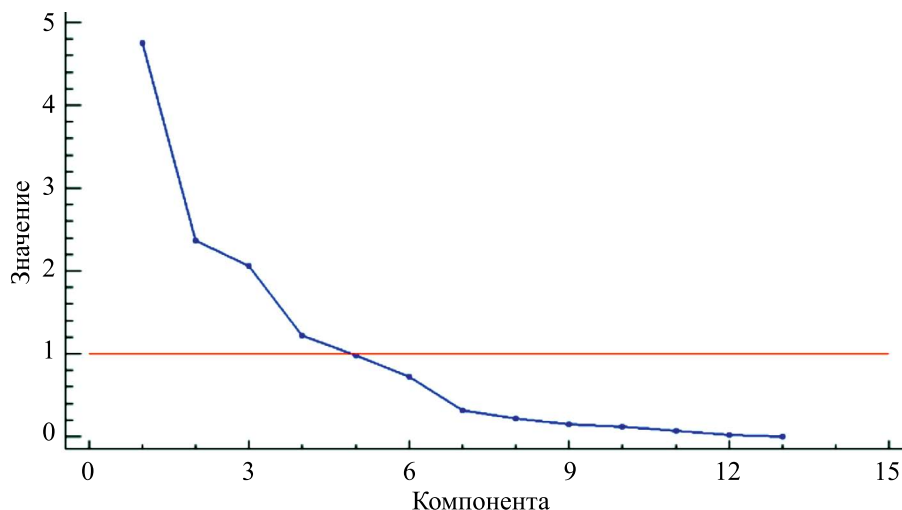


Рис. 1. Определение количества главных компонент с помощью критерия “каменистой осыпи”.

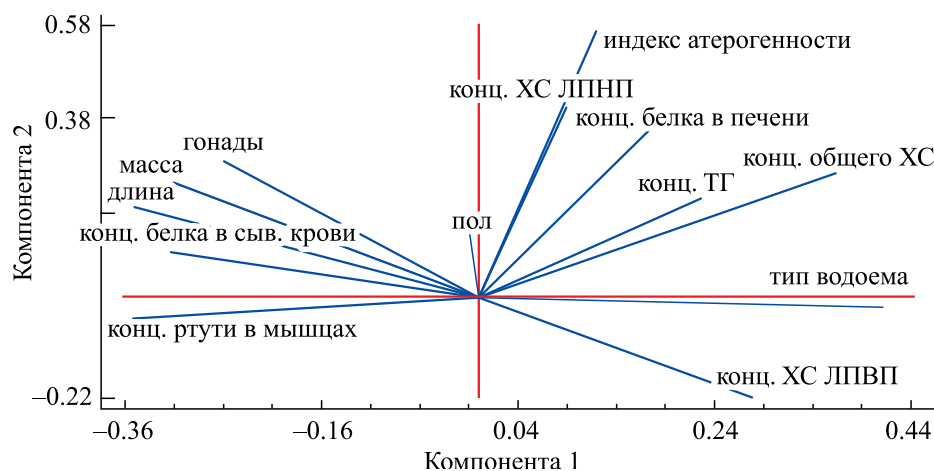


Рис. 2. Графическое изображение вклада различных “признаков” в первую и вторую главную компоненту изменчивости окуней.

В частности, озеро Кубенское, по некоторым сведениям, имеет менее богатый по видовому составу и биомассе состав бентоса и планктона по сравнению с заливами и притоками Рыбинского водохранилища (Гремячих, Комов, 2015). На это также косвенно указывают наименьшие по сравнению с таковыми у окуней из других водоемов концентрации ХС ЛПВП, ХС ЛПНП и общего ХС в сыворотке крови у окуней из оз. Кубенское, а также содержание ОВБ в печени.

Ранее в хроническом эксперименте, — кормление серебряных карасей в течение трех месяцев кормом, содержащим ртуть в двух различных концентрациях, — было показано, что концентрация ртути, накопленной в тканях, положительно коррелирует с концентрацией ОХС, ХС ЛПВП и ОВБ в сыворотке крови рыб (Гарина, 2023).

Гиперхолестеринемия при интоксикации ртутью показана у крыс, при этом также увеличивалась концентрация холестерина ЛПНП в сыворотке крови, но не изменялся синтез холестерина в печени (Moreira *et al.*, 2012). Данные о влиянии ртути на метаболизм холестерина у рыб в доступной нам литературе отсутствуют. Очевидно, имеются отличия в эффектах ртути на липидный обмен у высших и низших позвоночных (в частности, в настоящем исследовании показан значительный вклад в первую главную компоненту изменчивости особей ХС ЛПВП, а не ЛПНП), однако в целом нарушение липидного гомеостаза у последних несомненно. При этом необходимо учесть трудность в интерпретации данных биохимического анализа материала, полученного не в условиях эксперимента с контролируемыми

условиями, а у рыб, выловленных из водоемов, значительно отличающихся по ряду параметров, в том числе кормовой базе. Вероятно, именно этим (поступлением экзогенного холестерина с кормом) можно объяснить отличия результатов настоящего исследования (уменьшение концентрации ОХС, ХС ЛПВП, ХС ЛПНП при возрастании концентрации ртути в тканях) от результатов эксперимента, где наблюдалась отчетливо выраженная гиперхолестеринемия и увеличение уровня ХС ЛПВП под воздействием ртути.

Также показано, что у особей с концентрацией ртути в мышечной ткани 0.60 мг/кг сырой массы и выше наблюдается наименьшая концентрация ОВБ в печени и наибольшая — в сыворотке крови. Увеличение концентрации белка в сыворотке крови обусловлено, вероятно, дегидратацией сыворотки вследствие перераспределения белка между тканями и кровью и выхода жидкости из сосудистого пространства в ткани (Гарина, 2023). Кроме того, причиной наблюдаемых изменений может быть возрастание уровня иммуноглобулинов в крови рыб в результате активации иммунной системы. В частности, показано, что у млекопитающих ртуть в низких и не-нейротоксических концентрациях может способствовать развитию аутоиммунных заболеваний, сопровождающихся увеличением титра аутоантител в крови (Caruso *et al.*, 2017). При этом синтез белка в печени рыб угнетен, и это согласуется с данными литературы: известно, что двухвалентная ртуть обладает средством к нуклеиновым кислотам, включаясь в структуру ее молекулы, негативно влияет на синтез ДНК. Снижение количества ДНК и РНК в клетке приводит к подавлению синтеза белка (Кузубова, 2000).

Результаты настоящей работы свидетельствуют об ингибирующем действии ртути на активность пептидаз слизистой оболочки кишечника окуней при ее накоплении в мышечной ткани до концентрации 0.60 мг/кг (оз. Кубенское). Ранее были получены сведения о разнонаправленном влиянии накопления ртути на активность амилаз, некоторых карбогидраз, протеиназ и гликозидаз у окуней из водоемов с нейтральными и кислыми значениями pH (Голованова и др., 2002).

На основании результатов компонентного анализа (вклад в первую главную компоненту изменчивости признака “стадия зрелости гонад”) можно предположить существенное влияние нагульного и репродуктивного периодов на биохимические показатели состояния окуней, в то время как пол особей не оказывает существенного влияния. Дальнейшие, более детальные исследования позволят получить новую информацию об особенностях биохимической индикации состояния рыб, обитающих в водоемах с различным загрязнением ртутью.

ВЫВОДЫ

1. Наибольшая концентрация ртути в мышцах (в среднем 0.60 мг/кг сырой массы) обнаружена у окуней из оз. Кубенское; в мышцах окуней из р. Сунога и судоходного канала пос. Борок содержится 0.38 и 0.12 мг/кг ртути соответственно. Показано наличие статистически значимой средней по силе положительной связи между массой и длиной рыб и концентрацией ртути в мышцах рыб.

2. Выявлены статистически значимые различия по всем изученным биохимическим параметрам у окуней трех групп (за исключением расчетного показателя — индекса атерогенности). У окуней с максимальным уровнем накопления ртути в мышцах обнаружено статистически значимое снижение уровня ХС ЛПВП, ХС ЛПНП и общего ХС, наименьшее количество ОВБ в печени и наибольшее — в сыворотке крови, по сравнению с рыбами из других изученных водоемов. Активность пептидаз слизистой оболочки кишечника у окуней из Кубенского озера на 30% ниже, чем у окуней из реки Суноги.

3. В целом результаты исследования свидетельствуют о негативном влиянии аккумуляции ртути (в концентрации 0.60 мг/кг и выше) в мышечной ткани окуней из оз. Кубенское на содержание ХС ЛПВП, ХС ЛПНП, общего ХС, ОВБ, активность кишечных пептидаз, что согласуется с имеющимися в литературе данными о биохимическом статусе окуней из некоторых других водоемов северо-запада России, накопление ртути в мышечной ткани которых превышает предельно-допустимые концентрации. Показано, что, помимо воздействия накопленной в мышечной ткани ртути, на исследуемые биохимические показатели у окуней оказывает значительное влияние тип водоема, в несколько меньшей степени — длина, масса тела и стадия зрелости гонад. Исследуемые биохимические показатели могут быть использованы в качестве дополнительных индикаторов воздействия ртути на состояние рыбного населения.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают глубокую благодарность коллегам за помощь в сборе и обработке материала: сотрудникам ВологодНИРО — М.Я. Борисову, И.В. Филоненко, Н.Ю. Тропину, Е.С. Попете, сотрудникам ИБВВ РАН — Ю.Г. Удоенко, Е.В. Щедровой, А.С. Васильеву.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Исследование выполнено в рамках госзадания, тема №124032500015-7.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Работа выполнена с соблюдением всех применимых международных, национальных и институциональных принципов ухода и использования животных (протокол № 2 от 19.01.2021 Комиссии по биоэтике Института биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Богдан В.В., Немова Н.Н., Руоколайнен Т.Р. Влияние ртути на состав липидов печени и мышц окуня *Perca fluviatilis* // Вопросы ихтиологии. 2002. Т. 42. № 2. С. 259–263.
- Васильева О.Б., Назарова М.А., Нльмаст Н.В., Немова Н.Н. Липиды тканей рыб из акваторий Онежского озера с разной степенью антропогенного загрязнения // Труды Карельского научного центра Российской академии наук. 2018. № 6. С. 95–102.
- Гарина Д.В. Влияние хронического поступления малых доз ртути на некоторые биохимические показатели липидного и белкового обмена у серебряного карася *Carassius auratus* (L., 1758) // Трансформация экосистем. 2023. № 6 (3). С. 86–104. <https://doi.org/10.23859/estr-220505>
- Голованова И.Л., Комов В.Т., Кузьмина В.В. Влияние повышенного содержания ртути в корме на активность карбогидраз и протеиназ у различных гидробионтов // Биология внутренних вод. 2002. № 1. С. 85–89.
- Голованова И.Л., Пенькова Г.А., Гремячих В.А., Комов В.Т. Влияние ртути на активность гликозидаз в кишечнике окуня *Perca fluviatilis* L. из водоемов европейской России с разным рН воды // Биология внутренних вод. 2012. № 1. С. 94–99.
- Гремячих В.А., Комов В.Т. Содержание ртути в мышцах речного окуня из некоторых крупных озер России // Ртуть в биосфере: эколого-геохимические аспекты. Сб. трудов Второго междунар. симпозиума (Новосибирск, 21–25 сентября 2015 г.). Новосибирск: ИНХ СО РАН, 2015. С. 113–117.
- Дохолян В.К., Шлейфер Г.С., Ахмедова Т.П. В кн.: Экологическая физиология рыб. Киев, 1976, ч. 1. С. 69–70.
- Комов В.Т., Гремячих В.А., Удоденко Ю.Г. и др. Ртуть в абиотических и биотических компонентах водных и наземных экосистем поселка городского типа на берегу Рыбинского водохранилища // Труды Института биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН. 2017. № 77(80). С. 34–56.
- Комов В.Т., Степанова И.К., Гремячих В.А. Содержание ртути в мышцах рыб из водоемов Северо-Запада России: Причины интенсивного накопления и оценка негативного эффекта на состояние здоровья людей // Актуальные проблемы водной токсикологии. Борок: ИБВВ РАН, 2004. С. 99–123.
- Комов В.Т., Степанова И.К. Ртутное загрязнение // Экологические проблемы Верхней Волги: Коллективная монография. Ярославль: Изд-во ЯГТУ, 2001. С. 239–243.
- Кузубова Л.И., Шуваева О.В., Аношин Г.Н. Метилртуть в окружающей среде: (Распространение, образование в природе, методы определения): Аналит. обзор / ГПНТБ СО РАН. Институт неорганической химии. Аналитический центр Объединенного института геологии, географии и минералогии СО РАН. (Экология. Вып. 59). Новосибирск, 2000. 82 с.
- Кузьмина В.В., Егорова С.Д. Морфо-физиологическая характеристика щуки и леща на ранних этапах онтогенеза (размерно-весовой рост, содержание белка и активность протеаз) // Деп. ВИНТИ 14.01.1988. № 319-B88. 44 с.
- Кузьмина В.В., Комов В.Т., Гремячих В.Т., Русанова П.В. Активность пищеварительных гидролаз карпа *Cyprinus carpio* L. при различном содержании ртути в корме // Вопр. ихтиол. 2013. Т. 53. № 3. С. 358–366.
- Лукьяненко В.И. Общая ихтиотоксикология. М.: Легкая и пищевая промышленность, 1983. 320 с.
- Лукьяненко В.И., Хабаров М.В. Альбуминовая система сыворотки крови разных по экологии видов осетровых рыб. Ярославль: Издание ВВО РЭА, 2005. 232 с.
- Немова Н.Н., Высоцкая Р.У. Биохимическая индикация состояния рыб. М.: Наука, 2005. 216 с.
- Поляков М.М. Проблемы управления водопользованием. Вологда: ВНКЦ ЦЭМИ РАН, 2002. 236 с.
- Ресурсы поверхностных вод СССР: Гидрологическая изученность. Том 10. Верхне-Волжский район / под ред. Шабан В.П. Л.: Гидрометеиздат, 1966. 528 с.
- Сакун О.Ф., Буцкая Н.А. Определение стадий зрелости и изучения половых циклов рыб / Гос. ком. по рыбному хозяйству при СНХ СССР, Главрыбвод, Центр. лаборатория по воспроизводству рыбных запасов. М.: Рыбное хозяйство, 1968. 36 с.
- Санитарные правила и нормы. “Продовольственное сырье и пищевые продукты. Гигиенические требования к качеству и безопасности продовольственного сырья и пищевых продуктов”. СанПиН 2.3.2.560-96. М.: Госкомэпиднадзор России, 1997. 269 с.
- Степанова И.К., Комов В.Т. Роль трофической структуры экосистемы водоемов Северо-запада России в накоплении ртути в рыбе // Гидробиологический журнал. 2004. Т. 40. № 2. с. 87–96.
- Тропин Н.Ю. Эколого-биологические особенности и промысловое значение речного окуня (*Perca fluviatilis* L., 1758) в крупных рыбохозяйственных водоемах

- Вологодской области: дис. ... канд. биол. наук / Тропин Николай Юрьевич. Томск, 2020. 261 с.
- Тропин М.Ю., Борисов М.Я., Угрюмова Н.Е. и др. Содержание ртути в мышечной ткани речного окуня *Perca fluviatilis* (L.) крупных водоемов Вологодской области // Токсикологический вестник. 2019. № 2 (155). С. 53–58.
- Anson M. The estimation of pepsin, trypsin, papain and cathepsin with hemoglobin // J. Gen. Physiol. 1938. V. 22. P. 79–83.
- Berntssen M.H.G., Aatland A., Handy R.D. Chronic dietary mercury exposure causes oxidative stress, brain lesions, and altered behaviour in Atlantic salmon (*Salmo salar*) parr // Aquatic Toxicology. 2003. V. 65. P. 55–72. [https://doi.org/10.1016/s0166-445x\(03\)00104-8](https://doi.org/10.1016/s0166-445x(03)00104-8)
- Caruso J.A., Carruthers N., Shin N. et al. Mercury alters endogenous phosphorylation profiles of SYK in murine B cells // BMC Immunol. 2017. 18:37 <https://doi.org/10.1186/s12865-017-0221-0>
- Chételat J., Ackerman J.T., Eagles-Smith C. A., Herbert C.E. Methylmercury exposure in wildlife: A review of the ecological and physiological processes affecting contaminant concentrations and their interpretation // Science of The Total Environment. 2020. V. 711, 135117. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135117>
- Chernecky C.C., Berger B.J. (eds.). Laboratory tests and diagnostic procedures. 5th ed. Saunder Elsevier. 2008. 1215 p.
- Driscoll C.T., Mason R.P., Chan H.M. et al. Mercury as a Global Pollutant: Sources, Path-ways, and Effects // Environ. Sci. Technol. 2013. V. 47. P. 4967–4983. <https://doi.org/10.1021/es305071v>
- Gilmour C.C., Henry E.A., Mitchell R. Sulfate stimulation of mercury methylation in freshwater sediments // Environmental Science and Technology. 1992. V. 26. P. 2281–2287. <https://doi.org/10.1021/es00035a029>
- Gupta P.K., Sastry K.V. Effect of mercuric chloride on enzyme activities in the digestive system and chemical composition of liver and muscles of the catfish, *Heteropneustes fossilis* // Ecol. Toxicol. Environ. Safety. 1981. V. 5. P. 389–400.
- Itzhaki R.F., Gill D.M. A microbiuret method for estimating proteins // Analytical Biochemistry. 1964. № 9. P. 401–410.
- Klaper R., Carter B.J., Richter C.A. et al. Use of a 15 k gene microarray to determine gene expression changes in response to acute and chronic methylmercury exposure in the fathead minnow *Pimephales promelas* Rafinesque // Journal of Fish Biology. 2008. V. 72 (9). P. 2207–2280. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2008.01899.x>
- Martinez-Finley E.J., Aschner M. Recent advances in mercury research // Curr. Environ. Health Rep. 2014. V. 1 (2). P. 163–171. <https://doi.org/10.1007/s40572-014-0014-z>
- Monteiro D.A., Thomaz J.M., Rantin F.T. et al. Cardiorespiratory responses to graded hypoxia in the neotropical fish matrinxã (*Brycon amazonicus*) and traíra (*Hoplias malabaricus*) after waterborne or trophic exposure to inorganic mercury // Aquatic Toxicology. 2013. V. 140–141. P. 346–355. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2013.06.011>
- Morcillo P., Esteban M.A., Cuesta A. Mercury and its toxic effects on fish // Environmental Science. 2017. V. 4 (3). P. 386–402. <https://doi.org/10.3934/environsci.2017.3.386>
- Moreira E.L., de Oliveira J., Dutra M.F. et al. Does methylmercury-induced hypercholesterolemia play a causal role in its neurotoxicity and cardiovascular disease? Toxicol. Sci. 2012. V. 130 (2). P. 373–382. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfs252>
- Obriest D., Kirk J.L., Zhang L., Sunderland E.M., Jiskra M., Selin N.E. A review of global environmental mercury processes in response to human and natural perturbations: Changes of emissions, climate, and land use. Ambio. 2018. V. 47. P. 116–140. <https://doi.org/10.1007/s13280-017-1004-9>
- Rozas-Serry M., Correa R., Walker-Vergara R. et al. Reference intervals for blood biomarkers in farmed Atlantic salmon, coho salmon and rainbow trout in Chile: promoting a preventive approach in aquamedicine // Biology. 2022. 11:1066. <https://doi.org/10.3390/biology11071066>
- Sastry K.V., Gupta P.K. Changes in the activity of some digestive enzymes of *Channa punctatus* exposed chronically to mercuric chloride // J. Environ. Sci. Health. 1980. V. 15. № 1. P. 109–119.
- Selin N.E. Global biogeochemical cycling of mercury: a review // Annual Review of Environment and Resources. 2009. V. 34. P. 43–63.
- Scheuhammer A.M., Meyer M.W., Sandheinrich M.B. et al. Effect of environmental methylmercury on the health of wild birds, mammals and fish // AMBIO. 2007. V. 36. P. 12–18. [https://doi.org/10.1579/0044-7447\(2007\)36\[12:EOEMOT\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1579/0044-7447(2007)36[12:EOEMOT]2.0.CO;2)
- Sholupov S., Pogarev S., Ryzhov V., Mashyanov N., Stroganov A. Zeeman atomic absorption spectrometer RA-915+ for direct determination of mercury in air and complex matrix samples // Fuel Processing Technology. 2004. V. 85. P. 473–485. <https://doi.org/10.1016/j.fuproc.2003.11.003>
- UN-Environment, 2019. Global Mercury Assessment 2018. UN-Environment Programme, Chemicals and Health Branch, Geneva, Switzerland. 59 pp.
- Weber H.J. Reviews of possible paths for abiotic methylation of mercury (II) in the aquatic environment // Chemosphere. 1993. V. 26. P. 2063–2077. [https://doi.org/10.1016/0045-6535\(93\)90032-Z](https://doi.org/10.1016/0045-6535(93)90032-Z)
- Yu X., Wu F., Xu X. et al. Effects of short term methylmercury exposure on growth and development of the large yellow croaker embryos and larvae // Frontiers in Marine Science. 2019. 6:754. <https://doi.org/10.3389/fmars.2019.00754>

**Some indicators of biochemical status of perch *Perca fluviatilis* (L.)
with different mercury content in muscles**

D. V. Garina^{1, 2, #}, A. F. Tarleva¹

¹*Papanin Institute for Biology of Inland Waters Russian Academy of Sciences,
Nekouz, Yaroslavskaya oblast, Borok, 109, 152742 Russia*

²*P.G. Demidov Yaroslavl State University, Sovetskaya Str., 14, Yaroslavl, 150003 Russia*

[#]*e-mail: darina@ibiw.ru*

Some biochemical parameters (total cholesterol, high- and low-density lipoprotein cholesterol, serum triglycerides, total water-soluble protein concentration in blood serum and liver, intestinal mucosa peptidase activity) of the perch *Perca fluviatilis* (L.) from three reservoirs of the Vologda and Yaroslavl regions of Russia with different levels of mercury pollution were studied. It was shown that in perches with the highest mercury concentration in muscles (0.60 mg/kg wet weight, Lake Kubenskoye), the level of HDL-C, LDL-C, and total cholesterol was significantly higher compared to those in fish from the Sunoga River and the shipping channel of the settlement of Borok (0.38 and 0.012 mg mercury/kg wet weight, respectively). The lowest amount of water-soluble protein in the liver and the highest in the blood serum, as well as a comparatively low activity of intestinal mucosa peptidases were also found in perches from Lake Kubenskoye, the concentration of mercury in the muscles of which was relatively high.

Keywords: perch *Perca fluviatilis* (L.), mercury, cholesterol, triacylglycerides, lipoproteins, protein, intestinal peptidases