

## ВЛИЯНИЕ ПОЛИХЛОРИРОВАННЫХ БИФЕНИЛОВ, ПОТРЕБЛЯЕМЫХ С КОРМОМ, НА ПОКАЗАТЕЛИ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОГО СТАТУСА ЛЕЩА *ABRAMIS BRAMA*

© 2016 г. Т.Б. Лапирова

*Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН,  
пос. Борок, Ярославская обл., 152742  
E-mail: ltb@ibiw.yaroslavl.ru*

Поступила в редакцию 30.09.2015 г.

Приводятся результаты экспериментального исследования по влиянию корма, содержащего полихлорированные бифенилы в дозе, сопоставимой с концентрацией в естественных пищевых объектах, на ряд показателей физиологического статуса леща из Рыбинского водохранилища. Через 14 сут. с начала воздействия выявлены изменения параметров крови: падение уровней общего белка и гемоглобина и рост содержания циркулирующих иммунных комплексов и глюкозы, что свидетельствует о снижении общей резистентности и адаптационного потенциала рыб. Динамика содержания иммунных комплексов в тканях позволяет предположить, что поступающий в организм ксенобиотик подвергается биотрансформации, а образующиеся в результате этого процесса продукты перерабатываются и элиминируются в разных иммунокомпетентных органах. *Ключевые слова:* лещ *Abramis brama*, полихлорированные бифенилы, кровь, общий белок, глюкоза, гемоглобин, иммунные комплексы.

### ВВЕДЕНИЕ

Полихлорированные бифенилы (ПХБ) — это многокомпонентная смесь хлорированных бифенилов, которые отличаются друг от друга количеством атомов хлора и их расположением в ароматических ядрах. Эти соединения входят в группу стойких органических загрязнителей (СОЗ) — искусственно синтезированных химических веществ, обладающих высокой токсичностью для биологических систем даже в минимальных количествах (Моисеенко, 2009). Арохлор является названием наиболее широко распространенных смесей ПХБ. Химический состав этой серии обозначается четырехзначным кодом, в котором первые две цифры (12) относятся к числу атомов углерода фенильных колец, а последующие две указывают процент содержания хлора по массе.

ПХБ долгое время активно применялись в качестве пластификаторов в пласти-

ческих массах, лаках, типографских красках, при производстве изоляционных материалов, пестицидов, товаров бытовой химии и др. (Федоров, 1993). Они очень слабо растворяются в воде, но хорошо — в органических растворителях, термостабильны, имеют высокую точку кипения, медленно разлагаются в естественных условиях, особенно устойчивы высокохлорированные соединения (Коломиец, 1991).

Вследствие устойчивости к разложению и выявленной высокой токсичности ПХБ для живых организмов в 2001 г. была принята Стокгольмская конвенция о стойких органических загрязнителях, предусматривающая сокращение или устранение выбросов в результате преднамеренного производства и использования СОЗ, а также сокращение или ликвидацию выбросов в результате их непреднамеренного производства. Российская Федерация подписала Стокгольмскую конвенцию в 2002 г, тем не менее загрязне-

ние окружающей среды этими соединениями не только не сокращается, но и продолжает расти. По некоторым оценкам, третья часть произведенных ПХБ уже распространена в окружающей среде по всему миру (Горбунова и др., 2011).

Наряду с хлорорганическими пестицидами ПХБ являются наиболее распространенными продуктами, загрязняющими воду в природных водоемах. Главным источником их поступления являются промышленные сбросы, в основном жидкие промышленные отходы. Также они могут поступать в окружающую среду вместе с пестицидами, содержащими ПХБ в качестве наполнителей (Моисеенко, 2009). Попадая в водоем, они сорбируются на взвешенных частицах и с ними оседают на дно. За счет способности переноситься на большие расстояния их распространенность в настоящее время, действительно, достигает глобального масштаба (Бенч, 2004).

Влияние указанных соединений на гидробионтов в последние десятилетия достаточно активно изучается. Показано, что по своему действию ПХБ близки к хлорорганическим соединениям (ХОС) (Васильков и др., 1989), при этом их токсичность зависит от состава, степени хлорирования и т.д. ПХБ способны накапливаться в иловых отложениях водоемов; обладая высокой степенью материальной кумуляции, они передаются по трофической цепи, вершиной которой в водоемах являются рыбы. В организм рыб ПХБ могут поступать осмотически через жабры, но основная их часть потребляется с кормом. Известно, что они накапливаются в первую очередь в жировой ткани, печени и головном мозгу, меньше — во внутренних органах (Васильков и др., 1989; Федоров, 1993; Rääkkönen et al., 2005). При этом проблемы влияния этих ксенобиотиков на здоровье рыб, процессы трансформации и детоксикации их в организме до сих пор остаются слабоизученными.

Цель настоящей работы — изучение влияния ПХБ, поступающих с кормом, на основные физиологические показатели леща в лабораторном эксперименте. В задачи ис-

следования входил анализ гематологических параметров — гемоглобина, общего белка и глюкозы сыворотки крови, а также содержания иммунных комплексов в крови и тканях иммунокомпетентных органов.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Работу проводили на особях леща *Abramis brama* в возрасте 2 лет, длина и вес которых составили соответственно  $170,6 \pm 21,0$  мм и  $68,9 \pm 22,3$  г. Рыбу отлавливали в Волжском плесе Рыбинского водохранилища, на участке, не подверженном антропогенному воздействию. Акклимация проходила в течение 3 недель в проточных аэрируемых рыбоводных бассейнах при температуре воды около  $10^{\circ}\text{C}$ . Кормили рыб один раз в день.

Рыбам опытной группы в корм добавляли коммерческий препарат Aroclor 1254 («Monsanto Company», США) из расчета 2 мг/кг. Для этого его растворяли в 96%-ном этаноле и смешивали с кормом, после чего корм высушивали в вытяжном шкафу до полного испарения этанола. При выборе дозы исходили из уровня ПХБ в естественных водоемах: примерно такое содержание ксенобиотика было выявлено в бентосных организмах, являющихся кормовыми объектами леща, в Рыбинском водохранилище недалеко от комбината «Северсталь», г. Череповец (Козловская, Герман, 1997). Корм для рыб контрольной группы обрабатывали только этанолом. Кормление обеих групп рыб осуществляли также один раз в день *ad libitum*. Материал от опытных рыб отбирали через 1, 3, 7 и 14 сут., от контрольных — через 1, 7 и 14 сут., на каждую точку использовали по 10 особей.

Сыворотку крови получали после каудэктомии, затем проводили биоанализ, выделяли селезенку, почки и печень. Все операции по отбору проб органов проводили на холоду, до обработки пробы хранили замороженными. Индексы органов (по Кларк) рассчитывали стандартным способом (Анисимова, Лавровский, 1983), результат вы-

ражали в процентах. Концентрацию общего белка и глюкозы в сыворотке крови определяли общепринятыми методами — биуретовым и глюкозооксидазным соответственно. Анализ содержания иммунных комплексов осуществляли путем осаждения с полиэтиленгликолем, данные приведены в условных единицах (усл. ед.) (Гриневич, Алферов, 1981).

Статистическую обработку результатов проводили в программе Excel при уровне значимости  $p \leq 0,05$  с использованием *t*-критерия Стьюдента для оценки достоверности различий. Данные представлены в виде средних значений и стандартных ошибок ( $M \pm m$ ).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

*Индексы органов.* На протяжении эксперимента наблюдали колебания относительных масс органов опытных рыб, однако статистически значимых различий относительно контрольной серии не выявлено. Наиболее выраженным было снижение индексов селезенки к 14-м сут. эксперимента.

*Общий белок сыворотки крови.* На начальном этапе эксперимента отмечен некоторый рост показателя, что может быть связано с усилением выработки защитных соединений белковой природы в ответ на поступление токсиканта (рис. 1). К концу срока наблюдений произошло статистически значимое снижение концентрации белка по сравнению с контролем. Причиной могут быть как сдвиги водно-солевого обмена, так и снижение протеосинтеза. Поскольку сывороточные белки у рыб вырабатываются в печени, в условиях токсического стресса, когда орган работает в условиях повышенной нагрузки, возможны нарушения этого процесса.

*Гемоглобин.* Некоторое снижение показателя начинается с 7-х сут. эксперимента, к концу наблюдений оно становится статистически значимым (рис. 2).

Учитывая уменьшение относительной массы селезенки в эти же сроки, о чем сооб-

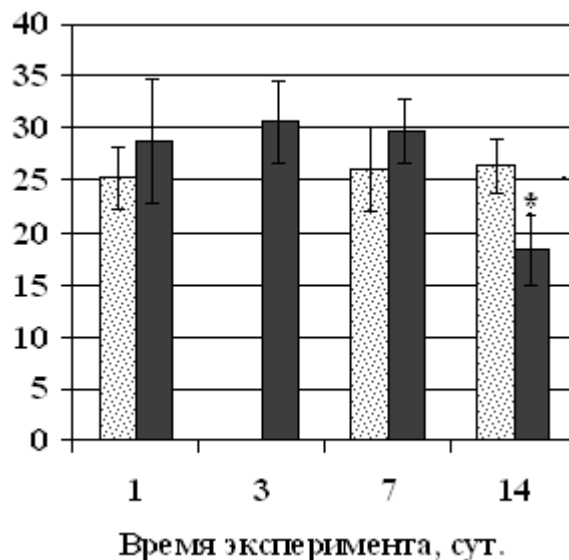


Рис. 1. Концентрация белка сыворотки крови у особей леща, г/л: (▨) — контроль, (■) — опыт; \* значения достоверно отличаются от контроля.

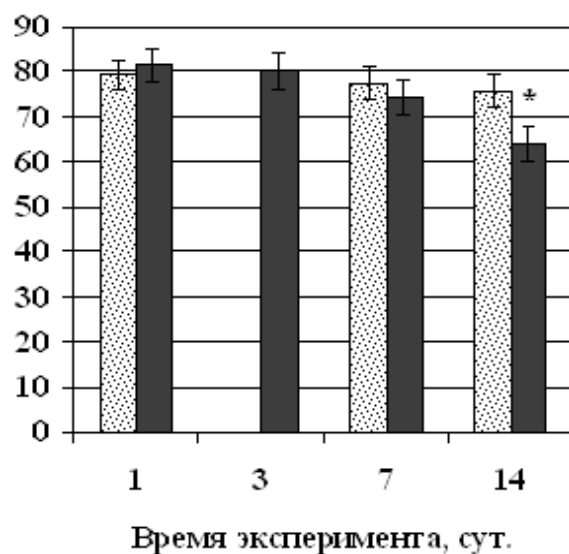


Рис. 2. Концентрация гемоглобина у особей леща, г/л; обозначения см. на рис. 1.

щалось выше, можно заключить, что ПХБ вызывают развитие патологических процессов в этом органе, что приводит к нарушению гемопоэза и, соответственно, падению уровня гемоглобина. Снижение у рыб уровня гемоглобина и количества эритроцитов (на 10–20%) также выявлено как при остром, так

и особенно при хроническом действии ХОС (Васильков и др., 1989).

**Глюкоза.** На рис. 3 видна устойчивая тенденция роста уровня гликемии в течение периода наблюдений. Вследствие большого размаха показателя, присущего рыбам вообще, и роста его индивидуальной изменчивости в стрессовых условиях (в данном случае — токсической нагрузки) достоверное изменение концентрации глюкозы выявлено только однажды — через 1 сут. после начала эксперимента. Такая динамика позволяет предположить резкий выброс глюкозы в кровь в первые часы опыта, что характерно для реакции на начало стрессового воздействия, после чего (спустя 1 сут.) показатель опускается ниже контрольного уровня. Дальнейший рост содержания глюкозы крови может быть ответом на продолжающееся поступление токсиканта.

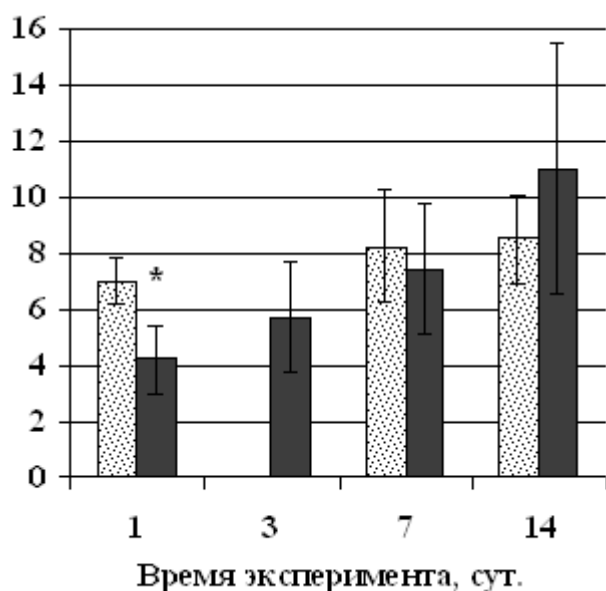
**Иммунные комплексы.** Основной функцией иммунных комплексов (ИК) является устранение чужеродного материала из организма. Связывание антигенов осуществляется антителами в кровяном русле, образовавшиеся комплексы называются циркулирующими иммунными комплексами

(ЦИК). Далее они поступают в органы, где уничтожаются макрофагами. Как показано на теплокровных животных, ведущая роль в удалении ИК отводится клеткам системы мононуклеарных фагоцитов (СМФ), основным органом которой является печень, именно через нее удаляется большая часть ЦИК из организма. Увеличение концентрации ЦИК связывают как с изменениями функциональной активности клеток СМФ, так и с их природой (Бутенко, Терешина, 1992). Комплексы небольшого размера или не способные связывать комплемент удаляются селезенкой или оседают в почечных клубочках, на стенках кровеносных сосудов и т.д. (Логинов и др., 1999).

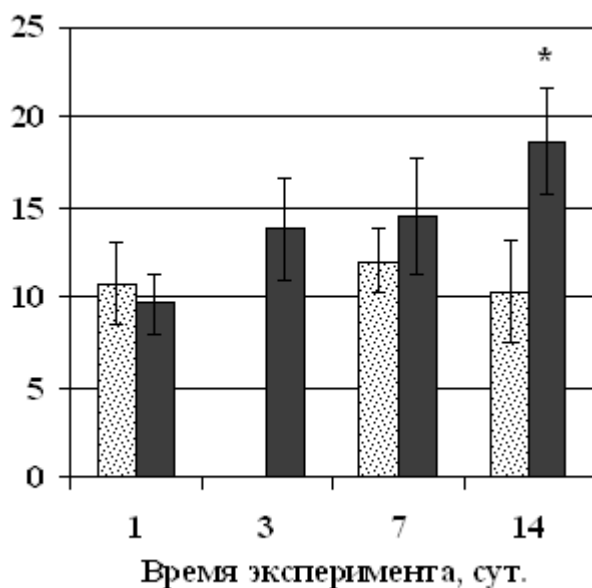
Показано, что у костистых рыб захват антигенного материала и транспортировка ИК к меланомакрофагальным центрам является одной из функций эллипсоидов селезенки (Fänge, Nilsson, 1985), а выведение растворимых ИК осуществляется главным образом купферовскими клетками печени (Ellis, 1988). Почки являются эквивалентом костного мозга позвоночных, они считаются главным гемопоэтическим органом рыб, ткань которого содержит большое количество лимфоидных клеток, а также макрофагов, сгруппированных в меланомакрофагальные центры (Uribe et al., 2011), что позволяет предположить активную их роль в переработке ИК.

Как показывают наши результаты, содержание ЦИК у рыб контрольной серии достаточно низкое, что объясняется содержанием их в чистой воде. Уровень показателя опытных рыб в течение эксперимента растет и к последнему сроку отбора проб достоверно превышает контроль (рис. 4). Это свидетельствует о том, что система выведения ксенобиотиков работает в усиленном режиме.

Динамика концентрации ИК в иммунокомпетентных органах была совершенно другой. Практически одинаковым был ход кривых показателя в селезенке и почках (рис. 5), причем подъем показателя на 3-и сут. эксперимента в почках был статистически значимым. Наиболее резко выражен-



**Рис. 3.** Концентрация глюкозы сыворотки крови у особей леща, ммоль/л; обозначения см. на рис. 1.

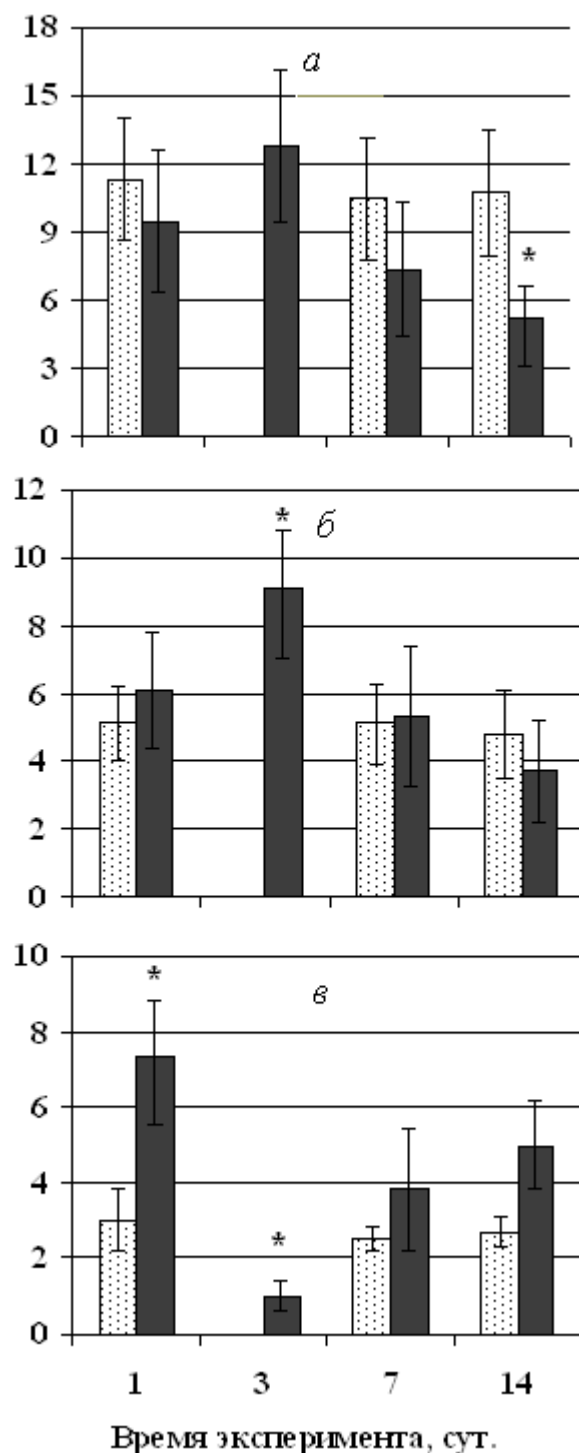


**Рис. 4.** Концентрация циркулирующих иммунных комплексов у особей леща, усл. ед.; обозначения см. на рис. 1.

ные колебания уровня ИК были выявлены в печени: значительное превышение в 1-е и падение показателя к 3-м сут. относительно контроля были также достоверны. Как видно на графиках, характер изменения уровня ИК в печени имел противоположную направленность относительно такового в селезенке и почках. Наблюдаемая разница, вероятно, может быть обусловлена процессами биотрансформации ксенобиотика. Уже с 1-х сут. эксперимента в организме могут присутствовать как препарат, поступающий с пищей, так и продукты его переработки. Эти соединения, отличающиеся по химическому составу и свойствам, направляются в разные ткани для нейтрализации и выведения.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные результаты подтверждают высокую чувствительность иммунокомпетентных органов к действию факторов различной природы. В системе крови к концу эксперимента выявлены значительные сдвиги основных физиологических параметров: снижение концентрации белка и гемо-



**Рис. 5.** Содержание иммунных комплексов в тканях иммунокомпетентных органов у особей леща, усл. ед.: а — селезенка, б — почки, в — печень. Обозначения см. на рис. 1.

глобина, рост уровня гликемии. Увеличение содержания ЦИК указывает на нарушение баланса между поступлением ксенобиотика



и возможностями систем его нейтрализации и выведения. Выявленные изменения указывают на ухудшение физиологического состояния и снижение адаптационного потенциала рыб.

Динамика изменений уровня ИК в тканях свидетельствует о том, что в процессах элиминации продуктов биотрансформации арохлора задействована СМФ всех исследованных иммунокомпетентных органов. Активная переработка поступающего с пищей антигенного материала позволяет предположить возможность дальнейшей стабилизации гомеостатических механизмов на несколько отличном от фонового уровне.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований, гранты № 08-05-00805, 12-05-00572.

## БЛАГОДАРНОСТИ

Автор выражает глубокую благодарность сотрудникам лаборатории физиологии и токсикологии ИБВВ РАН В.В. Юрченко и А.А. Морозову за предоставленный для исследований материал.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Анисимова И.М., Лавровский В.В. Ихтиология. М.: Высш. шк., 1983. 255 с.

Бутенко Г.М., Терешина О.П. Функциональная активность системы мононуклеарных фагоцитов — влияние возраста и иммунных комплексов // Иммунология. 1992. № 3. С. 15–17.

Васильков Г.В., Грищенко Л.И., Енгашев В.Г. и др. Болезни рыб. М.: Агропромиздат, 1989. 288 с.

Горбунова Т.И., Первова М.Г., Забелина О.Н. и др. Полихлорбифенилы: проблемы экологии, анализа и химической утили-

зации. М.; Екатеринбург: КРАСАНД; УрО РАН, 2011. 250 с.

Гриневиц Ю.А., Алферов А.Н. Определение иммунных комплексов в крови онкологических больных // Лаб. дело. 1981. № 8. С. 493–496.

Бенч Д.В. Полихлорированные бифенилы — опасные загрязнители, укрываемые в шахтах и карьерах // Гор. пром-сть. 2004. № 4. С. 60–68.

Козловская В.И., Герман А.В. Полихлорированные бифенилы и полиароматические углеводороды в экосистеме Рыбинского водохранилища // Вод. ресурсы. 1997. Т. 24. № 5. С. 563–569.

Коломиец А.Ф. Полихлорполициклические ксенобиотики // Успехи химии. 1991. Т. 60. № 3. С. 536–544.

Логинов С.И., Смирнов П.Н., Трунов А.Н. Иммунные комплексы у животных и человека: норма и патология. Новосибирск: РАСХН; Сиб. отд. ИЭВСиДВ, 1999. 144 с.

Моисеенко Т.И. Водная экотоксикология: теоретические и прикладные аспекты. М.: Наука, 2009. 400 с.

Федоров Л.А. Диоксины как экологическая опасность: ретроспектива и перспективы. М.: Наука, 1993. 266 с.

Ellis A. E. Antigen trapping in the spleen and kidney of the plaice *Pleuronectes platessa* L. // J. Fish Dis. 1980. № 3. P. 413–426.

Fänge R., Nilsson S. The fish spleen: structure and function // Experientia. 1985. V. 41. № 2. P. 152–158.

Pääkkönen J.-P.J., Rantalainen A.-L., Karels A. et al. Bioaccumulation of PCBs in burbot (*Lota lota* L.) after delivery in natural food // Arch. Environ. Contam. Toxicol. 2005. V. 49. № 2. P. 223–231.

Uribe C., Folch H., Enriquez R. et al. Innate and adaptive immunity in teleost fish: a review // Veterinarni Medicina. 2011. V. 56. № 10. P. 486–503.

**INFLUENCE OF PCBS CONSUMED WITH FOOD ON PHYSIOLOGICAL  
PARAMETERS OF BREAM *ABRAMIS BRAMA***

© 2016 г. Т. В. Лапинова

*I. D. Papanin Institute of the Biology of Inland Waters Russian Academy of Sciences,  
Borok, Yaroslavl region, 152742*

The article provides the results of the experimental study on the influence of PCB-containing feeding material, where PCB concentration is comparable to that of natural feeding objects, on a number of indicators of physiological status of bream from the Rybinsk reservoir. After 14 days since the start of exposure the following changes in blood parameters took place: decrease in levels of total protein and hemoglobin, and increase in concentration of circulating immune complexes and glucose, which indicates the decrease in an overall resistance and adaptive capability of fish. The dynamics of immune complex concentration in tissues supports the assumption that the consumed xenobiotic subjects to biotransformation, and the side products are processed and eliminated in other immunocompetent organs.

*Keywords:* bream, PCBs, total protein, glucose, hemoglobin, immune complexes.