

ВЛИЯНИЕ СЫРОЙ НЕФТИ НА КИСЛОТНУЮ РЕЗИСТЕНТНОСТЬ ЭРИТРОЦИТОВ РЫБ

© 2009 М.М. Габиров, Н.М. Абдуллаева, М.М. Исмаилова,
Г.С. Алиева, А.М-Г. Мирзабалаев
Дагестанский государственный университет, Махачкала

Статья посвящена изучению влияния сырой нефти (10 ПДК) на состояние эритроцитарных мембран двухлеток красноперки в аквариальных условиях. Показано, что воздействие сырой нефти вызывает деструктивные процессы в мембранах эритроцитов, приводящие к их преждевременному старению.

Ключевые слова: сырая нефть, преждевременное старение, загрязнение водоемов

Загрязнение водоемов нефтью и нефтепродуктами, пестицидами - один из самых распространенных видов техногенного прессинга [7, 8, 11]. В результате этого массы промышленных вод, содержащих различные токсиканты, не проходя должной очистки или в результате аварий, попадают в естественные водоемы и распространяются на значительные расстояния [5, 6, 12]. Эта проблема особенно актуальна для рыб, поскольку они чаще всего не могут покинуть зону загрязнения из-за ограничений, определяемых размерами водоемов и подвергаются воздействию поллютантов не только через пищеварительную и дыхательную системы, но и через кожные покровы. Понимание механизмов действия токсикантов на рыб и других гидробионтов является необходимой предпосылкой для разработки научных основ и методов определения ПДК применительно к задачам рыбохозяйственной регламентации поступающих в водоемы токсических веществ. Речь идет о развитии физиолого-биохимического подхода к решению проблем ихтиотоксикологии [1].

Габиров Магомед Магомедович, доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой физиологии человека и животных. E-mail: magomedovoi@mail.ru

Абдуллаева Наида Муртузалиевна, заведующая лабораторией. E-mail: phisiolog1@yandex.ru

Исмаилова Мухлисат Магомедовна, аспирант. E-mail: emta1310@mail.ru

Алиева Гульнара Сергеевна, аспирант

Мирзабалаев Абдул Магомедгусейнович, аспирант

Известно, что в течение всей жизни эритроцита в сосудистом русле его стойкость уменьшается с возрастом. Наиболее молодые эритроциты обладают наибольшей стойкостью и занимают на эритрограмме правое положение. Циркулируя в русле крови, они созревают и в дальнейшем стареют. Эти процессы сопровождаются постоянным снижением их стойкости, что на эритрограмме отражается смещением влево. К концу жизни эритроцита его стойкость снижается до минимального значения, с которой он покидает сосудистое русло [2, 4]. Таким образом, стойкость эритроцитарных мембран является важнейшей величиной, связанной с физиологическим состоянием и возрастом эритроцитов.

Целью работы является исследование кислотной устойчивости эритроцитарных мембран рыб при хроническом воздействии тяжелых металлов и сырой нефти.

Материал и методика. Объектом исследования явились двухлетки красноперки (*Scardinius erythrophthalmus* L.) массой 15,5г, отловленные в южной части Аграханского залива Каспийского моря. Эксперименты проводились в аквариумах объемом 250 л. В каждом аквариуме содержались по 15-20 рыб и создавались условия постоянного температурного и газового режима. Нами испытано влияние сырой нефти в концентрации 0,5 мг/л (10 ПДК) (Перечень рыбохозяйственных нормативов, 1999). Использовали нефть сырую – товарную Махачкалинскую. Контрольную группу рыб содержали в воде без добавления токсиканта. На 5-й, 15-й, 30-й и 40-й

дни эксперимента проводили анализ кислотной резистентности эритроцитов фотоэлектрической регистрации кинетики гемолиза [10]. Кровь брали прокалыванием из хвостовой вены. Результаты обработаны вариационно-статистическим методом [3].

Результаты и обсуждение. Метод кислотных эритрограмм позволяет группировать морфологически однородные эритроциты по их возрастному составу. Вместе с тем, распределение эритроцитов по стойкости зависит от физико-химического состава мембран. Как видно из рис. 1, эритрограмма контрольных сеголеток двухлеток красноперки одновершинна и ее максимум (пик) приходится на 0,6 мин. В этой точке гемолизу подвергается около 27,15% эритроцитов. Продолжительность эритрограммы контрольных рыб составила 1,8 мин. Размах основания пика составил 0,4 мин. За это время гемолизу подвергается 63,56% эритроцитов. Одновершинность эритрограммы указывает на относительную однородность популяции, соответствующей нормобластическому типу кроветворения. Растяжение правого крыла эритрограммы указывает на приток в кровяное русло эритроцитов с высокой кислотной резистентностью. Длительность гемолиза после наступления пика занимает 1,2 мин. Начальные участки эритрограмм контрольных рыб сопровождаются незначительными изменениями оптической плотности, которые характеризуют предгемолизные изменения эритроцитов в связи с их переходом в сферическую форму. Этот участок не связан с распадом эритроцитов. В опытных вариантах такое не наблюдалось, т.к. процесс распада эритроцитов начинается с первой минуты.

Кислотные эритрограммы рыб на различных этапах воздействия сырой нефти отражают существенные изменения в популяции эритроцитов. На 5-е сутки воздействия сырой нефти выявлены изменения в сторону смещения эритрограммы в левую сторону. Наблюдается левый сдвиг одновершинной эритрограммы со смещением максимума к 0,4 мин. К этому времени гемолизу подвергается около 40% эритроцитов. Размах основания эритрограммы составляет 1,4 мин. За это время гемолизу подвергается 99% эритроцитов. На 15-й день экспозиции рыб в среде с сырой нефтью

выявлены дальнейшие изменения в сторону смещения эритрограммы в левую сторону. Эритрограмма одновершинна со смещением максимума к 0,4 мин. К этому времени гемолизу подвергается около 40% эритроцитов. Размах основания пика составляет 1,2 мин. За это время гемолизу подвергалось 98% эритроцитов. Время полного гемолиза сокращено. Уже на 1,4 мин наступает полное разрушение всех эритроцитов.

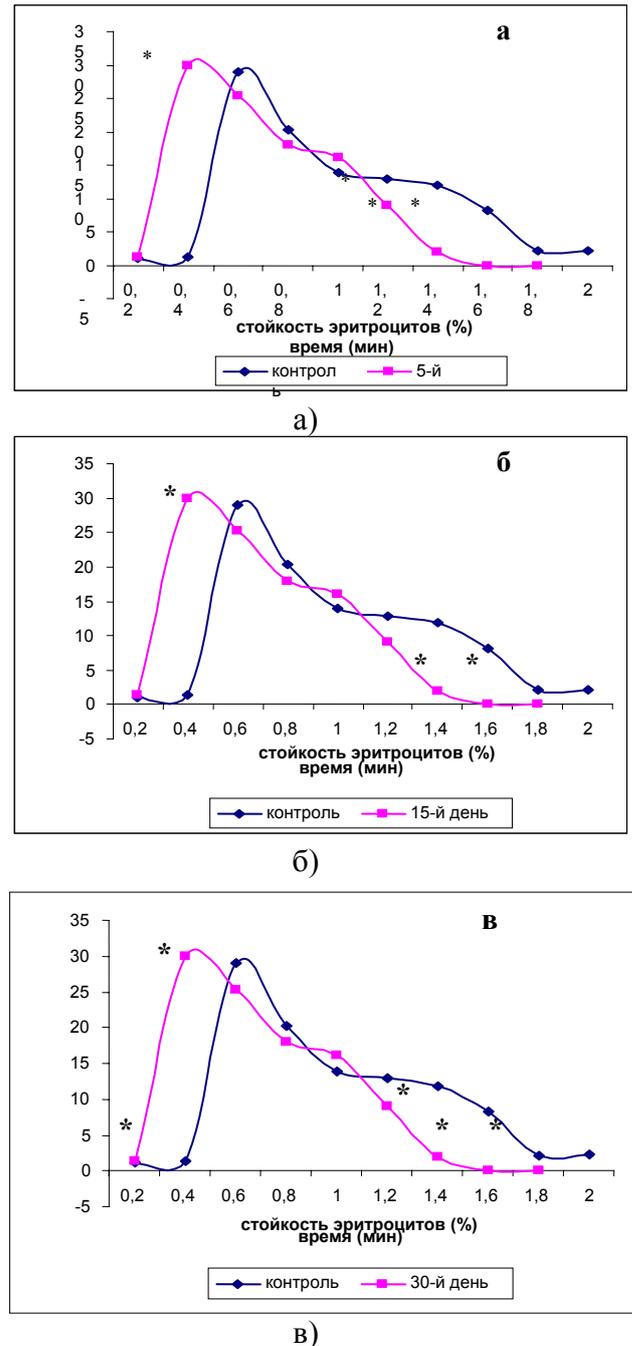


Рис. 1. Устойчивость эритроцитов двухлеток красноперки к действию нефти в условиях хронического опыта

На 30-й день интоксикации сырой нефтью эритрограмма смещена влево; разрушение эритроцитов происходит с первых секунд – нет стадии, предшествующей гемолизу. Пик гемолиза приходится на 0,4 мин. Происходит разрушение 30,01%

эритроцитов. Продолжительность эритрограммы занимает 1,6 мин. Размах пика основания занимает 0,6 мин. За это время гемолизу подвергается 99% эритроцитов. Время полного гемолиза наступает к 1,4 мин.

Таблица 1. Кислотная резистентность эритроцитов периферической крови двухлеток красноперки при хроническом воздействии сырой нефти ($M \pm m$; $n=10$)

время, мин вариант опыта		0,2	0,4	0,6	0,8	1,0
		контроль	1,12±0,01	1,33±0,05	29,01±5,50	20,31±5,1
Нефть, 5 мг/л	5	0,80±0,03 $p>0,05$	39,64±6,46 $p<0,001$	23,84±5,02 $p>0,005$	18,01±0,39 $p>0,05$	10,37±0,03 $p>0,05$
	15	1,05±0,03 $p<0,01$	33,42±6,02 $p<0,001$	24,04±4,58 $p>0,05$	17,19±0,29 $p>0,05$	14,72±0,19 $p>0,05$
	30	1,47±0,05 $p<0,01$	30,01±5,02 $p<0,001$	25,47±5,27 $p>0,05$	18,13±0,36 $p>0,05$	16,07±0,23 $p>0,05$
время, мин вариант опыта		1,2	1,4	1,6	1,8	
		контроль	12,96±1,5	11,88±2,00	8,16±1,22	2,12±1,8
Нефть, 5 мг/л	5	5,11±0,08 $p<0,05$	2,08±0,07 $p<0,001$	0,08±0,01 $p<0,001$	0	
	15	8,24±0,18 $p>0,05$	1,01±0,02 $p<0,05$	0,17±0,02 $p<0,001$	0	
	30	9,04±0,18 $p>0,05$	1,18±0,06 $p<0,05$	0,30±0,12 $p<0,001$	0	

Выводы: полученные результаты свидетельствуют о повышении чувствительности эритроцитарных мембран к кислотному гемолизу под влиянием сырой нефти, что приводит к значительному изменению качественного состава эритроцитарной популяции. Сокращение продолжительности гемолиза, исчезновение популяций высокочувствительных и сверхвысокочувствительных эритроцитов из кровяного русла, увеличение доли средне- и высокостойких эритроцитов при воздействии сырой нефти свидетельствуют о «старении» популяции эритроцитов, которое может явиться следствием деструктивных процессов, возникающих в эритроцитарной мембране под влиянием изученного токсиканта. Надо отметить, что использованные концентрации сырой нефти

остролетального эффекта не вызывали. Одной из причин старения эритроцитов может явиться окислительная модификация белков и липидов мембран эритроцитов под влиянием токсиканта [9]. Другой причиной может быть поступление в кровяное русло из депо старых форм эритроцитов с низкой устойчивостью к кислотному гемолизу [5]. Уменьшение кислотной резистентности эритроцитов рыб под влиянием сырой нефти может быть следствием снижения стабильности мембран эритроцитов с последующим внутрисосудистым гемолизом.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Гусев, А.Г. Охрана рыбохозяйственных водоемов от загрязнения. – М.: Пищ. пром., 1975. – 367 с.

2. *Иванов, А.А.* Физиология рыб. – М.: Мир, 2003. – 284 с.
3. *Лакин, Г.Ф.* Биометрия. – М.: Высшая школа, 1990. – 352 с.
4. *Леонова, В.Г.* Анализ эритроцитарных популяций в онтогенезе человека. – Новосибирск: Наука, 1987. – 242 с.
5. *Маслова, Н.М.* Активность мембранных ферментов эритроцитов при различных стрессорных воздействиях // Физиол. журн. им. И.М.Сеченова. – 1994. – Т.80, №7. – С. 76-80.
6. *Неваленный, А.Н.* Влияние ионов кадмия в среде на уровень активности ферментов, обеспечивающих процессы мембранного пищеварения у карпа / *А.Н. Неваленный, Д.А. Бедняков* // Экология. – 2004. - №2. – С. 152-155.
7. *Орлов, Д.С.* Экология и охрана биосферы при химическом загрязнении / *Д.С. Орлов, Л.К. Садовникова, И.Н. Лозановская* // М.: Высшая школа, 2002. – 334 с.
8. *Папина, Т.С.* Транспорт и особенности распределения тяжелых металлов в речных экосистемах. - Новосибирск: Наука, 2001. – Серия «Экология». – Вып. 62. – 58 с.
9. *Руднева, И.И.* Эколого-физиологические особенности антиоксидантной системы рыб и процессов перекисного окисления липидов // Успехи соврем. биологии. – 2003. – Т.123, №34. – С. 391-400.
10. *Терсков, И.А.* Метод кислотных эритрограмм / *И.А. Терсков, И.И. Гительзон* // Биофизика. – 1957. – Т. 2, вып. 2. – С. 259-266.
11. *Юрин, В.М.* Основы ксенобиологии. - Минск: Новое знание, 2002. – 267 с.
12. *Юровицкий, Ю.Г.* Эколого-биохимический мониторинг и эколого- биохимическое тестирование в районах экологического неблагополучия / *Ю.Г. Юровицкий, В.С. Сидоров* // Изв. РАН, сер. биол. – 1993. - №1. – С. 74-82.

INFLUENCE OF CRUDE OIL ON ACID RESISTENCY OF FISH ERITHROCYTES

© 2009 M.M. Gabibov, N.M. Abdullaeva, M.M. Ismailova,
G.S. Alieva, A.M-G. Mirzabalaev
Dagestan State University, Makhachkala

Article is devoted to studying of influence of crude oil (10 maximum concentration limits) on a condition of erithrocyte membranes in two years fish in aquarian conditions. It is shown, that influence of crude oil causes destructive processes in erithrocytes membranes, leading to their presenilation.

Key words: crude oil, presenilation, pollution of reservoirs

*Magomed Gabibov, Doctor of Biology, Professor,
Head of the Human and Animal Physiology Department.*

E-mail: magomedovoi@mail.ru

*Naida Abdullaeva, Laboratory Manager. E-mail:
physiolog1@yandex.ru*

*Muslikhat Ismailova, Graduate Student. E-mail:
emma1310@mail.ru*

Gulnara Alieva, Graduate Student

Abdul Mirzabalaev, Graduate Student