

УДК 597.5543:574.24.:591.133.11

## ВЛИЯНИЕ ЗАГРЯЗНЕНИЯ ВОДНОЙ СРЕДЫ ИОНАМИ $Pb^{2+}$ , $Cd^{2+}$ И СЫРОЙ НЕФТЬЮ НА НАКОПЛЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИ ИНДУЦИРОВАННЫХ ПОВРЕЖДЕНИЙ В ЭРИТРОЦИТАХ РЫБ

© 2011 М.М. Габибов<sup>1</sup>, Н.М. Абдуллаева<sup>1</sup>, Л.М. Ортабаева<sup>1</sup>, И.А. Исмаилов<sup>2</sup>,  
П.А. Асадулаева<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Дагестанский государственный университет, г. Махачкала

<sup>2</sup> Дагестанская медицинская академия, г. Махачкала

Поступила в редакцию 05.04.2011

Исследовано влияние загрязнения водной среды ионами  $Pb^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$  и сырой нефтью на накопление генетически индуцированных повреждений в эритроцитах рыб на основе микроядерного теста. В условиях воздействия токсикантов отмечены высокие уровни аберрантных клеток.

Ключевые слова: ацетат свинца, хлорид кадмия, нефть, эритроцит, микроядерный тест, карп, красноперка

В последние годы в исследованиях, связанных с оценкой генетической опасности агентов разной природы, вместо традиционных цитогенетических методов анализа хромосом применяют микроядерный тест, результаты которого характеризуют частоты хромосомных мутаций на уровне микроядер [3-6, 12, 13]. Микроядрами называют ядерные тельца, присутствующие дополнительно к основному ядру в интерфазной клетке. Они возникают в ходе митотического деления из ацентрических фрагментов хромосом либо из целых хромосом, которые не включаются в состав дочерних ядер. Анализ микроядер является быстрым и легким способом оценки цитогенетических повреждений, продуцируемых кластогенами, вызывающими эффект разрыва хромосом, а также анеугенами, повреждающими митотический аппарат [4-6, 12, 13, 15].

**Объекты исследования.** Основным объектом исследования были сеголетки (5-6 мес., массой 100-150 г) обоего пола карпа (*Cyprinus carpio* L.), отловленные из прудов Широкольского рыбокомбината в осеннее время перед их переброежкой в зимовальные пруды. Другим объектом исследования явились двухлетки красноперки (*Scardinius erythrophthalmus* L.) массой 15,5-25,5 г, отловленные в южной части Аграханского залива. Выбор объекта исследования связан с его доступностью и с тем, что карповые хорошо

переносят смену среды обитания, отличаются выносливостью к холоду и другим неблагоприятным условиям окружающей среды. С другой стороны, влияние токсикантов на молодь рыбы имеет более глубокие последствия, чем на старых рыб [11].

**Постановка эксперимента.** Эксперименты проводились в аквариумах объемом 250 л. В каждом аквариуме содержались по 15-20 рыб и создавались условия постоянного температурного и газового режима. В эксперименте использовались выжившие рыбы. Нами испытано влияние ацетата свинца в концентрации 0,5 мг/дм<sup>3</sup> (ПДК для рыбохозяйственных водоемов – 0,1 мг/дм<sup>3</sup>); хлорида кадмия в концентрации 1,0 мг/дм<sup>3</sup> (ПДК для рыбохозяйственных водоемов – 0,005 мг/дм<sup>3</sup>); сырой нефти в концентрации 0,5 мг/л (10 ПДК) [10]. Использовали нефть сырую – товарную Махачкалинскую. Кровь брали прокалыванием из хвостовой вены.

**Метод учета микроядер.** Определение уровней хромосомных мутаций в эритроцитах рыб проводили с помощью метода учета микроядер, используемого в исследованиях проблем экспериментального мутагенеза и экотоксикологии [4-6, 13]. При проведении микроядерного теста были использованы мазки крови рыб. Сущность метода заключается в учете микроядер, которые служат индикатором не только грубых поломок хромосом, но могут отражать существенные нарушения в структуре центромеров или аппарате клеточного деления. Статистическую обработку результатов проводили по t-критерию Стьюдента с использованием интегрированного пакета статистической обработки информации STATGRAPHICS [7].

**Результаты и обсуждение.** Наши данные по динамике клеток с микроядрами и двуядерных клеток на примере эритроцитов сеголеток карпа и двухлеток красноперки представлены в табл. 1, 2. Количество эритроцитов с микроядрами

Габибов Магомед Магомедович, доктор биологических наук, профессор кафедры анатомии, физиологии, гистологии. E-mail: phiziolog1@yandex.ru

Абдуллаева Наида Муртазалиевна, кандидат биологических наук, старший преподаватель кафедры анатомии, физиологии, гистологии. E-mail: casa1@yandex.ru

Ортабаева Людмила Мухаджировна, кандидат биологических наук, доцент кафедры анатомии, физиологии, гистологии. E-mail: phiziolog1@yandex.ru

Исмаилов Исмаил Абдушерифович, кандидат биологических наук, доцент кафедры биохимии

Асадулаева Патимат Абдуллаевна, аспирантка

у контрольных сеголеток карпа составляло  $0,67 \pm 0,19\%$ , двуядерных клеток –  $0,89 \pm 0,40\%$ . Для двухлеток красноперки эти величины составили  $0,17 \pm 0,01\%$  и  $2,00 \pm 0,03\%$  соответственно. Известно, что уровни хромосомных мутаций в клетках (эритроцитах) рыб зависят от многих факторов (дозы токсикантов, температуры, длительности воздействия [4-6,16-18]. В условиях воздействия токсикантов нами отмечены высокие уровни генетически aberrантных клеток (в 1,4-7,3 раза выше), чем в контроле (табл. 1, 2). Несмотря на то, что при выбранных нами условиях эксперимента ионы  $Pb^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$  и сырая нефть вызывали статистически значимое увеличение

числа микроядер и двуядерных эритроцитов, в крови сеголеток карпа и двухлеток красноперки была выявлена кластогенная активность. Очевидно, это связано с условиями модельного эксперимента либо с сильными цитотоксическими эффектами токсикантов, приводящих к массовой клеточной гибели, в результате которой и происходит искусственное занижение клеток со следами хромосомных аномалий [1-3]. Вполне возможно, что специфическая среда содержания рыб в модельном эксперименте с токсикантами провоцирует изменения экспрессии некоторых генов, которые передаются эпигенетическим путем.

**Таблица №1.** Цитогенетические изменения в эритроцитах сеголеток карпа при загрязнении водной среды ионами  $Pb^{2+}$  и  $Cd^{2+}$  ( $M \pm m$ ;  $n=10$ )

Условия опыта			Количество клеток с микроядрами, %	Количество двуядерных клеток, %
ацетат свинца, 0,5 мг/л	время воздействия, сутки	контр	$0,67 \pm 0,19$	$0,89 \pm 0,10$
		5	$1,89 \pm 0,36$ ; $p < 0,02$	$1,79 \pm 0,36$ ; $p < 0,05$
		15	$1,67 \pm 0,33$ ; $p < 0,02$	$1,67 \pm 0,33$ ; $p < 0,05$
		30	$1,67 \pm 0,03$ ; $p < 0,001$	$2,33 \pm 0,33$ ; $p < 0,001$
		40	$1,00 \pm 0,58$ ; $p > 0,06$	$2,00 \pm 0,28$ ; $p < 0,01$
хлорид кадмия, 1,0 мг/л		5	$1,52 \pm 0,02$ ; $p < 0,001$	$1,69 \pm 0,34$ ; $p < 0,05$
		15	$1,00 \pm 0,01$ ; $p > 0,1$	$1,33 \pm 0,27$ ; $p > 0,2$
		30	$2,03 \pm 0,03$ ; $p < 0,001$	$4,10 \pm 0,36$ ; $p < 0,001$
		40	$1,00 \pm 0,01$ ; $p > 0,1$	$2,00 \pm 0,38$ ; $p < 0,001$

**Таблица 2.** Цитогенетические изменения в эритроцитах крови двухлеток красноперки при загрязнении водной среды сырой нефтью ( $M \pm m$ ;  $n=10$ )

Условия опыта			Количество клеток с микроядрами, %	Количество двуядерных клеток, %
контроль			$0,17 \pm 0,03$	$2,00 \pm 0,03$
Нефть, 5,0 мг/л	Время воздействия, сут	5	$0,23 \pm 0,03$ ; $p > 0,2$	$7,10 \pm 0,4$ ; $P < 0,001$
		15	$0,51 \pm 0,03$ ; $P < 0,001$	$5,80 \pm 0,06$ ; $P < 0,001$
		30	$1,20 \pm 0,03$ ; $P < 0,001$	$7,80 \pm 0,06$ ; $P < 0,001$

С помощью метода учета микроядер нами показано, что в периферической крови рыб, подвергшихся действию высоких концентраций ацетата свинца, хлорида кадмия и сырой нефти, частота встречаемости эритроцитов со следами хромосомных поломок значительно превышала уровень спонтанно возникающих мутаций на 5-е, 15-е, 30-е и 40-е дни воздействия. При всех изученных сроках воздействия токсикантов в популяции эритроидных клеток наблюдалось увеличение против нормы числа клеток с микроядрами и двуядерных клеток. Значительнее всего их увеличение имело место в случае воздействия сырой нефти, что можно объяснить многокомпонентностью ее состава и способностью аккумулировать другие поллютанты. Очевидно, что попадание тяжелых металлов и сырой нефти в больших концентрациях в водные экосистемы может быть

фактором риска в плане развития отдаленных последствий их влияния на генетический аппарат гидробионтов.

**Выводы:** из полученных нами данных вытекает, что кроветворные клетки рыб могут быть использованы как удобные тест-системы для выявления цито- и генотоксических веществ, а также в цитогенетическом мониторинге водной среды, т.к. колебания уровня спонтанного и индуцированного мутагенеза могут отражать изменения степени загрязненности водной среды различными генотоксикантами. Для более обоснованной интерпретации полученных результатов к условиям реальной действительности представляют интерес исследования по комбинированному воздействию этих токсикантов на рыб.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Алов, И.А. Цитофизиология и патология митоза – М.: Медицина, 1972. С. 45-78.
2. Будников, Г.К. Тяжелые металлы в экологическом мониторинге водных систем // Биология. Соросовский журнал. 1998. Т. 7, №4. С. 21-28.
3. Волошина, Г.В. Экологическая оценка состояния поверхностных вод реки Понура // Экол. вестник Сев. Кавказа. 2006. Т.2, №1. С. 118-122.
4. Захидов, С.Т. Цитогенетический мониторинг волжского бассейна. Уровни хромосомных мутаций в половых и соматических клетках самцов стерляди / С.Т. Захидов, М.И. Карпюк, В.А. Галиченков // Изв. РАН, сер. Биол. 1993а. №1. С. 102-106.
5. Захидов, С.Т. Чувствительность хромосом кровяных клеток личинок *Xepo Laevis* к действию химического мутагена фотрина / С.Т. Захидов, А.Х. Хани, Н.Н. Свечеревский, В.А. Галиченков // Изв. РАН, сер. Биол. 1993б. №1. С. 107-111.
6. Захидов, С.Т. Цитогенетический мониторинг Южно-Приаралья: оценка генотоксической активности воды / С.Т. Захидов, И.В. Урываева, Т.Л. Маршак и др. // Изв. РАН, сер. Биол. 1993 в. №1. С. 95-101.
7. Лакин, Г.Ф. Биометрия. – М.: Высшая школа, 1990. 352 с.
8. Линник, П.Н. Кадмий в поверхностных водах: содержание, формы нахождения, токсическое действие / П.Н. Линник, И.В. Искра // Гидробиол. журн. 1997. Т. 33, №6. С. 72-87.
9. Миронов, О.Г. Влияние нефти и нефтепродуктов на некоторых гидробионтов Севастопольской бухты / О.Г. Миронов, А.Д. Гордина, И.И. Руднева, Т.Л. Гавенаускайте // Ихтиофауна Черноморских бухт в условиях антропогенного воздействия. – Киев: Наукова Думка, 1993. С. 46-57.
10. Перечень рыбохозяйственных нормативов: предельно допустимых концентраций (ПДК) и ориентированно-безопасных уровней воздействия (ОБУВ) вредных веществ на воду, водные объекты, имеющих рыбохозяйственное значение. – М.: ВНИРО, 1999. 304 с.
11. Руднева, И.И. Эколого-физиологические особенности антиоксидантной системы рыб и процессов перекисного окисления липидов // Успехи соврем. биологии. 2003. Т. 123, №34. С. 391-400.
12. Урываева, И.В. Перспективы разработки и применения в экологических исследованиях цитогенетического метода анализа микроядер в гепатоцитах // Изв. РАН., сер. биол. 1993. №1. С. 88-94.
13. Урываева, И.В. Оценка уровня накопленных возростом и индуцированных генетических повреждений в клетках печени по индукции микроядер / И.В. Урываева, Г.В. Делоне // Онтогенез. 1992. Т. 23, № 4. С. 370.
14. 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.
15. Ashby, J. The prospects for a simplified and internationally harmonized approach to the detection of possible human carcinogens and mutagens // *Mutagenesis*. 1986. Vol. 1, №1. P. 3-4.
16. Eckl, P.M. The effects of a purified diet on sister chromatid exchange frequencies and mitotic activity in adult rat hepatocytes / P.M. Eckl, T. Alati, R.L. Jirtle // *Carcinogenesis*. 1991. Vol. 12, №4. P. 643-644.
17. Tate, A.D. Persistence of preclastogenic damage in hepatocytes of rat exposed to ethylnitrosourea, diethylnitrosamine, dimethylnitrosamine and methyl methanesulphonate / A.D. Tate, J. Neuteboom, A.H.M. Rotteveel et al. // *Carcinogenesis*. 1986. Vol. 7, №7. P. 1053.
18. Tate, A.D. The role of the induction of micronuclei in rat liver by ethylnitrosourea and methyl methanesulphonate: the importance of experimental design / A.D. Tate, L. den Engels // *Mutat. Res*. 1989. Vol. 210, №2. P. 271.

## INFLUENCE OF POLLUTION THE WATER ENVIRONMENT BY IONS $Pb^{2+}$ , $Cd^{2+}$ AND CRUDE OIL ON ACCUMULATION OF GENETICALLY INDUCED DAMAGES IN FISHES ERYTHROCYTES

© 2011 M.M. Gabibov<sup>1</sup>, N.M. Abdullaeva<sup>1</sup>, L.M. Ortabaeva<sup>1</sup>, I.A. Ismailov<sup>2</sup>, P.A. Asadulaeva<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dagestan State University, Makhachkala

<sup>2</sup>Dagestan Medical Academy, Makhachkala

Influence of pollution the water environment by ions  $Pb^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$  and crude oil on accumulation of genetically induced damages in fishes erythrocytes on the basis of micronuclear test is investigated. In the conditions of toxicants influence high levels of aberrant cells are marked.

Key words: lead acetate, cadmium chloride, oil, erythrocyte, micronuclear test, carp, rudd

---

Magomed Gabibov, Doctor of Biology, Professor at the Anatomy, Physiology, Histology Department. E-mail: phiziolog1@yandex.ru  
Naida Abdullaeva, Candidate of Biology, Senior Lecturer at the Anatomy, Physiology, Histology Department. E-mail: cacal@yandex.ru  
Lyudmila Ortabaeva, Candidate of Biology, Senior Lecturer at the Anatomy, Physiology, Histology Department. E-mail: phiziolog1@yandex.ru  
Ismail Ismailov, Candidate of Biology, Senior Lecturer at the Biochemistry Department  
Patimat Asadulaeva, Post-graduate Student