

УДК 594-105:574.47(26)

*Н. И. Силкина, Д. В. Микряков, В. Р. Микряков,
А. С. Соколова*

**ВЛИЯНИЕ АНТРОПОГЕННОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ НА
УРОВЕНЬ ИММУННЫХ КОМПЛЕКСОВ, ОБЩИХ
ЛИПИДОВ И ОКИСЛИТЕЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ У
МОЛЛЮСКА *RAPANA VENOSA* (VALENCIENNES,
1846)¹**

Приведены результаты сравнительного анализа уровня иммунных комплексов, общих липидов и окислительных процессов в мышечных тканях моллюска *Rapana venosa*, обитающего в прибрежных акваториях Кавказского побережья Черного моря с разным уровнем антропогенной нагрузки. Установлено повышенное содержание продуктов перекисного окисления липидов, иммунных комплексов и низкий уровень антиоксидантной активности у особей, отловленных в районах с высокой антропогенной нагрузкой.

Ключевые слова: моллюск *Rapana venosa*, антропогенное загрязнение, иммунные комплексы, общие липиды, перекисное окисление липидов, антиоксидантная активность.

Прибрежные акватории Кавказского побережья Черного моря подвержены интенсивному антропогенному воздействию. Наиболее сильному загрязнению подвергаются воды вблизи крупных промышленных центров, портовых комплексов, нефтяных терминалов и сельскохозяйственных предприятий. В связи с ежегодным ростом сброса загрязненных вод отдельные участки акватории Черного моря утратили способность к самоочищению. Это приводит к химическому, физическому и биологическому загрязнению воды, снижению биоразнообразия, смене доминирующих видов гидробионтов, появлению новых видов [4, 9]. У гидробионтов, обитающих в загрязненных водах Черного моря, в отличие от таковых из чистых акваторий, выявляют нарушения в механизмах поддержания гомеостаза [2, 6, 8, 11].

Исследованиями влияния антропогенного загрязнения на организм двустворчатых моллюсков (в основном мидий), обитающих в морских акваториях, установлено изменение содержания неспецифических факторов иммунитета, усиление перекисного окисления липидов и снижение уровня антиоксидантов [1, 2, 3, 9, 10]. Однако в доступной литературе недостаточно

¹ Работа выполнена в рамках государственного задания ФАНО России (тема № АААА-А18-118012690123-4).

© Н. И. Силкина, Д. В. Микряков, В. Р. Микряков, А. С. Соколова, 2019

сведений о характере реагирования иммуно-биохимических механизмов поддержания гомеостаза у представителей класса брюхоногих моллюсков, отличающихся от двустворчатых строением, типом питания, местом обитания, поведением. Вместе с тем эти знания необходимы для понимания механизма иммунных и биохимических адаптаций моллюсков к антропогенно-техногенному загрязнению.

Цель работы — выявление закономерностей содержания иммунных комплексов и уровня окислительных процессов у моллюска *R. venosa*, обитающего в различных по антропогенному загрязнению акваториях Кавказского побережья Черного моря.

Рапаны (*Rapana*) — род хищных брюхоногих моллюсков из сем. Muricidae, распространены в морях Тихого и Индийского океанов. Активные хищники, питающиеся мелкими двустворчатыми моллюсками, например мидиями и устрицами, раковины которых они открывают при помощи своей мускульной сильной ноги. Черноморская рапана *R. venosa* — потомок дальневосточной рапаны, которая появилась в Черном море в начале XX века, широко распространена в шельфовой зоне и является объектом промысла [7].

Материал и методика исследований. Материалом для исследования послужили половозрелые особи, отловленные в сентябре — октябре 2007 и 2008 гг. в прибрежных водах Кавказского побережья Черного моря. Моллюсков для исследования отбирали на трех станциях, различающихся по уровню антропогенной нагрузки. Станция I находилась на акватории у пос. Цандрипш (Гагрский р-н, Абхазия) в 10 км от границы с РФ (28 особей); станция II — в районе устья р. Мзымта (Адлерский р-н г. Сочи) (33 особей); станция III — в центральной части акватории порта г. Туапсе (27 особей).

Акваторию в районе станции I, где в воду попадают лишь бытовые сточные воды небольших населенных пунктов и отсутствуют промышленные предприятия, можно считать условно чистой, а районы станций II и III подвержены интенсивному антропогенному воздействию. Прибрежные воды крупного морского грузопассажирского порта г. Туапсе загрязнены нефтью, разными видами топлива, отходами нефтехимической и машиностроительной промышленности, цементного производства, судоремонтного завода, производства стройматериалов и др. Концентрация нефтепродуктов в акватории г. Туапсе более чем в 14,5 тыс. раз превышает ПДК. Кроме этого установлено превышение ПДК по содержанию мочевины, фосфатов, нитратов, синтетических поверхностно-активных веществ (ПАВ), фенолов, сероводорода и др. В устье р. Мзымты зарегистрировано повышенное содержание нефтяных углеводородов (0,15—0,17 мг/м³, или 3,0—3,4 ПДК), ПАВ, нитритов, а также высокий уровень биопотребления кислорода (БПК₅).

Из мышечных тканей ноги при помощи гомогенизатора готовили гомогенат с физиологическим раствором в соотношении 1 : 1. В полученных пробах изучали содержание неспецифических иммунных комплексов (ИК), общих липидов (ОЛ), продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и уровень антиокислительной защиты (АЗ).

Содержание ИК устанавливали спектрофотометрически при длине волны 450 нм методом селективной преципитации с 4%-ным полиэтиленгликолем молекулярной массой 6000. Липиды из тканей ноги экстрагировали и определяли гравиметрически стандартным методом.

Об интенсивности ПОЛ судили по накоплению малонового диальдегида (МДА) — одного из конечных продуктов перекисного окисления. Концентрацию МДА определяли по количеству продуктов ПОЛ, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой и дающих с ней окрашенный комплекс. Интенсивность окрашивания оценивали спектрофотометрически по изменению максимума поглощения при 532 нм. Содержание МДА вычисляли с учетом коэффициента молярной экстинкции ($1,56 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) и выражали в наномолях на 1 г ткани.

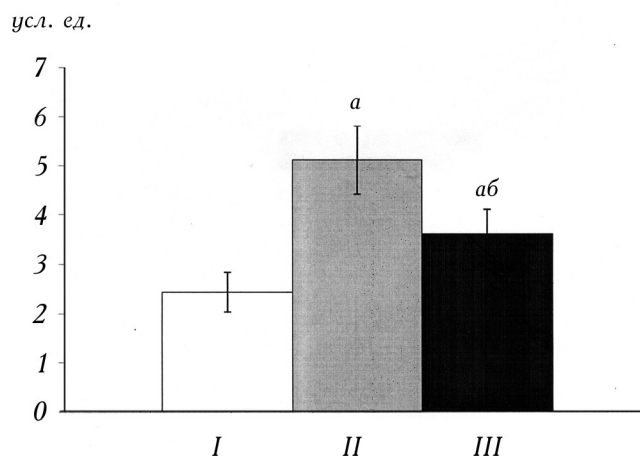
Об уровне АЗ судили по кинетике окисления субстрата восстановленной формы 2,6-дихлорфенолиндофенола кислородом воздуха по общепринятой методике, адаптированной для моллюсков. Сущность метода заключается в том, что чем выше скорость окисления субстрата в присутствии биологического материала, тем ниже содержание антиоксидантов в тканях. Константу ингибирования окисления субстрата (КОС), являющуюся показателем антиокислительной активности ткани, определяли относительно контроля по формуле: $K_i = K_{\text{кон}} - K_{\text{оп}}/C$, где $K_{\text{кон}}$ и $K_{\text{оп}}$ — константы скорости окисления субстрата соответственно в контроле и в опыте, C — концентрация гомената в кювете.

Статистическая и графическая обработка данных проведена с помощью прикладных программ Microsoft Office Excel, Statistica 6.0 с использованием t -теста ($p < 0,05$).

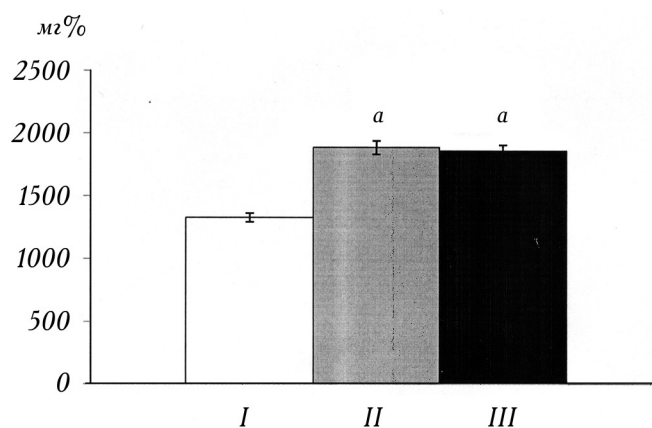
Результаты исследований и их обсуждение

Анализ полученных данных показал, что рапаны, отловленные в районах с высоким уровнем антропогенной нагрузки, по всем исследуемым показателям достоверно отличались от особей из условно чистого района.

Количественные характеристики ИК у моллюсков, отловленных на станциях II и III, превышали аналогичный показатель у особей со станции I (рис. 1). Это свидетельствует о наличии токсикант-индуцируемого патологического процесса у особей, обитающих в загрязненных поллютантами водах. Общеизвестно, что при инфекционных, токсических и аутоиммунных болезнях у человека и животных повышаются ИК, которые формируются в результате взаимодействия антигена и антитела и связанных с ними компонентов системы комплемента. Данные комплексы выполняют важную роль в процессах регуляции иммунных реакций, элиминации ксенобиотиков из организма и поддержании иммунофизиологического гомеостаза. Избыточное содержание ИК наблюдается при насыщении организма чужеродными компонентами, в том числе инфекционными и токсическими агентами, и обусловлено снижением клиринговой функции фагоцитов [5].

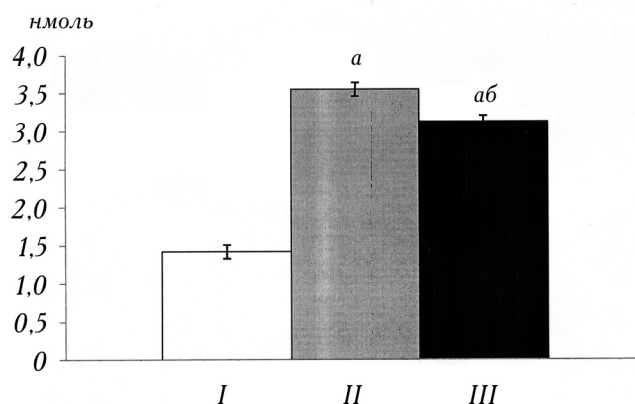


1. Уровень неспецифических иммунных комплексов в мышечных тканях *Rapana venosa*. Здесь и на рис. 2—4: I, II, III — номера станций; a — достоверно относительно станции I; б — достоверно относительно станции II.

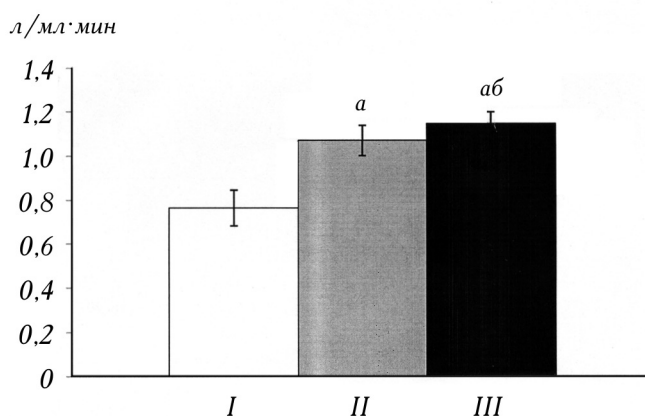


2. Уровень общих липидов в мышечных тканях *Rapana venosa*.

На серьезные нарушения в метаболизме липидов у рапаны со станций II и III указывают высокие показатели содержания ОЛ по сравнению с особями со станции I (рис. 2). Известно, что в организме гидробионтов происходят процессы липидного обмена — липогенез и липолиз. Липогенез — синтез или накопление липидов, а липолиз — процесс расщепление их до глицерина и жирных кислот. Главными факторами липогенеза служат поступающие в организм с пищей липогенные соединения (углеводы, белки, жиры). Высокое содержание ОЛ в мышечных тканях моллюсков обусловлено интенсификацией процессов липогенеза.



3. Концентрация малонового диальдегида в мышечных тканях *Rapana venosa*.



4. Константа окисления субстрата в мышечных тканях *Rapana venosa*.

У рапаны со станций II и III происходит активация процессов ПОЛ и снижение уровня АЗ, на что указывают более высокое содержание МДА и КОС по сравнению с особями со станции I (рис. 3, 4).

Как известно, при неблагоприятных воздействиях в организме гидробионтов происходит интенсификация свободно-радикальных процессов, сопровождающихся накоплением продуктов ПОЛ и дефицитом антиоксидантов [6, 11, 12]. При недостатке антиоксидантов в организме развиваются процессы окислительного стресса, сопровождающиеся нарушением баланса в системе прооксиданты—антиоксиданты. Равновесие в системе ПОЛ — АЗ смещается в сторону усиления ПОЛ. Аналогичные нарушения выявлены у морских двустворчатых моллюсков, обитающих в районах с повышенной антропогенной нагрузкой [3, 8, 9].

Заключение

Проведенные исследования показали зависимость иммунобиохимического статуса рапаны от уровня антропогенного загрязнения прибрежных вод Кавказского побережья Черного моря. Моллюски, обитающие в акватории крупного портового комплекса г. Туапсе и устья р. Мзымта, по сравнению с таковыми Абхазской популяции, отличались высоким содержанием иммунных комплексов, общих липидов, окислительных процессов и низким уровнем антиоксидантов. Используемые показатели могут служить основой при разработке вопросов биомониторинга условий среды обитания и оценки состояния здоровья гидробионтов в экотоксикологических исследованиях.

**

*Наведено результати порівняльного аналізу рівня імунних комплексів, загальних ліпідів та окиснювальних процесів в м'язових тканинах молюска *Rapana venosa*, який мешкає у прибережних акваторіях Чорного моря з різним рівнем антропогенного навантаження. Встановлено підвищений вміст продуктів перекисного окиснення ліпідів, імунних комплексів і низький рівень антиоксидантної активності у особин, яких було відловлено у районах з високим антропогенним навантаженням.*

**

*The results of a comparative analysis of the level of immune complexes, total lipids and oxidative processes in the muscle tissues of the *Rapana venosa* mollusk living in the coastal waters of the Caucasian Black Sea coast with different levels of anthropogenic load are presented. An increased content of lipid peroxidation products, immune complexes and a low level of antioxidant activity in individuals caught in areas with a high anthropogenic load was found.*

**

1. Алехина Г.П., Логинова Е.Г., Мисетов И.А. Иммунологическая реакция пресноводных двустворчатых моллюсков на неблагоприятное воздействие среды // Вестн. Оренбург. гос. ун-та. — 2010. — № 6. — С. 52—54.
2. Гостюхина О.А., Головина И.В. Состояние антиоксидантного комплекса и перекисного окисления липидов в тканях мидии из Севастопольских бухт в ранневесенний период // Экологическая химия. — 2011. — № 20 (4). — С. 211—217.
3. Довженко Н.В., Бельчева Н.Н., Челомин В.П. Реакция антиоксидантной системы мидии Грея *Mytilus grayanus* как индикатор загрязнения прибрежных акваторий (залив Петра Великого в Японском море) // Вестн. Моск. гос. обл. ун-та. Сер. естественные науки. — 2014. — № 4. — С. 57—66.
4. Кравченко Ю.А., Крицкая Е.Б. Современный мониторинг загрязнений Черного моря // Фундаментальные исследования. — 2007. — № 10. — С. 80—98.
5. Логинов С.И., Смирнов П.Н., Трунов А.Н. Иммунные комплексы у животных и человека: норма и патология. — Новосибирск: Сиб. отд-ние РАСХН, 1999. — 144 с.

6. Микряков В.Р., Силкина Н.И., Микряков Д.В. Влияние антропогенного загрязнения на иммунологические и биохимические механизмы поддержания гомеостаза у рыб Черного моря // Биология моря. — 2011. — Т. 37, № 2. — С. 142—148.
7. Перелагов М.В. Современное состояние популяции и особенности биологии рапаны (*Rapana venosa*) в северо-восточной части Черного моря // Тр. ВНИРО. — 2013. — Т. 150. — С. 8—20.
8. Тоцкий В.Н., Ершова О.Н., Топтиков В. А. и др. Состояние антиоксидантной системы у представителей *Rapana venosa* (Valenciennes, 1846), обитающих в разных акваториях Одесского залива (Черное море) // Вестн. Одес. Нац. ун-та. Сер.: Биология. — 2013. — Т. 18, вып. 1 (30). — С. 7—15.
9. Черноморские моллюски: элементы сравнительной и экологической биохимии / Под ред. Г. Е. Шульмана, А. А. Солдатовой, ИнБЮМ НАН Украины. — Севастополь: ЭКОСИ-Гидрофизика, 2014. — 323 с.
10. Чикаловец И.В., Черников О.В., Шехова Е.А. и др. Изменение содержания лектинов в мантии мидии *Mytilus trossulus* в ответ на действие загрязняющих воду веществ // Биология моря. — 2010. — Т. 36, № 1. — С. 70—74.
11. Экотоксикологические исследования прибрежной черноморской ихтиофауны в районе Севастополя / Под ред. И. И. Рудневой. — М.: ГЕОС, 2016. — 360 с.
12. Winston G.W. Oxidants and antioxidants in aquatic animals // Compar. Biochem. and Physiol. C. — 1991. — Vol. 100, N 1—2. — P. 173—176.

Институт биологии внутренних вод РАН,
Борок, РФ

Поступила 05.05.18