

# Изменение элементного состава хрусталика рыб под влиянием тяжелых металлов

А.Л. Бородин, А.В. Горбунов, д-р биол. наук, доцент  
А.Л. Никифоров-Никишин – Кафедра биоэкологии  
и ихтиологии Московского государственного  
университета технологий и управления

В условиях мощного антропогенного давления на окружающую среду проблема сохранения водных экосистем, как наиболее подверженных влиянию промышленного производства и сельского хозяйства, приобретает важное значение. Поллютанты оказывают негативное воздействие как на отдельные организмы водного биоценоза, так и на процессы, протекающие в экосистеме в результате совокупной деятельности входящих в нее гидробионтов, что приводит к нарушению равновесия в водных экосистемах, а иногда и к полной их гибели [Ахмедов А.А., Сладкова С.В., Рыболовлев В.Н., Перевозников М.А. Сравнительная оценка токсичности поллютантов с применением разных способов биотестирования// Эколого-ихтиотоксикологические аспекты мониторинга пресноводных водоемов: Сб. научн. трудов. Вып. 326. С.-Пб.: Изд-во ГосНИОРХ, 2000. С. 131–136].

В последние годы при классификации вредных веществ в группу наиболее опасных токсикантов выделяют ионы тяжелых металлов. Тяжелые металлы обладают не только высокой для гидробионтов токсичностью, но и значительной стабильностью в водной среде и способностью к аккумуляции и трансформации внутри биоценоза водоема [Перевозников М.А., Лащевская Т.И. Рыбы – биоиндикаторы ионов тяжелых металлов// Эколого-ихтиотоксикологические аспекты мониторинга пресноводных водоемов: Сб. научн. трудов. Вып. 326. С.-Пб.: Изд-во ГосНИОРХ, 2000. С. 41–45].

По способности накапливать тяжелые металлы внутренние органы и ткани рыб можно расположить в следующий ряд [Перевозников М.А., Богданова Е.А. Тяжелые металлы в пресноводных экосистемах. С.-Пб., 1999. 228 с.; Зайцев В.Ф., Федорова Н.Н., Курникова Н.П., Шипулин С.В., Абдуллаев М.Ш., Ложниченко О.В. Сравнительное накопление тяжелых металлов у самцов и самок стерляди// Материалы Международной научно-технической конференции. Калининград, 2000. С. 142–143]: скелет > (печень, почки, селезенка) > (кишечник, мозг, гонады, сердце) > мышцы. В наибольшей концентрации тяжелые металлы обнаруживаются в костях скелета, в несколько меньшей – во внутренних органах, и наименьшее их количество приходится на единицу массы мышечной ткани.

Вопрос о накоплении тяжелых металлов зрительной системой рыб исследован в настоящий момент недостаточно полно. Зрительной системе гидробионтов принадлежит значительная, а у многих видов – ведущая роль в осуществлении важнейших поведенческих реакций. У большинства видов рыб и головоногих моллюсков зрение является одним из основных дистантных рецепторов. Оптомоторная реакция – врожденная, зрительно обусловленная форма поведения – отчетливо выражена у многих видов рыб.

В подавляющем большинстве работ, посвященных исследованиям элементного состава хрусталика, объектами исследова-



ния являются хрусталики наземных животных и человека [Rosenthal A.R., Eckhart C. Copper and zinc in ophthalmology. In: Karcioğlu Z.A., Sarper R.M. (eds): Zinc and Copper in Medicine// Springfield: Charles C. Thomas. 1980. P. 579–633; Wen G.Y., Sturman J.A., Wisniewski H.M., McDonald A., Niemann W.H. Chemical and ultrastructural changes in the tapetum of beagles with a hereditary abnormality// Invest Ophthalmol Vis. Sci. 1982, 23. P. 733–742; Eckhart C.D. Elemental concentrations in ocular tissues of various species// Exp. Eye Res. 37, 1983. P. 639–647; Koumantakis E., Alexiou D., Grimanis A., Kaskarelis D., Bouzas A. Zinc, cobalt and selenium concentrations in the premature and full term newborn eye// Ophthalmologica. Basel. 1983, 186. P. 41–46; Bentley P.J., Grubb B.R. Effects of zinc deficient diet on tissue zinc concentrations in rabbits// J. Anim. Sci. 69, 1991. P. 4876–4882; Paterson P.G., Grahn B.H., Fabe J.S. Retinal and lens zinc concentration in the zinc-deficient rat// FASEB J. 1998, No. 12, A. P. 521; Fabe J., Grahn B.H., Paterson P.G. Zinc concentrations of selected ocular tissues in zinc-deficient rats// Biol. Trace Elem. Res. 75, 2000. P. 43–52].

Элементный состав определяется чаще всего атомно-адсорбционными методами; как правило, измеряется общее содержание элементов, оставляя открытым вопрос о пространственном распределении химических элементов в хрусталике.

Нами было изучено изменение пространственного распределения элементов в хрусталике рыб под влиянием четырех тяжелых металлов: меди, цинка, кадмия и свинца. Исследования проводились на молоди радужной форели.

Рыб содержали в 100-литровых емкостях (с аэрацией) в течение 30 дней, смену воды производили один раз в неделю. В качестве действующих факторов были взяты четыре металла: медь, цинк, кадмий и свинец. Опыты проводились по плану полного факторного эксперимента  $3^4$  (четыре фактора на трех уровнях). Функцией отклика являлось изменение содержания семи химических элементов в различных зонах хрусталика. Энуклеированные хрусталики подсушивались на открытом воздухе в течение двух часов, замораживались жидким азотом и раскалывались на две половинки. Определение элементного состава хрусталика проводилось на основе анализа спектра характеристического рентгеновского излучения, полученного методом рентгеновского спектрального микроанализа с использованием анализатора EDAX UTW, установленного на растровом электронном микроскопе Philips XL-30.

Как показали проведенные исследования, по степени накопления исследуемые металлы можно расположить в ряду:  $Cd > Pb > Zn > Cu$ . Медь и цинк накапливаются хрусталиком в меньшей степени, чем кадмий и свинец, что указывает на нали-



чие механизмов, регулирующих содержание в хрусталике физиологически значимых элементов.

Наиболее высокая степень накопления *Cd*, *Zn* и *Cu* наблюдается в переднем секторе коры хрусталика и экваториальной области. Основную часть питательных веществ, необходимых для поддержания нужного уровня метаболизма, хрусталик получает из передней камеры глаза за счет транспорта через капсулу и эпителиальный слой. Внешние волокна коры хрусталика сохраняют еще свои ядра и, по-видимому, способны синтезировать металлотионеины в ответ на повышение концентрации указанных металлов в цитозоле. Цинк и медь обладают способностью связываться с цитоплазматическими белками разной молекулярной массы, хотя известно, что значительные количества цинка и меди могут удерживаться во внутриклеточных гранулах [Карасева Е.М. *Накопление тяжелых металлов в половых железах и соматических органах двустворчатых моллюсков*// «Биология моря», 1993, № 2. С. 66–76].

Регрессионный анализ показывает, что содержание *Cu*, *Zn*, *Cd* и *Pb* во внутренних слоях коры и в ядре хрусталика экспоненциально уменьшается с уменьшением расстояния от центра хрусталика. Волокна внутренних областей хрусталика лишены ядер и большинства клеточных органелл, и, по-видимому, синтез металлотионеинов становится невозможен. Катионы тяжелых металлов проникают во внутренние слои хрусталика в результате диффузии, и их концентрация находится в зависимости от плотности вещества хрусталиковых волокон, которая увеличивается к центру хрусталика.

Как показали результаты корреляционного анализа, на накопление меди значимое влияние оказывают *Cu*, *Cd*, а также взаимодействия факторов *CuZn* и *CuCd*. Выборочный коэффициент корреляции и эмпирическое корреляционное отношение для *Cu* и *Cd* практически совпадают, что позволяет сделать вывод о линейном характере корреляции логарифма концентрации меди в хрусталике с указанными факторами. Параметры уравнения регрессии, описывающего накопление меди хрусталиком, приведены в таблице. В редуцированное уравнение регрессии взаимодействие *CuPb* и *CuZnCd* не было включено, так как выборочный частный коэффициент корреляции (характеризующий влияние фактора при элиминировании действия других факторов) в данном случае не значим.

Накопление цинка находится в прямой зависимости от уровня цинка и кадмия. С ростом уровня кадмия накопление цинка увеличивается. Значимое влияние на накопление цинка оказывает взаимодействие факторов *CuZn* и *ZnCd* (см. таблицу). В то же время накопление кадмия уменьшается при увеличении уровня меди и цинка. Значимое влияние на накопление свинца оказывают уровень свинца и взаимодействие факторов *CuCd*. Уровень кальция уменьшается с ростом действующего уровня цинка и кадмия, в то же время парные взаимодействия факторов *CuCd* и *ZnCd* приводят к увеличению уровня кальция в хрусталике, главным образом, в коре. Кадмий оказывает значимое влияние на изменение уровня хлора в коре и ядре хрусталика: с ростом уровня кадмия в растворе тяжелых металлов количество хлора в хрусталике заметно снижается. При этом другие действующие факторы и их взаимодействия не оказывают значимого влияния на изменение уровня хлора в хрусталике радужной форели. Аналогичным образом свинец влияет на уровень фосфора в коре хрусталика (см. таблицу).

Таким образом, значимые парные эффекты взаимовлияния *Cu*, *Zn* и *Cd*, с одной стороны, и *Pb* – с другой – на накопление их хрусталиком практически отсутствуют. В то же время *Cd* значимо взаимодействует с *Cu*, проявляя высокую степень сенсibilизации. По-видимому, это обстоятельство является следствием того, что кадмий обладает максимальной способностью (по сравнению с другими металлами) вызывать синтез металлотионеинов.

**Результаты регрессионного анализа экспериментальных данных по комплексному влиянию тяжелых металлов на изменение элементного состава хрусталика радужной форели**

	Функции отклика						
	<i>In Cu</i>	<i>In Zn</i>	<i>In Cd</i>	<i>In Pb</i>	<i>In Ca</i>	<i>In Cl</i>	<i>In P</i>
<b>Параметры уравнения регрессии при включении всех факторов и взаимодействий</b>							
Множественный коэффициент детерминации $R^2$	0,8507	0,8913	0,9599	0,8394	0,8879	0,9346	0,9616
<b>Параметры редуцированного уравнения регрессии</b>							
Значение F-статистики	81,663	76,459	331,66	148,8	133,21	878,75	1537,4
Критическое значение F-критерия	$F_{0,01; 4; 76}$ 3,577	$F_{0,01; 4; 76}$ 3,577	$F_{0,01; 4; 76}$ 3,577	$F_{0,01; 2; 76}$ 4,888	$F_{0,01; 4; 76}$ 3,577	$F_{0,01; 1; 79}$ 6,967	$F_{0,01; 1; 79}$ 6,967
Множественный коэффициент детерминации $R^2$	0,8113	0,801	0,9458	0,7923	0,8752	0,9175	0,9511
Факторы и взаимодействия		<b>Вклад фактора в уравнение регрессии по отношению к свободному члену</b>					
1	<i>Cu</i>	7,17		-0,12	-	-	-
2	<i>Zn</i>	-	1,72	-1,95	-	-2,47	-
3	<i>Cd</i>	8,77	0,69	1,89	-	-0,54	-9,92
4	<i>Pb</i>	-	-	-	1,09	-	-25,72
5	<i>CuZn</i>	3,05	0,99	-	-	-	-
6	<i>CuCd</i>	36,49	-	73,88	37,8	12,42	-
7	<i>ZnCd</i>	-	23,49	-	-	16,8	-

Характер взаимодействия *Cd* и *Zn* несколько сложнее. Цинк в больших концентрациях ингибирует накопление *Cd*, проявляя, таким образом, антагонизм во взаимодействии. В то же время на средних уровнях факторов наблюдается синергизм во взаимодействии указанных металлов. Возможно, это связано с влиянием *Zn* на проницаемость клеточных мембран. Как уже отмечалось, около половины от общего количества кадмия, поступающего в клетку, переносится через мембрану по кальциевому каналу, а остальное количество – путем эндоцитоза или путем комплексации самой мембраной [Verboost P.M., Flik G., Lock R.A.C., Bonga S.E. *Wendelaar. Cadmium inhibition of  $Ca^{2+}$  uptake in rainbow trout gills*// *Amer. J. Physiol.* 1987, 253, No. 2. PT2. P. 216–221]. Уменьшение мембранной проницаемости закономерно вызывает уменьшение уровня накопления клетками кадмия.

Аналогичный эффект взаимодействия наблюдается между цинком и кальцием: увеличение концентрации цинка приводит к уменьшению уровня кальция в клеточных волокнах коры хрусталика. Кадмий в высоких концентрациях также приводит к уменьшению уровня *Ca*, что, вероятнее всего, объясняется результатом ингибирования базоплатерального транспорта *Ca*, возникающего при достижении критической внутриклеточной концентрации *Cd*.

**Borodin A.L., Gorbunov A.V., Nikiforov-Nikishin A.L.**

**Change of element composition of fish lens due to heavy metals influence**

*The authors study the change of space distribution of elements in fish lens under influence of four heavy metals: copper, zinc, cadmium, and lead. As a study species, rainbow trout was chosen.*

*By the level of accumulation, the metals may be ranged in the following way: Cd>Pb>Zn>Cu. Since copper and zinc are being accumulated by lens to a lesser degree, the presence of some mechanisms may be stated that control the abundance of physiologically significant elements in lens. The highest contents of cadmium, zinc and copper is noted in frontal sector of cortex lentis and in equatorial area.*