

## ВЛИЯНИЕ ПРОДУКТОВ РАЗЛОЖЕНИЯ ПЛАСТИКА НА МЕХАНИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА МЕМБРАН ГЕМОЦИТОВ *MYTILUS GALLOPROVINCII*

Кальпа В.А.<sup>1,2</sup>, Воронин Д.П.<sup>2</sup>, Лантушенко А.О.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ФИЦ Морской гидрофизический институт РАН

ул. Капитанская, 2, 299011, г. Севастополь, РФ; e-mail: vel.kalpa@gmail.com

<sup>2</sup> Севастопольский государственный университет

ул. Университетская, 33, 299053, г. Севастополь, РФ

Поступила в редакцию: 26.08.2021

**Аннотация.** На данный момент наиболее актуальным является изучение продуктов разложения пластика и их влияния на живые организмы, так как пластик является неотъемлемой частью нашей жизни, но также пока слабо исследовано его поведение при физической диградации. Фталаты по химической структуре являются производными фталевых кислот, по физико-химическим свойствам представляют собой, в основном, малолетучие, высококипящие жидкости, малорастворимые в воде. Они используются в качестве пластификаторов, но также встречаются в косметике, парфюмерии, медицине и т.д., такое широкое использование фталатов обуславливает необходимость оценки их опасности для живых существ на основе анализа и обобщения их воздействия на организмы. В ходе эксперимента было исследовано воздействие фталатов на клетки гемоцитов двустворчатого моллюска *Mytilus galloprovincii*. В работе был сделан вывод о влиянии продуктов разложения пластика на живой организм.

**Ключевые слова:** фталаты, двустворчатый моллюск, пластик, гемоциты.

Средиземноморская мидия (*Mytilus galloprovincialis*) — двустворчатый моллюск из семейства митилид. В настоящее время этот вид распространён на мелководьях морей Атлантического, Индийского и Тихого океанов [1, 2]. Как и другие виды мидий, этот вид склонен к образованию плотных поселений (мидиевых друз), в которых моллюски прикрепляются к твёрдым субстратам (в том числе к раковинам особей того же вида) с помощью биссусных нитей.

Известно, что гемолимфа двустворчатых моллюсков представляет собой защитную транспортную систему кровообращения во внутренней тканевой среде, которая в значительной степени отвечает за поддержание гомеостаза и формирование физиологической адаптации моллюсков к изменяющимся условиям окружающей среды [3].

Изучение физиологических и иммунологических свойств гемолимфы двустворчатых моллюсков имеет большой научный и практический интерес, так как многие из этих моллюсков являются целевыми видами рыбного хозяйства и аквакультуры, широко используются в биоиндикации и экологическом мониторинге, а также могут служить в природе в качестве переносчиков болезней, поражающих, среди прочего, позвоночных животных. Исследования последних десятилетий показали, что состав и динамика популяции гемоцитов двустворчатых моллюсков, а также функциональные свойства циркулирующих клеток очень динамичны и зависят от внутренних (генетических, онтогенетических и физиологических) и внешних (экологические) факторов [3].

### **Осмотическая стойкость гемоцитов.**

По особенностям стратегии адаптации к соленосному стрессу гидробионты подразделяют на осмоконформеров и осморегуляторов. К организмам - осморегуляторам относится большинство видов костистых рыб. Независимо от солёности окружающей среды осмолярность жидких сред организма осморегуляторов остается постоянной, приблизительно на уровне 300–400 мОсмоль/кг. К осмоконформерам относятся миксины, акулы, скаты и двустворчатые моллюски [4].

Среди осмоконформеров особый интерес на данный момент представляют двустворчатые моллюски. Единственный механизм адаптации к соленосному стрессу на организменном уровне у них – изоляция мягких тканей. Кроме этого, осмолярность плазмы моллюсков изменяется вслед за изменением солёности морской воды. Из этого можно сделать вывод, что широкий диапазон солёности толерантности моллюсков должен обеспечиваться за счет клеточных механизмов адаптации. В качестве модельного объекта для проведения исследований в области клеточной осморегуляции моллюсков целесообразно использовать гемоциты. Данный тип клеток выполняет функцию транспорта, заживления тканей, пищеварения и иммунного ответа [4].



Рисунок 1. *Mytilus galloprovincialis*, 1819

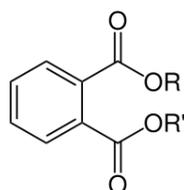


Рисунок 2. Структурная формула фталевой кислоты

### **Фталаты и их влияние на гидробионтов.**

По химической структуре фталаты – производные от фталевых кислот, по физико-химическим свойствам они представляют собой, малолетучие, высококипящие жидкости, малорастворимые в воде [5]. Вследствие уникальных эксплуатационных характеристик, эти вещества широко применяются в различных отраслях хозяйства в качестве пластификаторов в составе разнообразных полимерных материалов (в косметике, медицине, в производстве игрушек, обуви, строительных материалов и др.). Столь широкое использование фталатов определяет необходимость оценки их опасности для живых существ на основе анализа и обобщения весьма разрозненных данных о токсическом действии этих соединений [5].

Также известно, что фталаты с числом атомов углерода до 6 являются более токсичными по сравнению с соединениями, содержащими более 6 атомов углерода в молекуле. Параметры острой ингаляционной токсичности для большинства соединений фталевых кислот не установлены в связи с их низкой летучестью. В условиях длительного воздействия на организм, фталаты способны накапливаться и вызывать хроническую интоксикацию, иногда с летальным исходом [5]. Общетоксическое действие этих веществ характеризуется политропностью: нарушаются трофические процессы, функции печени, почек, системы крови, ЦНС. Некоторые из них хорошо проникают через неповрежденную кожу. Среди производных фталевых кислот наиболее выраженным токсическим действием обладают диметилфталат и диметилтерефталат (первые члены ряда фталатов с 2 атомами углерода в молекуле).

На сегодняшний день очевидно, что с момента появления пластика в 1950-х годах 20 века мировое производство пластмасс быстро растет. В настоящее время пластмассы составляют в среднем 75% морского мусора [6]. Пластиковые отходы перемещаются на большие расстояния за счет океанических течений, распадаются на мелкие кусочки (микропластик) и накапливаются. Пластмассовые отходы распространены во всех водах Мирового океана в силу своих универсальных свойств и повсеместного использования в хозяйственной деятельности. Распадающиеся пластмассовые отходы наносят не только физический, но и токсикологический вред живым организмам всех уровней трофической цепи [5].

## **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

Эксперимент проводился на базе ФИЦ ИнБЮМ им. Ковалевского и ЦКП «Молекулярная структура вещества» СевГУ. В течение 7 дней моллюски содержались в десятилитровых аквариумах с проточной морской водой, по 15 штук в каждом. После акклиматизации к лабораторным условиям мидии использовались в эксперименте. В первом аквариуме концентрация фталатов была 0,4 мг/л, данная концентрация уже встречается в природе; во втором аквариуме концентрация фталатов была в 10 раз больше, то есть 4 мг/л. Отбор гемолимфы осуществлялся после суточного пребывания моллюсков в аквариумах с добавлением фталатов.

Важно отметить, что параллельно с данным исследованием по осмотической стойкости было проведено исследование жизнестойкости гемоцитов с помощью проточного цитометра на базе ФИЦ ИнБЮМ, результаты которого коррелируют с данным исследованием [7].

Эксперимент по осмотической стойкости проводился с помощью лазерного анализатора частиц «Ласка-ТМ» (Биомедицинские системы, Россия) в ЦКП «Молекулярная структура вещества». Для оценки объема клеток использовался метод малоуглового светорассеяния.

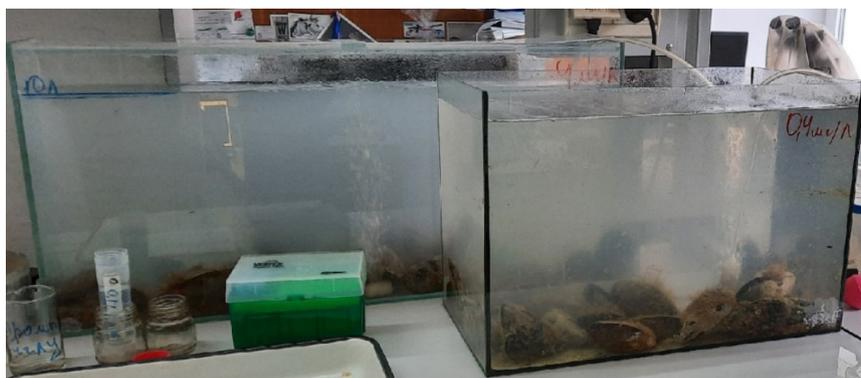


Рисунок 3. Используемые в исследовании мидии в экспериментальных аквариумах

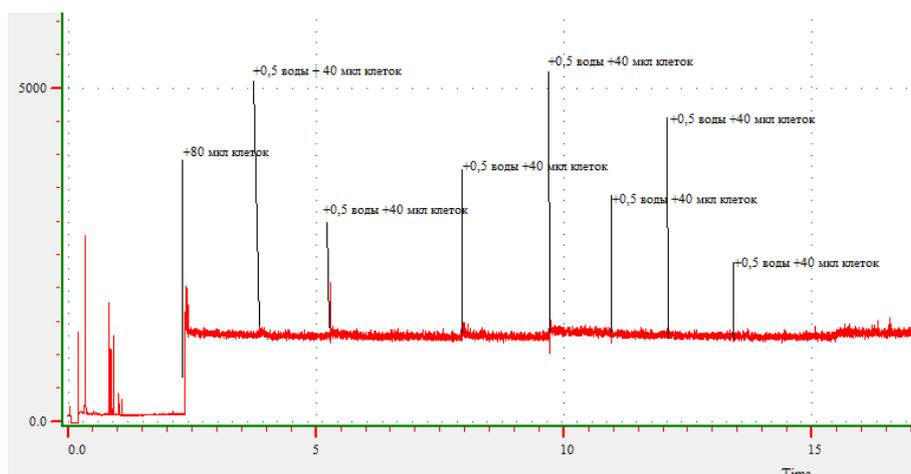


Рисунок 4. Светорассеяние суспензии гемоцитов при изменении осмолярности среды

На второй день эксперимента в аквариуме с меньшей концентрацией фталатов около половины моллюсков погибло, в аквариуме с большей концентрацией выживших не было. В ходе исследований осмотической стойкости гемоцитов выживших моллюсков было выявлено, что данные клетки не изменяли свой объем при повышении осмотического давления, и, по-видимому, воздействие фталатов привело к их гибели.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБУЖДЕНИЕ

В рамках данного исследования был проведен осмотест при помощи лазерного анализатора «Ласка-ТМ». К раствору гемоцитов, изначально находящихся в морской воде, постепенно добавлялась дистиллированная вода и клеточная суспензия. При этом концентрация клеток поддерживалась постоянной, а внутриклеточное осмотическое давление возрастало. Объем клеток при этом не изменялся (рис. 4), что свидетельствовало о потере упругих свойств клеточных мембран и гибели гемоцитов. Данный вывод коррелирует с результатами, полученными при анализе жизнестойкости гемоцитов моллюсков методами проточной цитометрии.

Таким образом, благодаря проведённому эксперименту, можно сделать вывод о губительном воздействии фталатов на гемоциты мидий *Mytilus galloprovincialis*, которые являются природными фильтратами.

### Список литературы / References:

1. Супрунович А.В., Макаров Ю.Н. *Культивируемые беспозвоночные. Пищевые беспозвоночные: мидии, устрицы, гребешки, раки, креветки*. Киев: Наукова Думка, 1990. [Suprunovich A.V., Makarov Yu.N. *Cultivated invertebrates. Food invertebrates: mussels, oysters, scallops, crayfish, shrimps*. Kiev: Naukova Dumka, 1990. (In Russ.)]
2. Гаевская А.В. *Паразиты, болезни и вредители мидий*. Ч. I, II. Севастополь, 2006. [Gaevskaya A.V. *Parasites, diseases and pests of mussels*. Part I, II. Sevastopol, 2006. (In Russ.)]
3. Анисимова А.А. Морфофункциональные параметры гемоцитов в оценке физиологического состояния двустворчатых моллюсков. *Биология моря*, 2013, т. 39, № 6, с. 389-399. [Anisimova A.A. Morphofunctional parameters of hemocytes in the assessment of the physiological state of bivalve molluscs. *Biology of the Sea*, 2013, vol. 39, no. 6, pp. 389-399. (In Russ.)]
4. Кладченко Е.С., Андреева А.Ю. Осмотическая стойкость гемоцитов двустворчатого моллюска *Anadara kagoshimensis* (Bruguiere, 1789). *Современная гидробиология: глобальные проблемы Мирового океана: материалы XI Всерос. онлайн-школы-семинара для молодых ученых, студентов и аспирантов*, г. Севастополь: ФИЦ ИнБЮМ, 2020, с. 14-15. [Kladchenko E.S., Andreeva A.Yu. Osmotic resistance of hemocytes of the bivalve mollusk *Anadara kagoshimensis* (Bruguiere, 1789). *Modern hydrobiology: global problems of the World Ocean: materials of the XI All-Russian. online school-seminar for young scientists, students and graduate students*, Sevastopol: FITs InBYuM, 2020, pp. 14-15. (In Russ.)]
5. Шкаева И.Е., Солнцева С.А., Никулина О.С., Николаев А.И., Дулов С.А., Земляной А.В. Токсичность и опасность фталатов. *Токсикологический вестник*, 2019, т. 6, № 159, с. 3-9. [Shkayeva I.E., Solntseva S.A., Nikulina O.S., Nikolaev A.I., Dulov S.A., Zemlyanoy A.V. Toxicity and hazard of phthalates. *Toxicological Bulletin*, 2019, vol. 6, no. 159, pp. 3-9. (In Russ.)]
6. Данишевский С.Л. *Сложные эфиры*. В кн.: Лазарев Н.В., ред. *Вредные вещества в промышленности*. Л.: Химия; 1971; т. 1, с. 480-482. [Danishevsky S.L. *Esters*. In the book: Lazarev N.V., ed. *Harmful substances in industry*. L.: Chemistry; 1971; vol. 1, pp. 480-482. (In Russ.)]
7. Ткачук А.А., Андреева А.Ю., Кладченко Е.С. Влияние продуктов разложения пластика в океане (фталатов) на функциональные показатели черноморской мидии (*Mytilus Galloprovincialis*). Конференция: *Современная гидробиология: глобальные проблемы мирового океана*, Севастополь, 28 сентября - 02 2020 года. [Tkachuk A.A., Andreeva A.Yu., Kladchenko E.S. Influence of plastic decomposition products in the ocean (phthalates)

on the functional parameters of the Black Sea mussel (*Mytilus Galloprovincialis*). Conference: *Modern Hydrobiology: Global Problems of the World Ocean*, Sevastopol, September 28 - 02 2020. (In Russ.)]

**THE EFFECT OF PLASTIC DECOMPOSITION PRODUCTS ON THE MECHANICAL PROPERTIES OF HEMOCYTE MEMBRANES OF MYTILUS GALLOPROVINCII**

**Kalpa V.A.<sup>1,2</sup>, Voronin D.P.<sup>2</sup>, Lantushenko A.O.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> Marine Hydrophysical Institute of RAS

*st. Kapitan, 2, 299011, Sevastopol, Russia; e-mail: vel.kalpa@gmail.com*

<sup>2</sup> Sevastopol State University

*st. Universitetskaya, 33, 299053, Sevastopol, Russia*

**Abstract.** At the moment, the most relevant is the study of plastic decomposition products and their impact on living organisms, since plastic is an integral part of our life, but its behavior during physical degradation has also been poorly studied. Phthalates by their chemical structure are derivatives of phthalic acids, by their physico-chemical properties they are mainly low-volatile, high-boiling liquids, poorly soluble in water. They are used as plasticizers, but are also found in cosmetics, perfumes, medicine, etc.,. Such a wide use of phthalates makes it necessary to assess their danger to living beings based on the analysis and generalization of their effects on organisms. During the experiment, the effect of phthalates on the hemocyte cells of the bivalve mollusk *Mytilus galloprovincii* was clearly shown. The conclusion was made about the effect of plastic decomposition products on a living organism.

**Key words:** *phthalates, bivalve mollusk, plastic, hemocytes.*