



## Физиологические эффекты полициклических ароматических углеводородов (ПАУ) в организме рыб

Т.С. Филатова\* , Д.В. Абрамочкин 

*Кафедра физиологии человека и животных, биологический факультет,  
Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,  
Россия, 119234, г. Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12*

*\*e-mail: filatova@mail.bio.msu.ru*

Каждый год в морские воды в результате аварий при добыче или транспортировке попадает более 1 млн тонн нефти – не считая нефтепродуктов, попадающих в океан со сточными водами. Канцерогенное действие таких компонентов нефти как бензапирен было известно с середины прошлого века. Однако после крупного разлива нефти с танкера «Eхxon Valdez» в 1989 г. стало очевидно, что нефть и ее составляющие оказывают сильное токсическое влияние на организм рыб, причем в значительной степени эти эффекты обусловлены действием полициклических ароматических углеводородов (ПАУ) – в частности, фенантрена. В наибольшей степени от разливов нефти страдает молодь рыб, у которой при контакте с нефтепродуктами наблюдаются аномалии развития – но влияние компонентов нефти не ограничивается тератогенными эффектами и распространяется на все возрастные когорты, вызывая у взрослых особей нарушения в функционировании нервной и сердечно-сосудистой систем и других органов, а также изменяет гормональную и осмотическую регуляцию. Как итог, наиболее крупные разливы нефти ставят под угрозу популяции важных промысловых видов рыб. Данный обзор рассматривает влияние ПАУ на физиологию основных систем органов рыб, включая как нарушения их функции, так и мальформации у молодых особей под действием нефтепродуктов. Особое внимание уделяется кардиотоксическим эффектам ди- и трициклических ПАУ, открытым недавно и потенциально являющимся не только причиной смерти животных при попадании ПАУ в водоемы, но и лежащим в основе нарушений развития.

**Ключевые слова:** рыба, нефть, полициклические ароматические углеводороды, фенантрен, сердце, токсикология

DOI: 10.55959/MSU0137-0952-16-78-3-2

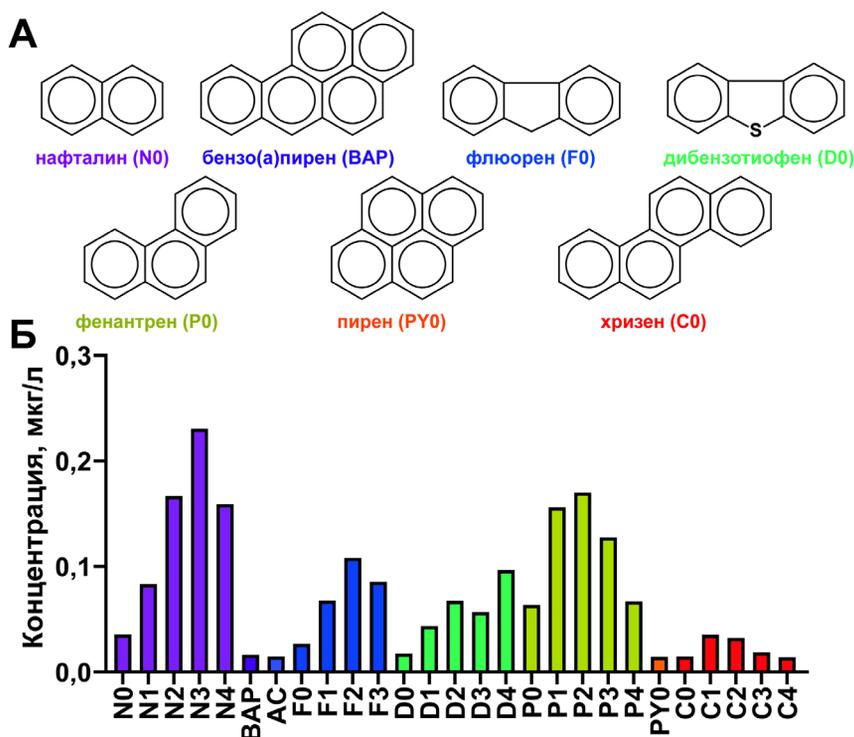
### Введение

Загрязнение Мирового океана наряду с загрязнением атмосферы и глобальным потеплением является серьезной угрозой биоразнообразию флоры и фауны. Одними из важных агентов загрязнения являются ископаемые углеводороды – нефть и ее производные. Наиболее заметным источником нефтепродуктов в мировом океане являются разливы нефти при авариях во время добычи или транспортировки нефти. По последним оценкам каждый год в воды морей попадает около 1,3 млн тонн нефти, что неизбежно приводит к крайне неблагоприятным экологическим и экономическим последствиям [1, 2]. Наиболее очевидным это стало после разлива нефти с танкера

«Eхxon Valdez» в заливе Принца Уильяма в 1989 г. Разлив нефти совпал с периодом нереста в этой области тихоокеанской сельди (*Clupea pallasii*) и горбуши (*Oncorhynchus gorbuscha*), являющихся основой рыбного промысла на Аляске, и вызвал многочисленные нарушения развития и повышенную смертность у эмбрионов и мальков рыб [3–5]. Это, в свою очередь, послужило толчком к более детальному изучению влияния нефти и ее компонентов на организмы позвоночных животных, в том числе рыб. Последние, помимо большого экономического значения для рыболовной отрасли во многих странах, являются также важными модельными объектами для изучения тех или иных токсических эффектов [6].

Впервые влияние нефти на развитие эмбрионов и мальков рыб было исследовано в середине прошлого века. Пионерские работы показали, что воздействие водорастворимой фракции нефти в низких концентрациях приводит к нарушениям развития различных органов и тканей, а при повышении концентрации вызывает смерть до окончания эмбрионального развития [7, 8]. После аварии на танкере «Eхxon Valdez» число исследований в этой области резко выросло. Перед исследователями встал вопрос не только об эффектах нефти в организмах рыб и опосредующих их механизмах, но и о том, какие именно компоненты нефти являются токсичными. Нефть является сложной смесью углеводородов различных групп – однако, несмотря на то что состав нефти может варьировать в зависимости от ее происхождения [6], влияние разных марок нефти на организм различных видов рыб – как морских, так и пресноводных – оказывается весьма сходным [10–15]. Это позволило предположить, что эффекты нефти связаны с неким ограниченным набором водорастворимых молекул, которые становятся биодоступными при контакте нефти с водой. В качестве таких агентов были предложены полиароматические углеводороды (ПАУ, также известны как полициклические ароматические углеводороды) – относительно низкомолекулярные и ограниченно растворимые в воде вещества в составе нефти, обладающие характерной химической структурой. Это органические соединения, содержащие в своей структуре

два или более конденсированных бензольных колец. ПАУ подразделяют на «легкие», содержащие в своей структуре не более трех бензольных колец, и «тяжелые», включающие четыре кольца и более. Это разделение ПАУ в зависимости от их структуры и молекулярного веса отражает различия в их физико-химических свойствах, биодоступности, токсичности – и, как выяснилось, в механизмах их влияния на живые организмы [16]. Большинство ПАУ могут содержать алкильные группы, что влияет на их растворимость, стабильность и на взаимодействие с тканями организма. До недавнего времени токсический потенциал алкилированных гомологов ПАУ практически не был исследован. К «легким» ПАУ относят нафталин, фенантрен, флуорен, антрацены, флюорантены и их алкилированные гомологи, к «тяжелым» – пирен, хризен, бензапирен, бензофлюорантен, коронен и другие. Основные классы ПАУ, содержащиеся в нефти, их молекулярная структура и концентрация в водной среде после разлива нефтепродуктов отражены на рис. 1. Стоит отметить, что помимо разливов нефти при ее транспортировке или добыче, важным источником ПАУ в водоемах являются ливневые стоки, приносящие воду от населенных пунктов и автодорог – они тоже могут быть смертельно опасны для водных организмов. Показано, что ливневые стоки с крупных автомобильных трасс, не прошедшие фильтрацию и очистку, являются причиной возросшей смертности у кижуча (*Oncorhynchus kisutch*) [17].



**Рис. 1.** Структура ПАУ и их содержание в нефти. А – молекулярная структура основных представителей ПАУ. Б – содержание ПАУ в водорастворимой фракции нефти после разлива с платформы «Deepwater Horizon» в 2010 г. Цветовой код названий соединений на панели А соответствует цветам столбцов на панели Б. Цифровые индексы обозначают число метильных групп. По данным, представленным Дж.П. Инкардоной и соавт. [1].

### Эффекты тетра- и пентациклических ПАУ

В течение многих лет изучение токсикологии ПАУ было сфокусировано на исследовании действия «тяжелых» полициклических ПАУ, наиболее распространенным из которых является бензапирен. В большинстве своем «тяжелые» ПАУ, образующиеся при сгорании органических веществ, известны как сильные мутагены и канцерогены [18]; кроме того, они демонстрируют сильный тератогенный эффект. Первые свидетельства тому появились в середине прошлого века, когда при развитии химической промышленности, в особенности органического синтеза, и, соответственно, попадании в водоемы ПАУ наблюдаемые у рыб неоплазии приобрели характер эпизоотии [19]. Наиболее выраженное действие эти соединения оказывают на развивающиеся организмы. Более детальные исследования Дж. Э. Хоуз и соавт. показали, что высокомолекулярные ПАУ – в частности, бензапирен – даже в низких концентрациях (порядка нескольких нг/мл) вызывают нарушения деления клеток и, как следствие, серьезные мальформации органов и патологии тканей у эмбрионов и мальков рыб. У молоди рыб, подвергшейся воздействию бензапирена в ходе эмбрионального развития, была снижена выживаемость, также были отмечены такие нарушения развития как искривления позвоночника, деформация черепа, гидроцефалия, костные шпоры, микрофтальм; на тканевом уровне наблюдались кариопикноз и вакуолизация клеток в различных тканях [20–22]. Поскольку сходные нарушения развития наблюдались и при воздействии сырой нефти [23, 24], в течение долгого времени токсическое воздействие нефти связывали именно с бензапиреном.

Механизм действия высокомолекулярных полициклических ПАУ (включая бензапирен) связан со специфическим транскрипционным фактором, участвующим в метаболизме ксенобиотиков – рецептором арилуглеводородов (AhR) [25]. У костистых рыб из-за дубликации генома существует две изоформы AhR [26], но, по всей видимости, ПАУ в организме рыб связываются со второй изоформой рецептора [27]. Так, было показано, что нокадаун гена AhR2 подавляет тератогенные эффекты ПАУ и их галогенированных гомологов [28, 29]. «Тяжелые» ПАУ, будучи липофильными соединениями, пассивно проникают через клеточную мембрану и связываются с AhR. Это приводит к формированию молекулярного комплекса, который может связываться с ДНК и индуцировать экспрессию генов, продукты которых участвуют в метаболизме чужеродных веществ – например, цитохромы P4501A (*сyp1a*) и P4501B (*сyp1b*) [30]. В течение долгого времени считалось, что липофильные ПАУ при этом превращаются в более гидрофильные соединения, что способствует их экс-

креции [31] – однако образующиеся в результате этих реакций метаболиты могут быть достаточно химически активными: они могут участвовать в реакциях алкилирования органических макромолекул и действовать как канцерогены [32, 33]. Тем не менее, некоторые исследования ставят возможную роль этого сигнального пути под сомнение – было показано, что тератогенный эффект ПАУ, хоть и опосредован AhR2, не зависит от индукции цитохромов P450 [34]. По всей видимости, мальформации, вызванные действием ПАУ через AhR2, связаны с подавлением экспрессии важных для развития транскрипционных факторов – таких как *foxm1* и *bmpr1a* [35], но механизм этих процессов пока не раскрыт.

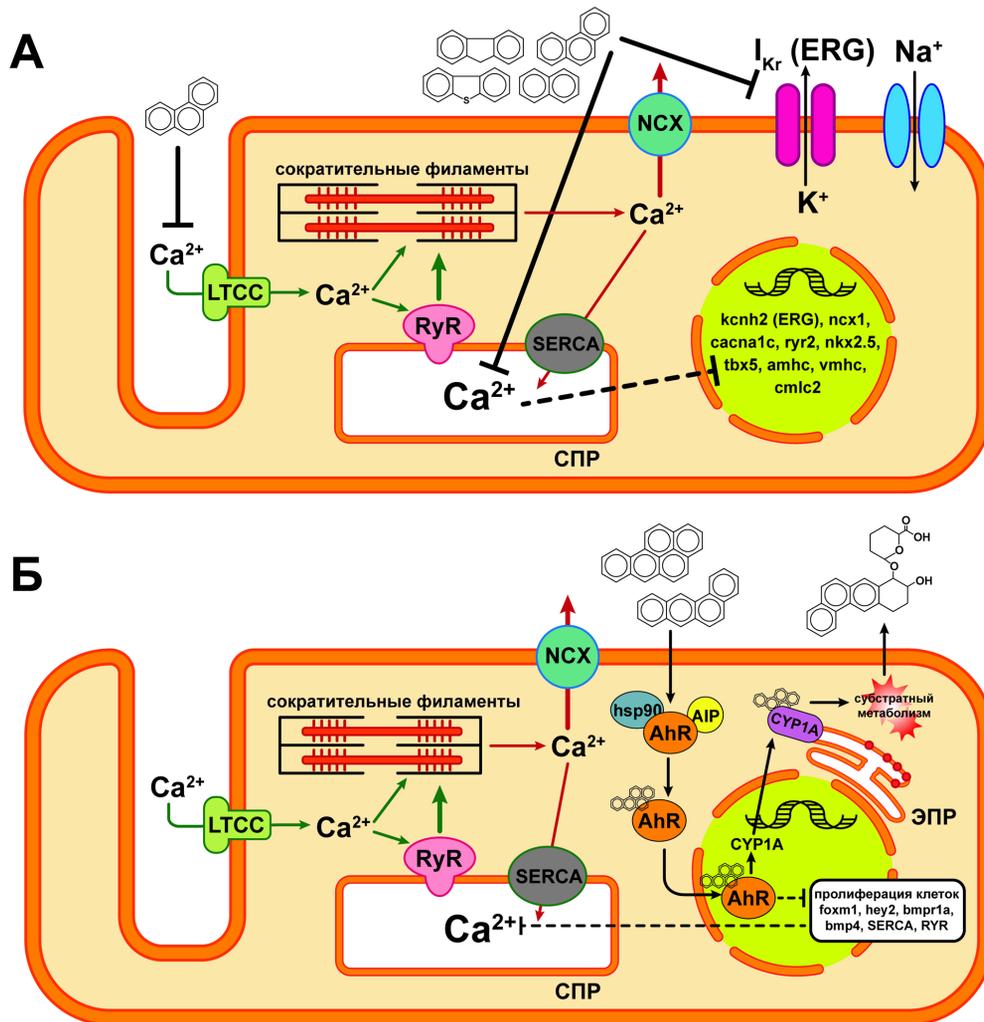
Среди содержащихся в нефти ПАУ, тем не менее, преобладают не «тяжелые», а «легкие», ди- и трициклические ПАУ (рис. 1Б) – такие как нафталин и фенантрен [16]. Эти соединения являются слабыми лигандами для AhR [36], поэтому до определенного момента их вклад в опосредование токсических и тератогенных эффектов нефти практически не был оценен. После разлива нефти с танкера «Eхxon Valdez» в 1989 г. роль низкомолекулярных ПАУ стала более очевидной. Низкомолекулярные ди- и трициклические ПАУ обладают более высокой растворимостью в воде и быстро перемещаются в водную фракцию при попадании нефтепродуктов в водоем [37]. В работах С.Д. Райс и соавт. было показано, что при выветривании нефти с течением времени после разлива ее состав изменяется таким образом, что доля трициклических ПАУ возрастает [38, 39]. Таким образом, фокус исследований токсических и тератогенных эффектов компонентов нефти сместился в сторону низкомолекулярных ПАУ. Многочисленные работы, проведенные на различных видах рыб, показали, что нефть (в том числе выветренная) вызывает у эмбрионов и мальков рыб характерный мальформационный синдром: в первую очередь наблюдается накопление избытка жидкости в перикардимальной полости и желточном мешке (асцит) [40, 41], нарушение формирования сердца [38, 39], дефекты развития челюстей и глаз, искривление позвоночника [11]. Последующие лабораторные исследования, проведенные на данио-рерио (*Danio rerio*), показали, что отдельные трициклические ПАУ – а именно, фенантрен, флуорен и пирен – вызывают у мальков сходные нарушения развития, причем фенантрен демонстрирует более высокую токсичность по сравнению с «тяжелыми» полициклическими ПАУ [42, 43]. Более того, в исследовании группы Дж.П. Инкардоны было продемонстрировано, что токсичность сложных смесей ПАУ (к которым можно отнести нефть) зависит от содержания в них трициклических соединений, а именно фенантрена [42]. Другими исследователями было показано, что эмбрионы и мальки рыб на определенных стадиях развития за счет липофильности

компонентов нефти и высокой проницаемости покровов тела способны накапливать в своих тканях ПАУ, включая фенантрен, до микромолярных концентраций, что усугубляет токсическое воздействие этих соединений [44]. Нужно отметить, что не только молодь, но и взрослые особи промысловых видов рыб демонстрируют накопление ПАУ в тканях организма, что ставит вопрос о безопасности подобной пищевой продукции для здоровья человека [45]. Механизм действия «легких» ПАУ оказался независим от AhR: нокдаун компонентов сигнального пути, связанного с AhR, не влиял на эффекты выветренной нефти, содержащей большое количество «легких» ПАУ [11]. С другой стороны, воздействие трициклических ПАУ, в частности, фенантрена, вызывает индукцию цитохрома P4501A в различных тканях [46], а подавление экспрессии гена *sup1a* повышает чувствительность дапто-рерио к токсическим эффектам ПАУ [47], что может свидетельствовать о возможной роли этого

белка в метаболизме «легких» ПАУ. Предполагаемые пути действия «легких» и «тяжелых» ПАУ, опосредующие AhR-зависимые и AhR-независимые эффекты, просуммированы на рис. 2.

### Кардиотоксичность ПАУ

Важной вехой в изучении токсичности нефти и содержащихся в ней ПАУ стало обнаружение их кардиотоксичности. Было показано, что у эмбрионов рыб вскоре после формирования сердца и установления ритма сердечных сокращений выветренная нефть (содержащая большое количество фенантрена и его производных) вызывает замедление сердечного ритма и увеличение вариабельности длительности диастолических интервалов, то есть вызывает аритмии, вплоть до атрио-вентрикулярного блока проведения, а также снижает сердечный выброс. Важно отметить при этом, что наблюдаемые нарушения в работе сердца предшествовали нарушениям развития [48].



**Рис. 2.** Предполагаемые механизмы действия ПАУ. А – AhR-независимые кардиотоксические эффекты «легких» ди- и трициклических ПАУ (таких как нафталин и фенантрен). Б – возможный AhR-зависимый механизм действия полициклических «тяжелых» ПАУ (таких как хризен и бензапирен). AhR – арилуглеводородный рецептор; LTCC – кальциевые каналы L-типа; ЭПР – эндоплазматический ретикулум; СПР – саркоплазматический ретикулум; RyR – рيانодиновые рецепторы; SERCA – кальциевая помпа СПР; NCX – натрий-кальциевый обменник; I<sub>Kr</sub> – быстрый калиевый ток задержанного выпрямления; CYP1A – цитохром P450 1A.

Дальнейшие исследования позволили более подробно раскрыть ионные и молекулярные механизмы действия ПАУ на сердце рыб. В масштабной работе, проведенной группой под руководством Дж.П. Инкардоны на изолированных кардиомиоцитах различных видов тунцов, было наглядно продемонстрировано изменение электрической активности клеток под действием нефти различного происхождения. В первую очередь исследователи обратили внимание на снижение в присутствии водной фракции нефти амплитуды быстрого тока задержанного выпрямления  $I_{Kr}$ , являющегося основным реполяризирующим током в миокарде костистых рыб [49]. Подавление тока  $I_{Kr}$  было подтверждено в последующей работе этой же научной группы, рассматривающей действие отдельных ПАУ: было выявлено, что фенантрен в концентрации 5 мкМ подавляет  $I_{Kr}$  в кардиомиоцитах тунца более чем на 50% [50]. Ингибирование тока  $I_{Kr}$  фенантеном было показано для кардиомиоцитов различных видов рыб, в том числе пресноводных [51–54] – причем сравнение концентраций полунингибирования показывает, что, вероятно, разные виды животных могут иметь различную чувствительность к негативным эффектам ПАУ. До недавнего времени механизм воздействия фенантрена на ток  $I_{Kr}$  был неизвестен. Недавняя работа Э. Аль-Мубарака и соавт. с использованием мутантных каналов ERG, переносящих ток  $I_{Kr}$  в клетках позвоночных животных, показали, что наиболее вероятным механизмом является прямое связывание фенантрена с поробразующими субъединицами канала в определенных сайтах внутри поры [55]. Принимая во внимание тот факт, что каналы ERG и опосредуемый ими ток  $I_{Kr}$  являются важными, если не критическими, участниками в реполяризации миокарда человека [56], ПАУ могут быть связаны с определенной долей случаев приобретенных аритмий – например, синдрома длинного интервала QT.

Недавние исследования научных групп Д.В. Абрамочкина и М. Ворнанена также показали, что ПАУ способны ингибировать в миокарде рыб быстрый натриевый ток  $I_{Na}$ , опосредующий деполяризацию миокарда в ходе генерации потенциалов действия (ПД), причем для разных видов рыб характерна разная чувствительность  $I_{Na}$  к действию ПАУ – так, натриевый ток в миокарде радужной форели (*Oncorhynchus mykiss*) практически нечувствителен к фенантрено и ретену, тогда как в кардиомиоцитах европейского керчака (*Myoxocephalus scorpio*) фенантрен в концентрации 10 мкМ подавляет  $I_{Na}$  более чем наполовину [52–54]. Подавление натриевого тока влечет за собой снижение скорости проведения возбуждения по миокарду, что провоцирует аритмии.

Помимо прочего, ПАУ – и в особенности фенантрен – нарушают круговорот ионов кальция и электромеханическое сопряжение в миокарде

рыб. Так, М.О. Айнеруа и соавт. показали, что фенантрен снижает силу сокращений полосок желудочкового миокарда [51]. На клеточном уровне влияние ПАУ и водной фракции нефти выражается в снижении амплитуды кальциевых транзиев, отражающих вход  $Ca^{2+}$  в цитоплазму из внешней среды и из кальциевых депо саркоплазматического ретикулума (СПР). Отчасти это происходит за счет подавления входа  $Ca^{2+}$  через сарколеммальные кальциевые каналы L-типа, опосредующие ток  $I_{CaL}$ , отчасти – за счет ингибирования кальциевой помпы SERCA, закачивающей  $Ca^{2+}$  в СПР, и подавления выхода  $Ca^{2+}$  из СПР через рианодиновые рецепторы [49–52]. В сумме, это с высокой долей вероятности ведет к ухудшению сократимости сердца и его производительности, что было подтверждено экспериментально: даже кратковременное (24 ч) воздействие сырой нефти приводило к снижению ударного объема и сердечного выброса у молодых особей махи-махи (*Coryphaena hippurus*) [57].

В большинстве опубликованных и перечисленных выше исследований ПАУ и нефть вызывали выраженное увеличение длительности потенциалов действия на уровне 90% реполяризации [49, 52, 53] – то есть, ПД приобретали «треугольную» форму, что является важным предвестником аритмических событий [58]. В основе этого, по всей видимости, лежит подавление тока задержанного выпрямления  $I_{Kr}$ , опосредующего реполяризацию миокарда рыб. С другой стороны, подавление кальциевого тока  $I_{CaL}$  под действием ПАУ является фактором, укорачивающим ПД, и суммарное изменение конфигурации ПД в миокарде рыбы зависит от чувствительности токов  $I_{Kr}$  и  $I_{CaL}$  к действию ПАУ. Так, в миокарде данио-рерио фенантрен вызывал укорочение ПД за счет более выраженного подавления кальциевого тока, уменьшая таким образом длительность рефрактерного периода и увеличивая вероятность возникновения внеочередных, проаритмических ПД [59]. В кардиомиоцитах радужной форели одновременное подавление токов  $I_{Kr}$  и  $I_{CaL}$  фенантеном оказывали противоположное действие на длительность ПД, конфигурация электрической активности не менялась. С другой стороны, алкилированный гомолог фенантрена, ретен, вызывал укорочение ПД за счет меньшей выраженности подавления тока  $I_{Kr}$  [54]. Таким образом, влияние ПАУ на электрическую активность миокарда рыб не только видоспецифично, но также зависит от молекулярной структуры конкретного ПАУ. Нужно отметить, что помимо этих факторов влияние ПАУ в некоторой степени определяется условиями окружающей среды – например, температурой, что особенно важно ввиду неуклонно нарастающей среднегодовой температуры воды и воздуха. С одной стороны, повышенная температура способствует разрушению и испарению ПАУ

и может ослабить их неблагоприятное воздействие на организмы животных [60]. С другой стороны, исследования на полярной тресочке (*Boreogadus saida*), стенотермном виде рыб, являющемся одним из ключевых компонентов пищевых цепей в морях Арктики, показали, что повышение температуры окружающей среды даже на несколько градусов усиливает токсическое действие нефти — увеличивается частота встречаемости мальформаций и смертность у мальков, у взрослых животных наблюдается более высокая экспрессия белков-маркеров, в частности гена цитохрома *cyp1a* [61, 62]. Это значительно повышает риски для фауны в арктических водах при разливах транспортируемой по Северному морскому пути нефти.

### Нарушения развития сердца под действием ПАУ

За нарушениями электрической активности сердца при воздействии ПАУ следуют нарушения в его развитии. Отчасти они вызваны влиянием ПАУ на экспрессию различных генов — например, было показано, что сырая нефть нарушает временной ход экспрессии костных морфогенетических белков, *bmp4* и *bmp10*, важных факторов роста [63], а также генов легкой (*cmlc2*) и тяжелой (*amhc*, *vmhc*) цепей миозина и транскрипционных факторов *nkx2.5* и *tbx5* [64], что влечет за собой неблагоприятные изменения в ходе кардиогенеза. Помимо генов, ответственных за формирование сердца, ПАУ в составе нефти влияют на экспрессию других генов — например, генов порообразующей субъединицы каналов ERG (*kcnh2*) и натрий-кальциевого обменника (*ncx1*) [65]. То есть, ПАУ не только вызывают проаритмические изменения в электрической активности сердца рыб, но и провоцируют долговременные изменения электрофизиологического фенотипа развивающегося сердца. С другой стороны, изменение электрической активности миокарда под действием ПАУ также может провоцировать нарушения морфогенеза (рис. 2). Ранее было известно, что вход  $Ca^{2+}$  через каналы L-типа, как и круговорот  $Ca^{2+}$  внутри клетки при участии кальциевой помпы SERCA и натрий-кальциевого обменника, критичен для развития сердца рыб [66, 67]. Недавно в своей работе Э. Сёрхус и соавт. показали, что нарушение круговорота кальция, вызываемое фенантроном, индуцирует аномалии в развитии сердца и других органов мальков рыб — аналогичные аномалии морфогенеза вызывал селективный блокатор кальциевого тока никардипин [68]. Еще одним возможным механизмом может быть нарушение экспрессии таких важных регуляторных факторов как микроРНК — предположительно, за счет метилирования ДНК под действием ПАУ [69]. Изменение траектории морфогенеза сердца под действием ПАУ может иметь видоспецифичные особенности, но однозначно неблагоприятно сказывается на жизнеспособности взрослой особи. Даже кратко-

временный контакт с ПАУ в низких концентрациях на ранних стадиях развития может повлечь за собой изменение формы желудочков, гипертрофию губчатого слоя миокарда и уменьшение толщины его компактного слоя [70, 71]. Это приводит к ухудшению сердечной функции, снижению максимальной скорости плавания взрослых рыб [72] — и, соответственно, снижает их выживаемость [73].

### Влияние ПАУ на нервную систему рыб

Нарушение сердечной функции на ранних этапах развития рыб влечет за собой нарушения в развитии других органов. Результаты исследований, проведенных группой Дж.П. Инкардони на данио-рерио, позволяют предположить, что наблюдаемые при воздействии ПАУ или нефти нарушения развития могут быть по крайней мере отчасти вторичными по отношению к вызванному ими же нарушению сердечной функции [42]. Так, изменение электрической активности и снижение сердечного выброса под действием ПАУ ведет к нарушениям осморегуляции и накоплению жидкости в желточном мешке у мальков множества видов рыб [74]. Но нельзя упускать из виду и то, что нефть и ПАУ способны оказывать и непосредственное влияние на другие системы органов.

ПАУ способны вызывать изменения в работе центральной нервной системы рыб, в том числе у взрослых особей: под действием трициклических ПАУ у молодых особей дорады *Sparus aurata* снижается локомоторная активность, а под действием фенантрена ухудшается способность рыб к взаимодействию с другими особями [75]. Это, а также влияние ПАУ на периферическую нервную систему, может обуславливать снижение числа успешных попыток поимки добычи у рыб, подвергшихся воздействию ПАУ [76]. В последующих работах было показано, что ПАУ также влияют и на более сложные формы поведения — в частности, на обучение, на выбор укрытия и избегание хищников [77, 78], что указывает на нарушение работы высших нервных центров. Анализ экспрессии генов показал, что ПАУ вызывают снижение экспрессии нескольких белков, ответственных за транспорт нейромедиаторов и метаболитов, в том числе серотонина и норадреналина, а также нарушают кальциевый сигналинг в нейронах, что может иметь более глубокие последствия — например, влиять на синаптическую пластичность, процессы запоминания и обучения [79]. У красного горбыля (*Sciaenops ocellatus*) воздействие ПАУ на ранних этапах развития приводит к уменьшению размеров головного мозга, уменьшению числа нейронов и нарушению развития и функционирования синапсов [80, 81]. В периферической нервной системе ПАУ также вызывают изменения структуры и функции: помимо упомянутого выше нарушения развития глазных яблок (микрофтальм), ПАУ и сырая нефть вызывают апоптоз

клеток сетчатки и уменьшение числа синапсов. Одновременно происходит сильное снижение уровня экспрессии генов, ответственных за формирование глаза и за фототрансдукцию [82]. В поведенческих тестах это проявлялось в виде ухудшения функционирования оптокинетического рефлекса и уменьшения числа саккад [83]. ПАУ в составе сырой нефти также нарушают функционирование обонятельного анализатора: показано, что даже кратковременное воздействие выветренной водорастворимой фракции нефти ослабляет электрический ответ обонятельных клеток в ответ на те или иные обонятельные стимулы у различных видов рыб [84, 85]. При этом, как показали последующие работы, нарушения обоняния при воздействии ПАУ вызваны изменениями электрической активности нейронов, тогда как структура обонятельного эпителия остается нормальной [86]. Имеются основания предполагать, что в некоторой степени различные нарушения, вызываемые ПАУ в нервной системе и ее развитии, связаны с нарушениями кальциевого сигналинга. Поскольку ПАУ (в особенности ди- и трициклические) способны подавлять вход  $\text{Ca}^{2+}$  в клетку, а также ингибировать некоторые кальциевые помпы, их воздействие может приводить к ухудшению формирования дендритов за счет подавления сигнального пути, связанного с CREB [87] – было показано, что данный сигнальный каскад в нейронах рыб крайне подвержен действию нефти и ее компонентов [83].

#### **Влияние ПАУ на гормональную регуляцию у рыб**

Гормональная регуляция в присутствии ПАУ также оказывается нарушена. Известно, что в организме млекопитающих ПАУ нарушают сигнализацию в нескольких гормональных осях [88]. Как правило, эту роль приписывают бензапирену – известно, что его гидроксильированные метаболиты способны связываться с рецепторами эстрогенов, действуя как агонисты или антагонисты [89]. Помимо того, для рыб было показано разобщающее влияние бензапирена на гонадотропную ось за счет влияния на метаболизм андрогенов и эстрогенов [90]. Однако недавние работы продемонстрировали, что и «легкие» ПАУ способны нарушать эндокринную регуляцию в организме рыб. Так, в своей работе Л. У и соавт. показали, что фенантрен снижает концентрации соматотропного гормона и инсулиноподобного фактора роста 1 у мальков данио-рерио, препятствуя росту животных, что может отрицательно сказаться на их выживании [91]. Помимо этого, фенантрен оказывает дизруптивное влияние на тиреоидную гормональную ось, но данные касательно его влияния на секрецию трийодтиронина (Т3) и тироксина (Т4) разнятся: некоторые исследователи показали снижение уровня Т4 и повышение уровня Т3 под действием фенантрена [91], тогда как в других ра-

ботах показано снижение уровней как Т3, так и Т4 [92, 93]. Механизм этого эффекта фенантрена пока слабо исследован. Л. Чжун и соавт. доказали, что фенантрен влияет на экспрессию генов, связанных с работой тиреоидной регуляторной оси – причем его эффекты полоспецифичны [93]. Фенантрен также оказывает влияние на гонадотропную ось: на различных видах рыб было показано, что в присутствии фенантрена снижается секреция эстрогена, тестостерона и вителлогенина у женских особей, снижается уровень экспрессии генов, связанных с функционированием гонадотропной оси (гены гонадолиберина, фолликулостимулирующего и лютеинизирующего гормонов, рецепторов эстрогена), у женских особей уменьшается количество формирующейся икры. Кроме того, эмбрионы, полученные от родительских особей, подвергшихся воздействию фенантрена, выказывают сниженную выживаемость и увеличенную частоту нарушений в развитии [94, 95]. Таким образом, неблагоприятные эффекты ПАУ могут сохраняться в нескольких поколениях.

#### **Влияние ПАУ на осморегуляцию и пищеварение рыб**

Достаточно ранние исследования показали, что воздействие нефти меняет ионный и электролитный баланс в организме рыб: у морских рыб, подвергшихся воздействию нефти, наблюдалось повышение концентраций  $\text{Na}^+$  и  $\text{Cl}^-$  в плазме крови, а у пресноводных – напротив, снижение концентраций этих ионов [96, 97]. Отчасти причиной этого могут быть гистопатологические изменения в жабрах, вызванные ПАУ, выражающиеся в нарушении структуры жаберного эпителия и его гиперплазии [96, 98]. С другой стороны, ПАУ могут напрямую влиять на транспорт ионов и, соответственно, на осморегуляцию: было показано, что «легкие» ПАУ – в частности, нафталин – ингибируют активность  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФазы, одного из основных ионных транспортеров, участвующих в регуляции электролитного баланса [99]. Поскольку  $\text{Na}^+$  и  $\text{Cl}^-$  в жабрах рыб транспортируются в обмен на ионы  $\text{H}^+$  и  $\text{HCO}_3^-$ , можно предположить, что ПАУ способны нарушать и кислотно-основной баланс в организме рыб. Прямых доказательств этому на данный момент нет, однако в работе Л.Р. Соуза-Бастос и К.А. Фрейре было показано, что в жабрах рыб, подвергшихся воздействию нефти после ее разлива с танкера «Vikunja» в 2004 г., была снижена активность карбоангидразы [100]. К сожалению, влияние ПАУ и нефти на осморегуляцию у рыб практически не исследовано – большинство работ в этой области рассматривают только нарушения ионного транспорта в жабрах ввиду того, что прямое действие компонентов нефти на почки менее вероятно. Однако выраженная индукция цитохрома P4501A в тканях почек может свидетельствовать о том, что ПАУ оказывают влияние на их функцию [101].

Влияние ПАУ на функции желудочно-кишечного тракта рыб исследовано слабо – тем не менее, очевидно, что в областях, загрязненных нефтепродуктами, ПАУ могут попадать в организм рыб через пищеварительный тракт. В самом деле, исследование С. Майер и соавт. показало, что как нефть, так и смесь ПАУ при оральном введении вызывают у пикши (*Melanogrammus aeglefinus*) выраженную индукцию цитохрома P4501A и образование ДНК-аддуктов не только в печени, активно участвующей в метаболизме ксенобиотиков, но и в тканях кишечника, что указывает на важную роль желудочно-кишечного тракта как барьера, участвующего в нейтрализации ПАУ [102]. Будучи липофильными соединениями, ПАУ растворяются в жировых каплях и мицеллах в полости кишечника [103], где могут влиять на активность липазы и переваривание жиров. Было показано, что как «тяжелые», так и «легкие» ПАУ подавляют активность панкреатической липазы радужной форели (*Parasalmo mykiss*). Это ухудшает переваривание жиров, в особенности липидов растительного происхождения [104].

### Заключение

Таким образом, нефть и ее компоненты оказывают неблагоприятное многостороннее воздействие на организм рыб; некоторые из этих эффектов могут сохраняться у последующих поколений животных. Последние работы наглядно показывают, что ведущую роль в этих процессах играют ди- и трициклические ПАУ, характеризующиеся высокой степенью кардиотоксичности. «Тяжелые» полициклические ПАУ оказывают тератогенное и канцерогенное влияние, действуя через AhR. По всей видимости, именно кардиотоксические эф-

фекты ПАУ могут быть основной причиной высокой смертности рыб при разливах нефти и лежать в основе последующего отложенного влияния на другие системы органов и на развитие молоди рыб. Наряду с острыми кардиотоксическими эффектами ПАУ вызывают у рыб нарушения локомоции, ухудшение зрения и обоняния, нарушают работу различных гормональных осей, ухудшают осморегуляцию – как у морских, так и у пресноводных видов – а также подавляют пищеварение. Несмотря на то что физиологические эффекты ПАУ активно исследуются, молекулярные механизмы их действия и участвующие в этом сигнальные каскады остаются практически неизученными – известно, что некоторые ПАУ могут напрямую связываться с ионными каналами в мембране клеток, но природа их влияния на ионные насосы и экспрессию генов в различных органах и тканях пока неясна. Кроме того, имеющиеся данные касательно влияния ПАУ на другие системы органов, помимо сердца, довольно малочисленны и отрывочны – например, практически не изучено влияние ПАУ на функцию почек и на сосудистую систему рыб. Это представляется весьма актуальным направлением исследований ввиду быстрого развития нефтедобывающей отрасли, в том числе шельфовой добычи, сопряженной с повышением риска разливов нефти и загрязнения водоемов.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект №22-14-00075) и проведена без использования животных и без привлечения людей в качестве испытуемых. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Eckle P., Burgherr P., Michaux E. Risk of large oil spills: A statistical analysis in the aftermath of deepwater horizon. *Environ. Sci. Technol.* 2012;46(23):13002–13008.
- Council N.R. Oil in the sea III: Inputs, fates, and effects. Washington: The National Academies Press; 2002.
- McGurk M.D., Brown E.D. Egg-larval mortality of Pacific herring in Prince William Sound, Alaska, after the Exxon Valdez oil spill. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 1996;53(10):2343–2354.
- Hose J.E., McGurk M.D., Marty G.D., Hinton D.E., Brown E.D., Baker T.T. Sublethal effects of the (Exxon Valdez) oil spill on herring embryos and larvae: morphological, cytogenetic, and histopathological assessments, 1989–1991. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 1996;53(10):2355–2365.
- Norcross B.L., Hose J.E., Frandsen M., Brown E.D. Distribution, abundance, morphological condition, and cytogenetic abnormalities of larval herring in Prince William Sound, Alaska, following the (Exxon Valdez) oil spill. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 1996;53(10):2376–2387.
- Carvan M.J., Gallagher E.P., Goksøyr A., Hahn M.E., Joakim Larsson D.G. Fish models in toxicology. *Zebrafish.* 2007;4(1):9–20.
- Ernst V.V., Neff J.M., Anderson J.W. The effects of the water-soluble fractions of no. 2 fuel oil on the early development of the estuarine fish, *Fundulus grandis baird* and *girard*. *Environ. Pollut.* 1977;14(1):25–35.
- Lindén O. Biological effects of oil on early development of the Baltic herring *Clupea harengus membras*. *Mar. Biol.* 1978;45(3):273–283.
- Wang Z., Stout S.A., Fingas M. Forensic fingerprinting of biomarkers for oil spill characterization and source identification. *Environmental Forensics.* 2007;7(2):105–146.
- Adeyemo O.K., Kroll K.J., Denslow N.D. Developmental abnormalities and differential expression of genes induced in oil and dispersant exposed *Menidia beryllina* embryos. *Aquat. Toxicol.* 2015;168:60–71.
- Incardona J.P., Carls M.G., Teraoka H., Sloan C.A., Collier T.K., Scholz N.L. Aryl Hydrocarbon Receptor–Independent Toxicity of Weathered Crude Oil during Fish Development. *Environ. Health Perspect.* 2005;113(12):1755–1762.
- Jung J.H., Hicken C.E., Boyd D., Anulacion B.F., Carls M.G., Shim W.J., Incardona J.P. Geologically distinct

crude oils cause a common cardiotoxicity syndrome in developing zebrafish. *Chemosphere*. 2013;91(8):1146–1155.

13. McIntosh S., King T., Wu D., Hodson P.V. Toxicity of dispersed weathered crude oil to early life stages of Atlantic herring (*Clupea harengus*). *Environ. Toxicol. Chem.* 2010;29(5):1160–1167.

14. Mu J., Jin F., Ma X., Lin Z., Wang J. Comparative effects of biological and chemical dispersants on the bioavailability and toxicity of crude oil to early life stages of marine medaka (*Oryzias melastigma*). *Environ. Toxicol. Chem.* 2014;33(11):2576–2583.

15. Pollino C.A., Holdway D.A. Toxicity testing of crude oil and related compounds using early life stages of the crimson-spotted rainbowfish (*Melanotaenia fluviatilis*). *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 2002;52(3):180–189.

16. Lawal A.T. Polycyclic aromatic hydrocarbons. A review. *Cogent Environ. Sci.* 2017;3(1):1339841.

17. Spromberg J.A., Baldwin D.H., Damm S.E., McIntyre J.K., Huff M., Sloan C.A., Anulacion B.F., Davis J.W., Scholz N.L. Coho salmon spawner mortality in western US urban watersheds: bioinfiltration prevents lethal storm water impacts. *J. Appl. Ecol.* 2016;53(2):398–407.

18. Menzie C.A., Potocki B.B., Santodonato J. Exposure to carcinogenic PAHs in the environment. *Environ. Sci. Technol.* 1992;26(7):1278–1284.

19. Bunton T.E. Experimental chemical carcinogenesis in fish. *Toxicol. Pathol.* 1996;24(5):603–618.

20. Hose J.E., Hannaht J.B., Puffer H.W., Landolt M.L. Histologic and skeletal abnormalities in benzo(a)pyrene-treated rainbow trout alevins. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 1984;13(6):675–684.

21. Hose J.E., Hannah J.B., DiJulio D., Landolt M.L., Miller B.S., Iwaoka W.T., Felton S.P. Effects of benzo(a)pyrene on early development of flatfish. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 1982;11(2):167–171.

22. Hannah J.B., Hose J.E., Landolt M.L., Miller B.S., Felton S.P., Iwaoka W.T. Benzo(a)pyrene-induced morphologic and developmental abnormalities in rainbow trout. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 1982;11(6):727–734.

23. Lonning S. The effects of crude Ekofisk oil and oil products on marine fish larvae. *Astarte J. Arct. Biol.* 1977;10:37–48.

24. Malins D.C. Alterations in the cellular and subcellular structure of marine teleosts and invertebrates exposed to petroleum in the laboratory and field: a critical review. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 1982;39(6):877–889.

25. Denison M.S., Seidel S.D., Rogers W.J., Ziccardi M., Winter G.M., Heath-Pagliuso S. Natural and synthetic ligands for the Ah receptor. In: Puga A., Wallace K.B., editors. *Molecular Biology Approaches to Toxicology*. Philadelphia: Taylor & Francis; 1998:393–410.

26. Hahn M.E., Karchner S.I., Evans B.R., Franks D.G., Merson R.R., Lapsier J.M. Unexpected diversity of aryl hydrocarbon receptors in non-mammalian vertebrates: insights from comparative genomics. *J. Exp. Zool. Part A Comp. Exp. Biol.* 2006;305A(9):693–706.

27. Billiard S.M., Timme-Laragy A.R., Wassenberg D.M., Cockman C., Di Giulio R.T. The role of the aryl hydrocarbon receptor pathway in mediating synergistic developmental toxicity of polycyclic aromatic hydrocarbons to zebrafish. *Toxicol. Sci.* 2006;92(2):526–536.

28. Clark B.W., Matson C.W., Jung D., Di Giulio R.T. AHR2 mediates cardiac teratogenesis of polycyclic aromatic hydrocarbons and PCB-126 in Atlantic killifish (*Fundulus heteroclitus*). *Aquat. Toxicol.* 2010;99(2):232–240.

29. Prash A.L., Teraoka H., Carney S.A., Dong W., Hiraga T., Stegeman J.J., Heideman W., Peterson R.E. Aryl hydrocarbon receptor 2 mediates 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin developmental toxicity in zebrafish. *Toxicol. Sci.* 2003;76(1):138–150.

30. Denison M.S., Nagy S.R. Activation of the aryl hydrocarbon receptor by structurally diverse exogenous and endogenous chemicals. *Annu. Rev.* 2003;43:309–334.

31. Gohlke J.M., Doko D., Tipre M., Leader M., Fitzgerald T. A review of seafood safety after the Deepwater Horizon blowout. *Environ. Health Perspect.* 2011;119(8):1062–1069.

32. Denison M.S., Fisher J.M., Whitlock J.P. Inducible, receptor-dependent protein-DNA interactions at a dioxin-responsive transcriptional enhancer. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1988;85(8):2528–2532.

33. Korashy H., El-Kadi A. The role of aryl hydrocarbon receptor in the pathogenesis of cardiovascular diseases. *Drug Metab. Rev.* 2006;38(3):411–450.

34. Carney S.A., Peterson R.E., Heideman W. 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin activation of the aryl hydrocarbon receptor/aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator pathway causes developmental toxicity through a CYP1A-independent mechanism in zebrafish. *Mol. Pharmacol.* 2004;66(3):512–521.

35. Carney S.A., Chen J., Burns C.G., Xiong K.M., Peterson R.E., Heideman W. Aryl hydrocarbon receptor activation produces heart-specific transcriptional and toxic responses in developing zebrafish. *Mol. Pharmacol.* 2006;70(2):549–561.

36. Barron M.G., Heintz R., Rice S.D. Relative potency of PAHs and heterocycles as aryl hydrocarbon receptor agonists in fish. *Mar. Environ. Res.* 2004;58(2–5):95–100.

37. Wang Z., Fingas M.F. Development of oil hydrocarbon fingerprinting and identification techniques. *Mar. Pollut. Bull.* 2003;47(9–12):423–452.

38. Carls M.G., Rice S.D., Hose J.E. Sensitivity of fish embryos to weathered crude oil: Part I. Low-level exposure during incubation causes malformations, genetic damage, and mortality in larval Pacific herring (*Clupea pallasii*). *Environ. Toxicol. Chem.* 1999;18(3):481–493.

39. Heintz R.A., Short J.W., Rice S.D. Sensitivity of fish embryos to weathered crude oil: Part II. Increased mortality of pink salmon (*Oncorhynchus gorbuscha*) embryos incubating downstream from weathered Exxon Valdez crude oil. *Environ. Toxicol. Chem.* 1999;18(3):494–503.

40. Marty G.D., Short J.W., Dambach D.M., Willits N.H., Heintz R.A., Rice S.D., Stegeman J.J., Hinton D.E. Ascites, premature emergence, increased gonadal cell apoptosis, and cytochrome P4501A induction in pink salmon larvae continuously exposed to oil-contaminated gravel during development. *Can. J. Zool.* 1997;75(6):989–1007.

41. Marty G.D., Hose J.E., McGurk M.D., Brown E.D., Hinton D.E. Histopathology and cytogenetic evaluation of Pacific herring larvae exposed to petroleum hydrocarbons in the laboratory or in Prince William Sound, Alaska, after the Exxon Valdez oil spill. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 1997;54(8):1846–1857.

42. Incardona J.P., Collier T.K., Scholz N.L. Defects in cardiac function precede morphological abnormalities in fish embryos exposed to polycyclic aromatic hydrocarbons. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2004;196(2):191–205.

43. Xu K., Zhang Y., Zheng J., Wang C., Chen R. Comparative toxicity of 3–5 ringed polycyclic aromatic hydrocarbons to skeletal development in zebrafish embryos and the possible reason. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 2023;110(1):8.
44. Petersen G.I., Kristensen P. Bioaccumulation of lipophilic substances in fish early life stages. *Environ. Toxicol. Chem.* 1998;17(7):1385–1395.
45. de Pinho J.V., Lopes A.P., de Almeida Rodrigues P., Ferrari R.G., Hauser-Davis R.A., Conte-Junior C.A. Food safety concerns on polycyclic aromatic hydrocarbon contamination in fish products from estuarine bays throughout the American continent. *Sci. Total Environ.* 2023;858(Part 2):159930.
46. Rusni S., Sassa M., Takehana Y., Kinoshita M., Inoue K. Correlation between cytochrome P450 1A (cyp1a) mRNA expression and ambient phenanthrene and pyrene concentration in Javanese Medaka *Oryzias javanicus*. *Fish. Sci.* 2020;86(4):605–613.
47. Xie S., Feng Y., Zhou A., Lu Z., Zou J. Comparative analysis of two new zebrafish models: The cyp1a low-expression line and cyp1a knockout line under PAHs exposure. *Gene.* 2023;869:147391.
48. Incardona J.P., Carls M.G., Day H.L., Sloan C.A., Bolton J.L., Collier T.K., Scholz N.L. Cardiac arrhythmia is the primary response of embryonic pacific herring (*Clupea pallasii*) exposed to crude oil during weathering. *Environ. Sci. Technol.* 2009;43(1):201–207.
49. Brette F., Machado B., Cros C., Incardona J.P., Scholz N.L., Block B.A. Crude oil impairs cardiac excitation-contraction coupling in fish. *Science.* 2014;343(6172):772–776.
50. Brette F., Shiels H.A., Galli G.L.J., Cros C., Incardona J.P., Scholz N.L., Block B.A. A novel cardiotoxic mechanism for a pervasive global pollutant. *Sci. Rep.* 2017;7:41476.
51. Ainerua M.O., Tinwell J., Kompella S.N., Sørhus E., White K.N., van Dongen B.E., Shiels H.A. Understanding the cardiac toxicity of the anthropogenic pollutant phenanthrene on the freshwater indicator species, the brown trout (*Salmo trutta*): From whole heart to cardiomyocytes. *Chemosphere.* 2020;239:124608.
52. Abramochkin D.V., Kompella S.N., Shiels H.A. Phenanthrene alters the electrical activity of atrial and ventricular myocytes of a polar fish, the Navaga cod. *Aquat. Toxicol.* 2021;235:105823.
53. Filatova T.S., Mikhailova V.B., Guskova V.O., Abramochkin D.V. The effects of phenanthrene on the electrical activity in the heart of shorthorn sculpin (*Myoxocephalus scorpio*). *J. Evol. Biochem. Physiol.* 2022;58(1):S44–S51.
54. Vehniäinen E.R., Haverinen J., Vornanen M. Polycyclic aromatic hydrocarbons phenanthrene and retene modify the action potential via multiple ion currents in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* cardiac myocytes. *Environ. Toxicol. Chem.* 2019;38(10):2145–2153.
55. Al-Moubarak E., Shiels H.A., Zhang Y., Du C., Hanington O., Harmer S.C., Dempsey C.E., Hancox J.C. Inhibition of the hERG potassium channel by phenanthrene: a polycyclic aromatic hydrocarbon pollutant. *Cell. Mol. Life Sci.* 2021;78(23):7899–7914.
56. Sanguinetti M.C., Tristani-Firouzi M. hERG potassium channels and cardiac arrhythmia. *Nature.* 2006;440(7083):463–469.
57. Nelson D., Heuer R.M., Cox G.K., Stieglitz J.D., Hoenig R., Mager E.M., Benetti D.D., Grosell M., Crossley D.A. Effects of crude oil on in situ cardiac function in young adult mahi-mahi (*Coryphaena hippurus*). *Aquat. Toxicol.* 2016;180:274–281.
58. Hondeghem L.M., Carlsson L., Duker G. Instability and triangulation of the action potential predict serious proarrhythmia, but action potential duration prolongation is antiarrhythmic. *Circulation.* 2001;103(15):2004–2013.
59. Kompella S.N., Brette F., Hancox J.C., Shiels H.A. Phenanthrene impacts zebrafish cardiomyocyte excitability by inhibiting IKr and shortening action potential duration. *J. Gen. Physiol.* 2021;153(2):e202012733.
60. Abrajano T.A., Yan B., O'Malley V. High molecular weight petrogenic and pyrogenic hydrocarbons in aquatic environments. *Environmental geochemistry, vol. 9*. Ed. B.S. Lollar. Elsevier; 2004:475–509.
61. Andersen Ø., Frantzen M., Rosland M., Timmerhaus G., Skugor A., Krasnov A. Effects of crude oil exposure and elevated temperature on the liver transcriptome of polar cod (*Boreogadus saida*). *Aquat. Toxicol.* 2015;165:9–18.
62. Bender M.L., Giebichenstein J., Teisrud R.N., Laurent J., Frantzen M., Meador J.P., Sørensen L., Hansen B.H., Reinardy H.C., Laurel B., Nahrgang J. Combined effects of crude oil exposure and warming on eggs and larvae of an arctic forage fish. *Sci. Rep.* 2021;11(1):8410.
63. Sørhus E., Incardona J.P., Furmanek T., Goetz G.W., Scholz N.L., Meier S., Edvardsen R.B., Jentoft S. Novel adverse outcome pathways revealed by chemical genetics in a developing marine fish. *eLife.* 2017;6:e20707.
64. Edmunds R.C., Gill J.A., Baldwin D.H., Linbo T.L., French B.L., Brown T.L., Esbaugh A.J., Mager E.M., Stieglitz J., Hoenig R., Benetti D., Grosell M., Scholz N.L., Incardona J.P. Corresponding morphological and molecular indicators of crude oil toxicity to the developing hearts of mahi mahi. *Sci. Rep.* 2015;5(1):17326.
65. Sørhus E., Incardona J.P., Karlsen Ø., Linbo T., Sørensen L., Nordtug T., Van Der Meeren T., Thorsen A., Thorbjørnsen M., Jentoft S., Edvardsen R.B., Meier S. Crude oil exposures reveal roles for intracellular calcium cycling in haddock craniofacial and cardiac development. *Sci. Rep.* 2016;6(1):31058.
66. Ebert A.M., Hume G.L., Warren K.S., Cook N.P., Burns C.G., Mohideen M.A., Siegal G., Yelon D., Fishman M.C., Garrity D.M. Calcium extrusion is critical for cardiac morphogenesis and rhythm in embryonic zebrafish hearts. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2005;102(49):17705–17710.
67. Rottbauer W., Baker K., Wo Z.G., Mohideen M.A.P.K., Cantiello H.F., Fishman M.C. Growth and function of the embryonic heart depend upon the cardiac-specific L-Type calcium channel  $\alpha 1$  subunit. *Dev. Cell.* 2001;1(2):265–275.
68. Sørhus E., Nakken C.L., Donald C.E., Ripley D.M., Shiels H.A., Meier S. Cardiac toxicity of phenanthrene depends on developmental stage in Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Sci. Total Environ.* 2023;881:163484.
69. Huang L., Xi Z., Wang C., Zhang Y., Yang Z., Zhang S., Chen Y., Zuo Z. Phenanthrene exposure induces cardiac hypertrophy via reducing miR-133a expression by DNA methylation. *Sci. Rep.* 2016;6(1):20105.
70. Hicken C.E., Linbo T.L., Baldwin D.H., Willis M.L., Myers M.S., Holland L., Larsen M., Stekol M.S., Rice S.D., Collier T.K., Scholz N.L., Incardona J.P. Sublethal exposure to crude oil during embryonic development alters cardiac mor-

- phology and reduces aerobic capacity in adult fish. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2011;108(17):7086–7090.
71. Incardona J.P., Carls M.G., Holland L., Linbo T.L., Baldwin D.H., Myers M.S., Peck K.A., Tagal M., Rice S.D., Scholz N.L. Very low embryonic crude oil exposures cause lasting cardiac defects in salmon and herring. *Sci. Rep.* 2015;5(1):13499.
72. Anttila K., Jørgensen S.M., Casselman M.T., Timmerhaus G., Farrell A.P., Takle H. Association between swimming performance, cardiorespiratory morphometry, and thermal tolerance in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Front. Mar. Sci.* 2014;1:76.
73. Heintz R.A., Rice S.D., Wertheimer A.C., Bradshaw R.F., Thrower F.P., Joyce J.E., Short J.W. Delayed effects on growth and marine survival of pink salmon *Oncorhynchus gorbuscha* after exposure to crude oil during embryonic development. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 2000;208:205–216.
74. Incardona J.P., Scholz N.L. The influence of heart developmental anatomy on cardiotoxicity-based adverse outcome pathways in fish. *Aquat. Toxicol.* 2016;177:515–525.
75. Gonçalves R., Scholze M., Ferreira A.M., Martins M., Correia A.D. The joint effect of polycyclic aromatic hydrocarbons on fish behavior. *Environ. Res.* 2008;108(2):205–213.
76. Carvalho P.S.M., Kalil D. da C.B., Novelli G.A.A., Bainy A.C.D., Fraga A.P.M. Effects of naphthalene and phenanthrene on visual and prey capture endpoints during early stages of the dourado *Salminus brasiliensis*. *Mar. Environ. Res.* 2008;66(1):205–207.
77. Johansen J.L., Allan B.J.M., Rummer J.L., Esbaugh A.J. Oil exposure disrupts early life-history stages of coral reef fishes via behavioural impairments. *Nat. Ecol. Evol.* 2017;1(8):1146–1152.
78. Geier M.C., Minick J.D., Truong L., Tilton S., Pande P., Anderson K.A., Teeguardan J., Tanguay R.L. Systematic developmental neurotoxicity assessment of a representative PAH superfund mixture using zebrafish. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2018;354:115–125.
79. Xu E.G., Mager E.M., Grosell M., Pasparakis C., Schlenker L.S., Stieglitz J.D., Benetti D., Hazard E.S., Courtney S.M., Diamante G., Freitas J., Hardiman G., Schlenk D. Time- and oil-dependent transcriptomic and physiological responses to Deepwater Horizon oil in mahi-mahi (*Coryphaena hippurus*) embryos and larvae. *Environ. Sci. Technol.* 2016;50(14):7842–7851.
80. Xu E.G., Khursigara A.J., Magnuson J., Hazard E.S., Hardiman G., Esbaugh A.J., Roberts A.P. and Schlenk D. Larval red drum (*Sciaenops ocellatus*) sublethal exposure to weathered Deepwater Horizon crude oil: developmental and transcriptomic consequences. *Environ. Sci. Technol.* 2017;51(17):10162–10172.
81. Khursigara A.J., Ackerly K.L., Esbaugh A.J. Pyrene drives reduced brain size during early life exposure in an estuarine fish, the red drum (*Sciaenops ocellatus*). *Comp. Biochem. Physiol. Part C Toxicol. Pharmacol.* 2022;259:109397.
82. Magnuson J.T., Bautista N.M., Lucero J.A., Lund A.K., Xu E.G., Schlenk D., Burggren W.W., Roberts A.P. Exposure to crude oil induces retinal apoptosis and impairs visual function in fish. *Environ. Sci. Technol.* 2020;54(5):2843–2850.
83. Magnuson J.T., Khursigara A.J., Allmon E.B., Esbaugh A.J., Roberts A.P. Effects of Deepwater Horizon crude oil on ocular development in two estuarine fish species, red drum (*Sciaenops ocellatus*) and sheepshead minnow (*Cyprinodon variegatus*). *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 2018;166:186–191.
84. Cave E.J., Kajiura S.M. Effect of Deepwater Horizon crude oil water accommodated fraction on olfactory function in the atlantic stingray, *Hypanus sabinus*. *Sci. Rep.* 2018;8(1):15786.
85. Schlenker L.S., Welch M.J., Meredith T.L., Mager E.M., Lari E., Babcock E.A., Pyle G.G., Munday P.L., Grosell M. Damsels in distress: oil exposure modifies behavior and olfaction in bicolor damselfish (*Stegastes partitus*). *Environ. Sci. Technol.* 2019;53(18):10993–11001.
86. Lari E., Steinkey D., Razmara P., Mohaddes E., Pyle G.G. Oil sands process-affected water impairs the olfactory system of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 2019;170:62–67.
87. Redmond L., Kashani A.H., Ghosh A. Calcium regulation of dendritic growth via CaM kinase IV and CREB-mediated transcription. *Neuron.* 2002;34(6):999–1010.
88. Zhang Y., Dong S., Wang H., Tao S., Kiyama R. Biological impact of environmental polycyclic aromatic hydrocarbons (ePAHs) as endocrine disruptors. *Environ. Pollut.* 2016;213:809–824.
89. Hayakawa K., Onoda Y., Tachikawa C., Hosoi S., Yoshita M., Sang W.C., Kizu R., Toriba A., Kameda T., Tang N. Estrogenic/antiestrogenic activities of polycyclic aromatic hydrocarbons and their monohydroxylated derivatives by yeast two-hybrid assay. *J. Heal. Sci.* 2007;53(5):562–570.
90. Colli-Dula R.C., Fang X., Moraga-Amador D., Albornoz-Abud N., Zamora-Bustillos R., Conesa A., Zapata-Perez O., Moreno D., Hernandez-Nuñez E. Transcriptome analysis reveals novel insights into the response of low-dose benzo(a)pyrene exposure in male tilapia. *Aquat. Toxicol.* 2018;201:162–173.
91. Wu L., Zhong L., Ru H., Yao F., Ni Z., Li Y. Thyroid disruption and growth inhibition of zebrafish embryos/larvae by phenanthrene treatment at environmentally relevant concentrations. *Aquat. Toxicol.* 2022;243:106053.
92. Mousavi A., Salamat N., Safahieh A. Phenanthrene disrupting effects on the thyroid system of Arabian seabream, *Acanthopagrus arabicus*: *In situ* and *in vivo* study. *Comp. Biochem. Physiol. Part C Toxicol. Pharmacol.* 2022;252:109226.
93. Zhong L., Wu L., Ru H., Wei N., Yao F., Zhang H., Ni Z., Duan X., Li Y. Sex-specific thyroid disruption caused by phenanthrene in adult zebrafish (*Danio rerio*). *Comp. Biochem. Physiol. Part C Toxicol. Pharmacol.* 2023;263:109484.
94. Sun L., Zuo Z., Chen M., Chen Y., Wang C. Reproductive and transgenerational toxicities of phenanthrene on female marine medaka (*Oryzias melastigma*). *Aquat. Toxicol.* 2015;162:109–116.
95. Peng X., Sun X., Yu M., Fu W., Chen H., Chen J. Chronic exposure to environmental concentrations of phenanthrene impairs zebrafish reproduction. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 2019;182:109376.
96. Kennedy C.J., Farrell A.P. Ion homeostasis and interrenal stress responses in juvenile Pacific herring, *Clupea pallasi*, exposed to the water-soluble fraction of crude oil. *J. Exp. Mar. Bio. Ecol.* 2005;323(1):43–56.

97. Zbanyszek R., Smith L.S. The effect of water-soluble aromatic hydrocarbons on some haematological parameters of rainbow trout, *Salmo gairdneri Richardson*, during acute exposure. *J. Fish Biol.* 1984;24(5):545–552.

98. Katsumiti A., Domingos F.X.V., Azevedo M., da Silva M.D., Damian R.C., Almeida M.I.M., de Assis H.C.S., Cestari M.M., Randi M.A.F., Ribeiro C.A.O., Freire C.A. An assessment of acute biomarker responses in the demersal catfish *Cathorops spixii* after the Vicuña oil spill in a harbour estuarine area in Southern Brazil. *Environ. Monit. Assess.* 2009;152(1–4):209–222.

99. Dangé A.D. Branchial Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase inhibition in a freshwater euryhaline teleost, tilapia (*Oreochromis mossambicus*), during short-term exposure to toluene or naphthalene: Influence of salinity. *Environ. Pollut. Ser. A, Ecol. Biol.* 1986;42(3):273–286.

100. Souza-Bastos L.R., Freire C.A. Osmoregulation of the resident estuarine fish *Atherinella brasiliensis* was still affected by an oil spill (Vicuña tanker, Paranaguá Bay, Brazil), 7 months after the accident. *Sci. Total Environ.* 2011;409(7):1229–1234.

101. Sarasquete C., Segner H. Cytochrome P4501A (CYP1A) in teleostean fishes. A review of immunohistochemical studies. *Sci. Total Environ.* 2000;247(2–3):313–332.

102. Meier S., Karlsen Ø., Le Goff J., et al. DNA damage and health effects in juvenile haddock (*Melanogrammus aeglefinus*) exposed to PAHs associated with oil-polluted sediment or produced water. *PLoS One.* 2020;15(10):e0240307.

103. Kelly B.C., Gobas F.A.P.C., McLachlan M.S. Intestinal absorption and biomagnification of organic contaminants in fish, wildlife, and humans. *Environ. Toxicol. Chem.* 2004;23(10):2324–2336.

104. de Gelder S., Sæle Ø., de Veen B.T.H., Vos J., Flik G., Berntssen M.H.G., Klaren P.H.M. The polycyclic aromatic hydrocarbons benzo[a]pyrene and phenanthrene inhibit intestinal lipase activity in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Comp. Biochem. Physiol. Part C Toxicol. Pharmacol.* 2017;198:1–8.

105. Incardona J.P., Scholz N.L. Case study: The 2010 Deepwater Horizon oil spill and its environmental developmental impacts. *Development and Environment*. Eds. W. Burggren and B. Dubansky. Cham: Springer; 2018:235–283.

Поступила в редакцию 11.05.2023

После доработки 24.08.2023

Принята в печать 12.09.2023

## REVIEW

# Physiological effects of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in fish organism

T.S. Filatova\* , D.V. Abramochkin 

Department of Human and Animal Physiology, Moscow State University, 1–12 Leninskie gory, Moscow, 119234, Russia

\*e-mail: [filatova@mail.bio.msu.ru](mailto:filatova@mail.bio.msu.ru)

The pollution of world ocean is a serious threat to the biodiversity of flora and fauna. One of the most important sources of pollution are oil and oil products – every year more than 1 million tons of oil is spilled into the sea as a result of accidents during oil production or transportation. The teratogenic and carcinogenic effects of such oil components as benzopyrene is well known since the middle of the last century. However, after a large oil spill from “Exxon Valdez” tanker in 1989 it became clear that oil and its components have strong toxic effects in fish organism – and to a large extent these effects are caused by di- and tricyclic aromatic hydrocarbons, in particular phenanthrene. Field research have demonstrated that fish embryo and larvae are the most prone to the effects of oil – and the largest oil spills endanger the populations of important commercial fish species that spawn in this area. This review considers the influence of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) on the physiology of various organ systems in fish. Particular attention is paid to the cardiotoxic effects of PAH which were recently discovered and which are potentially not only the main cause of animals’ death upon the spill of PAH into water, but also underlie the malformation of other organs.

**Keywords:** fish, oil, polycyclic aromatic hydrocarbons, phenanthrene, heart, toxicology

**Funding:** The research was supported by Russian Science Foundation, project number 22-14-00075.

### Сведения об авторах

Филатова Татьяна Сергеевна – канд. биол. наук, мл. науч. сотр. кафедры физиологии человека и животных биологического факультета МГУ. Тел. 8-929-515-25-78; e-mail: [filatova@mail.bio.msu.ru](mailto:filatova@mail.bio.msu.ru); ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0131-1911>

Абрамочкин Денис Валерьевич – докт. биол. наук, вед. науч. сотр. кафедры физиологии человека и животных биологического факультета МГУ. Тел. 8-916-603-05-02; e-mail: [abram340@mail.ru](mailto:abram340@mail.ru); ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5751-8853>