

DOI: 10.26693/jmbs03.05.288

УДК 597.08.591.1.81

Козий М. С., Грищенко Г. В., Силенко А. А.

ОСОБЕННОСТИ ПАТОЛОГИЧЕСКОЙ МОРФОЛОГИИ ПЕЧЕНИ САЗАНА *CYPRINUS CARPIO LINNAEUS*, 1758 В ТРАНСФОРМИРОВАННЫХ УСЛОВИЯХ ОБИТАНИЯ

Черноморский национальный университет имени Петра Могилы,
Лаборатория гистологии, цитологии и эмбриологии, Николаев, Украина

kozij67@gmail.com

Изучено влияние высоких концентраций водорастворимого токсиканта «BULDOG» ES на паренхиму печени сазана с применением метода комбинированной заливки тканей. Приведены данные патологических изменений в медиальной зоне органа. Показана возможность использования фактического материала в гистологии, сравнительной, функциональной и клинической морфологии.

Гистологический анализ печени рыб показал адаптивные ответы органов, нарушения микроциркуляции крови, дистрофические изменения в паренхиме. Компенсационные изменения в гепатоцитах морфологически неотличимы от процессов адаптивной клеточной перегруппировки. Форма функциональной адаптации - дедифференцировка клеток, как при нормальных условиях развития тканей, так и под действием повреждающих факторов.

Ключевые слова: печень, паренхима, патология, токсикант.

Введение. Многофакторное антропогенное воздействие на гидросферу приобрело угрожающие масштабы, что в свою очередь порождает сокращение численности популяций водной биоты. Организм гидробионтов животного происхождения является мощным фактором аккумуляции химических элементов в гидросфере. Рыбы, как практически конечное звено водных экосистем, часто принимают на себя основную тяжесть техногенной нагрузки [2, 3, 6, 7]. Несмотря на то, что в настоящее время накоплен фактический материал по изучению структурно-функциональных особенностей печени представителей ихтиофауны [8], влияние на организм рыб инсектицидов нового поколения в соответствующей литературе практически не освещено. Поскольку инсектицид «BULDOG» ES (ПДК 0,055 мг/л) как достаточно эффективный препарат широкого спектра действия сравнительно недавно применим в агротехнической практике юга Украины, представляет интерес изучение особен-

ностей реакций органов-мишеней рыб на новый препарат как ответ на изменения условий обитания в результате трансформирования акваторий активными грунтовыми стоками. В этой связи, проведение в данном направлении соответствующих клинических исследований актуально и весьма перспективно.

Цель исследования. Изучить особенности изменения микроструктуры медиальной зоны печени сазана в условиях длительного воздействия на акватории высоких концентраций водорастворимого токсиканта агротехнического происхождения «BULDOG» ES.

Материалы и методы исследования. С целью получения достоверных данных, исследования были проведены в естественных условиях обитания. По принципу аналогов были сформированы две группы: интактная (условно чистая акватория низовьев р. Днепр (пос. Станислав Херсонской обл.); опытная (акватория низовьев р. Днепр, загрязнённая активным грунтовым стоком (пос. Антоновка Херсонской обл.). В каждой группе было определено 8 половозрелых (5-летних) самцов. Содержание рыб осуществлялось в специально огороженных прибрежных участках акватории ($S=5,0 \text{ м}^2$, ограждение сетью с ячейей 1,5 ед., исключаящее стресс-фактор от контакта с хищниками) в летнее время (июль-август 2017 г.), с учётом достаточности кормовой базы и сезонного оптимума показателей гидроцикла. Гистологические исследования образцов печени рыб были проведены на базе лаборатории гистологии, цитологии и эмбриологии Черноморского национального университета имени Петра Могилы. В процессе выполнения опыта соблюдены основные биоэтические положения Конвенции Совета Европы о правах человека и биомедицине (от 04.04.1997 г.). Камеральную обработку гистологических проб печени осуществляли при помощи разработанного специального оборудования и комбинированной заливки тканей гидробионтов (модифицированного метода

Апати) [9]. Обоснованность выбора медиальной зоны органа заключается в особенности контраста гистологической картины ввиду смещения клеточной функции. Биометрические исследования тканей выполнены согласно общепринятым методикам [1]. Полученный материал обрабатывали методом вариационной статистики с акцентом внимания на ошибки средних величин, а также при помощи пакета прикладных программ «Microsoft Excel».

Результаты исследований и их обсуждение.

Длительное содержание рыб в оптимальных условиях обитания позволило получить достоверную картину нормального строения печёночной паренхимы. Орган снаружи покрыт тонкой соединительнотканной капсулой, от которой отходят перегородки, делящие орган на компартаменты. Долька печени образована балками, сформированными двумя рядами полигональных гепатоцитов, отходящих от центральной вены радиальными тяжами (рис. 1).

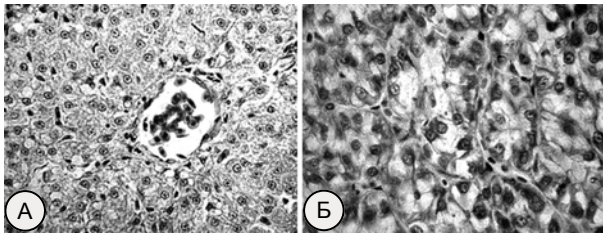


Рис. 1. Структура участка медиальной зоны печени сазана. Норма. Гематоксилин Бёмера, фукселин Харта (в модификации). А – 120^x, Б – 200^x

Печёночные балки тесно перевиваются с синусоидными капиллярами, имеющими вид щелей между тяжами гепатоцитов (рис. 1 А). Ядра эндотелия синусоидов вытянутые, местами выступают в просвет сосуда, причём гепатоциты обращены одной стороной к синусоидам, другой – к жёлчным капиллярам. Отдельные клетки кажутся пустыми, их цитоплазма оптически однородная или содержит незначительное количество зернистых включений, что соответствует различным фазам липидной аккумуляции (рис. 1 Б). Наряду с этим, обнаруживается неравномерность вакуолизации цитоплазмы, что, несомненно, свидетельствует о фракционном характере метаболических процессов. Показано также, что ядра гепатоцитов округлые, либо эллиптические, с отчётливо различимыми нуклеолами и глыбками гетерохроматина. Следуя указанной характеристике клеток, можно заключить, что они пребывают в финальном отрезке интерфазы.

Сравнительный гистологический анализ медиальной зоны печени рыб, длительно находившихся

под влиянием активного грунтового стока (зафиксировано превышение ПДК инсектицида в 8 раз) позволил выявить спектр морфологических изменений: компенсаторно-приспособительные реакции органа, нарушения микроциркуляции крови и дистрофические изменения паренхимы.

Установлено, что ранние компенсаторно-приспособительные изменения гепатоцитов проявляются прежде всего в виде их гиперфункции (рис. 2).

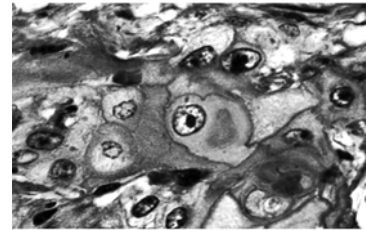


Рис. 2. Медиальная зона печени сазана. Гипертрофия гепатоцитов. Гематоксилин Бёмера, фукселин Харта (в модификации). 400^x

Гипертрофированные гепатоциты могут характеризоваться не только увеличением размера клетки по сравнению с нормой, но и увеличением размера ядра, что сопровождается также увеличением количества нуклеол (рис. 2).

Обнаружено, что длительное воздействие высоких концентраций инсектицида «BULDOG» ES провоцирует возникновение венозного полнокровия и стазов, что соответствует первыми признакам патологических процессов в печени (рис. 3).

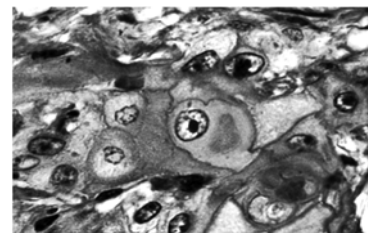


Рис. 3. Медиальная зона печени сазана. Состояние стаза. Гематоксилин Бёмера, фукселин Харта (в модификации). 80^x

Видна типичная картина остановки кровотока, что возникает вследствие токсических воздействий (рис. 3). При стазе (микрокартина соответствует таковому) происходит расширение полостей сосудов, их просвет плотно заполнен форменными элементами крови. Как правило, со стазом нередко связано развитие геморрагии.

Известно, что в норме синтез гликогена и липидов у рыб происходят с различной интенсивностью. В условиях патологии функции органа смещаются, что приводит к узкой клеточной специализации в пределах отдельно взятой зоны. Наблюдения

показывают, что наиболее распространённым морфологическим признаком нарушений служит жировая дистрофия. Она выявлена практически у всех особей, подвергшихся длительному воздействию высоких концентраций инсектицида «BULLDOG» ES (рис. 4).

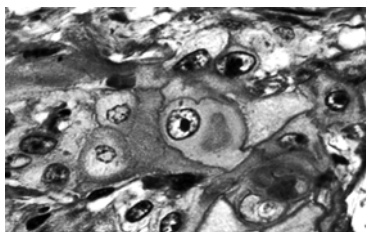


Рис. 4. Медиальная зона печени сазана. Жировая дистрофия. Гематоксилин Бёмера, фукселин Харта (в модификации). 120^х

В цитоплазме гепатоцитов наблюдаются светлые неокрашенные, различной величины вакуоли (рис. 4). Мелкие вакуоли могут сливаться, образуя более крупные, а затем и одну большую вакуоль, которая занимает всю цитоплазму и смещает ядро к периферии клетки. Собственно цитоплазма таких клеток представляет собой узкий базофильный ободок около плазматической мембраны. Зачастую ядра исчезают, при этом образуются обширные участки безъядерных клеток. В отдельных случаях, жировые вакуоли смежных клеток или сами клетки при слиянии образуют жировые кисты.

Смещение определённой функции клеток сопровождается соответствующими сдвигами цитологических характеристик (табл.).

Анализируя данные таблицы, можно заключить, что увеличение площадей клеток в 1,33 раза (что статистически достоверно) соответственно приводит к увеличению площадей их ядер (в 1,42 раза), что показывает изменение характера внутриклеточного метаболизма. Прежде всего, это выражается в ощутимом снижении (в 7 раз), практически, затухании гликогеносекретирующей функции гепатоцитов.

Обращает на себя внимание незначительное увеличение значения отношения диаметра

«ядрышко/ядро» (в 1,1 раза), что свидетельствует о смене клеточной функции, то есть о повышении уровня синтеза липидов.

Исходя из вышеизложенного, можно заключить, что печени рыб свойственна высокая реактивность и большой резерв функциональной способности. В то же время становится очевидным, что её реакции практически не зависят от характера воздействия на водную среду и во многом стереотипны. Фактически, полученные результаты исследований подтверждают данные, имеющиеся в специальной литературе [3, 6, 7].

Следует отметить также, что ранние компенсаторные изменения гепатоцитов рыб морфологически почти неотличимы от некоторых процессов адаптивной перестройки клеток. Так, своеобразной формой проявления функциональной адаптации служит дедифференцировка клеток, равно наблюдаемая как в норме, так и при действии деструктивных факторов [5].

Повышенное содержание жира в печени рыб может быть следствием нарушения обменных процессов как в результате нарушения кровотока на ограниченном участке органа, так и при действии токсикантов. В этой связи закономерно возникает вопрос о нарушении функции органа при той или иной степени жировой дистрофии. Вполне естественно, исследование паренхимы исключительно светооптическими методами не может дать исчерпывающего ответа, поскольку за одним и тем же понятием «дистрофия» скрывается как различная степень патологии ультраструктуры клетки, так и неодинаковое соотношение между повреждёнными и нормальными структурами. На наш взгляд, фиксируется также несоответствие между незначительными нарушениями функции органа и заметными морфологическими сдвигами, поскольку данные, аналогичные имеющимся в отношении наземных позвоночных, были получены также и при исследованиях рыб. Тем не менее, возможно сделать определённое заключение по характеру изменений гепатоцитов. Так, в случае медленного развития жировой дистрофии наблюдается умеренное смещение и нерезкое сдавливание органоидов гепатоцитов, которое не вызывает заметных изменений. При быстро развивающейся жировой дистрофии ядро ориентируется центрально, что свидетельствует о липофарозе – наиболее тяжёлой форме жировой дистрофии, сопровождающейся функциональной недостаточностью паренхимы.

Таблица – Динамика изменения цитоструктуры медиальной зоны печени сазана в норме и патологии. М±n, n=8

Группа	Показатели				
	размер клеток, мк	размер ядра, мк	отношение диаметра ядро/клетка	отношение диаметра ядрышко/ядро	количество внутриклет. полостей, %
интактная	7,63±1,17	3,40±0,05	0,44±0,43	0,44±0,35	9,60±3,25
опытная	10,16±2,41**	4,86±0,98	0,48±0,71	0,47±0,50	1,37±0,77***

Примечания: **P<0,01; ***P<0,001.

Необходимо отметить, что подобного рода изменения могут происходить во всех без исключения органах. Они всегда является следствием отражения влияния негативных факторов на организм, и, как правило, служат своеобразным биологическим индикатором состояния окружающей среды. Изучение трансформаций на микроуровне даёт возможность своевременно выявлять степень патологии, что позволит не только своевременно решать существующие проблемы, но и находить адекватные методы их предупреждения.

Выводы и перспективы дальнейших исследований. Длительная интоксикация организма рыб приводит к активизации клеточной пролиферации и процессов регенерации, что указывает на развившуюся адаптацию организма к стресс-фактору.

Присутствие липид-зависимых полостей в клетках печени сопряжена с низкой выживаемостью особей вследствие аккумуляции жирорастворимых ядов. Для поддержания резистентности и гомеостаза организма весьма существенны механизмы снижения действующей концентрации ядов и их детоксикации.

Полученные данные позволяют характеризовать экологическую ситуацию, сложившуюся на акватории Азово-Черноморского бассейна как в целом неблагоприятную для воспроизводства видов, обладающих повышенной резистентностью к изменениям параметров окружающей среды.

В дальнейшем планируется продолжение исследований в данном направлении для расширения и углубления представлений о механизме влияния токсикантов на канцерогенез, и усовершенствование методологии гигиенического нормирования факторов окружающей среды.

References

1. Avtandilov GG. *Medicinskaja morfometrija: rukovodstvo*. M: Izd-vo «Medicina», 1990. 384 s. [Russian]
2. Andreev VV. Nakoplenie tyazhelyh metallov v vodnyh ehkosistemah i ih vliyanie na osetrovyh ryb. *Osetrovoe hozjajstvo vodoemov SSSR*. 1989; 30: 6-7. [Russian]
3. Balabanova LV, Stepanova VM. Hronicheskoe dejstvie naftalina i dihydrofosa na immunokompetentnye kletki mozambikskoj tilyapii (*Oreochromis mossambicus* Petersy). *Byologiya vnutrennykh vod*. 2000; 4: 146-55. [Russian]
4. Buchac'kij LP. Angiolejomiosarkoma pelingasa iz Azov'skogo morya. *Veterin med Ukraïni*. 2005; 2: 31-2. [Ukrainian]
5. Gorizontov PD. *Detoksikacija kak odin iz mekhanizmov gomeostaza i rezistentnosti*. M: Medicina, 1976. P. 234-58. [Russian]
6. Zhukinskij VN. *Vliyanie abioticheskikh faktorov na zhiznesposobnost' ryb v rannem ontogeneze*. M: Agropromizdat, 1986. 246 s. [Russian]
7. Zenzarov VS. Morfofunkcional'nye izmeneniya v pecheni i shchitovidnoj zheleze treski pri dejstvii DDT. *Materialy 1-go s"ezda Sovetskikh okeanologov*. 1977; 2: 167-72. [Russian]
8. Kartashova O.A. *Funkcional'naya morfologiya pecheni*. Riga: Zinatne, 1979. 342 s. [Russian]
9. Kozij MS. *Ocenka sovremennogo sostojanija gistologicheskoi tehniki i puti usovershenstvovaniya izuchenija ihtiofauny*: monografija. Herson: Oldi-pljus, 2009. 310 s. [Russian]

УДК 597.08.591.1.81.

ОСОБЛИВОСТІ ПАТОЛОГІЧНОЇ МОРФОЛОГІЇ ПЕЧІНКИ САЗАНА *CYPRINUS CARPIO* LINNAEUS, 1758 У ТРАНСФОРМОВАНИХ УМОВАХ ІСНУВАННЯ

Козій М. С., Грищенко Г. В., Силенко О. О.

Резюме. Вивчено вплив високих концентрацій водорозчинного токсиканту «BULLDOG» ES на паренхіму печінки сазана. Наведено дані патологічних змін в медіальній зоні органу. Показана можливість використання фактичного матеріалу в гістології, порівняльній, функціональній та клінічній морфології.

Гістологічний аналіз печінки риб показав адаптивні відповіді органів, порушення мікроциркуляції крові, дистрофічні зміни в паренхімі. Компенсаційні зміни в гепатоцитах морфологічно не відрізняються від процесів адаптивної клітинної перегрупування. Форма функціональної адаптації – дедиференцировка клітин, як при нормальних умовах розвитку тканин, так і під дією факторів.

Ключові слова: печінка, паренхіма, патологія, токсикант.

UDC 597.08.591.1.81

Peculiarities of the pathological morphology of *Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758 in transformed living conditions

Kozij M. S., Grichenko G. V., Silenko A. A.

Abstract. Anthropogenic impact on the hydrosphere has acquired an alarming scale and causes a decline in the number of population of aquatic organisms. The vertebrate organism is a powerful factor in the accumulation

of chemical elements in the hydrosphere. Fish often take on the burden of anthropogenic load, so conducting clinical trials is relevant.

Histological analysis of the liver of fish showed adaptive organ responses, blood microcirculation disorders, and dystrophic changes in the parenchyma. Compensatory changes in the hepatocytes were morphologically indistinguishable from processes of adaptive cell rearrangement. The form of functional adaptation is dedifferentiation of cells both under normal conditions of tissue development and under the action of damaging factors.

Microcirculation disorders are the first signs of pathological processes in the liver. In the conditions of prolonged exposure to toxicants, venous plethora, stasis was found.

Fish liver is characterized by high reactivity and a large reserve of functional ability. In conditions of pathology, the functions of the organ are violated. Dystrophies are the most common morphological signs of these disorders. Dystrophic changes involve parenchymal structures. There often observed granular, hydrophilic and fatty degenerations of the hepatocytes in the pathology of the fish liver.

Progression of granular dystrophy leads to the appearance of hydropic dystrophy. There were various vacuoles observed with fatty degeneration in the cytoplasm of the hepatocytes. Fatty vacuoles of cells are merge form of fatty cysts.

The increased fat content in the fish liver is a consequence of the disturbance of metabolic processes during the action of toxicants. This can serve a diagnostic sign of the degree of organ damage in chronic exotoxicosis.

In the case of a slow development of fatty degeneration, there is a moderate shift and an uneven squeezing of the hepatocytes. The nucleus is oriented centrally with rapidly developing fatty degeneration. The lipofanerosis is the most severe form of fatty degeneration.

Functional deficiency of the parenchyma leads to the increase in the organ's reticular tissue. The morphological picture of fibrosis is represented by an increase in the collagen fibers content.

A variety of violations in the liver structure is one of the symptoms of body intoxication which precedes the development of cirrhosis. Changes serve a kind of biological indicator of the state of environment.

The ecological situation in the water area of the Azov-Black Sea basin is generally unfavorable for the reproduction of species. Continuation of research is necessary to expand the understanding of the mechanism of toxicants' influence on carcinogenesis and improve the methodology of hygienic regulation of environmental factors.

Keywords: liver, parenchyma, pathology, toxicant.

Стаття надійшла 15.04.2018 р.

Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування