



УДК 597.08.591.1.81

<https://doi.org/10.53904/1682-2374/2023-25/11>
М.С. Козій*Чорноморський національний університет імені Петра Могили**вул. 68 Десантників, 10, м. Миколаїв, 54000 Україна*

e-mail: kozij67@gmail.com

<https://orcid.org/0000-0001-8131-8528>

МІКРОРІВНЕВІ ЗМІНИ ПЕЧІНКИ БІЛОГО АМУРА (*STENOPHARYNGODON IDELLA VALENCIENNES*, 1844) У ПРИРОДНИХ І ЗМІНЕНИХ УМОВАХ ІСНУВАННЯ

Патологія, паренхіма, печінка, токсикант

МІКРОРІВНЕВІ ЗМІНИ ПЕЧІНКИ БІЛОГО АМУРА (*STENOPHARYNGODON IDELLA VALENCIENNES*, 1844) У ПРИРОДНИХ І ЗМІНЕНИХ УМОВАХ ІСНУВАННЯ. М.С. Козій. – Вплив антропогенного чинника на гідросферу набув катастрофічних масштабів. Внаслідок цього відбувається скорочення чисельності популяцій водної біоти. Організм гідробіонтів є потужним фактором акумуляції хімічних речовин у водному середовищі. Відомо, що риби одні з перших реагують на антропогенне навантаження. Тому проведення гістологічного моніторингу з метою оцінки стану організму має вагоме значення. Мікроанатомічний аналіз ділянок печінки риб дозволив виявити такі реакції органів, як порушення циркуляції крові в капілярах, зміни дистрофічного характеру. Компенсаторні модифікації клітин печінки не відрізняються від типової адаптивної перебудови гепатоцитів. Модифікацією функціональної адаптації вважатиметься дедиференціювання клітин у нормальних умовах існування і під впливом пошкоджуючого чинника. Першою ознакою патологічних перебудов печінки є порушення мікроциркуляції. При тривалому впливі токсикантів виявляється венозна повнокровність та явище стазу. Печінка риб має властивість високої реактивності і має великий функціональний резерв. У трансформованих умовах існування функції органу порушуються. Підвищений вміст жиру у печінці риб є наслідком порушення обмінних процесів при дії токсикантів. Найбільш частою морфологічною ознакою цих порушень є різноманітні дистрофічні зміни. При патології паренхіми печінки риб спостерігається зерниста, гідропічна та жирова дистрофія клітин. При повільному перебігу жирової дистрофії характерне помірне зрушення клітинних параметрів та місцеве деформування гепатоцитів. У динаміці процесу виникає найважча форма жирової дистрофії – ліпофанероз. Прогресування зернистого варіанта провокує початок гідропічної дистрофії. Жирове переродження характеризується появою у цитоплазмі вакуолей із різними розмірами. Дрібні вакуолі зливаються з утворенням специфічних жирових кіст. Їхня поява вважається діагностичною ознакою ступеня ураження печінки при хронічному екзотоксикозі. Функціональна недостатність органу супроводжується збільшенням кількості ретикулярної тканини у паренхімі. Збільшення вмісту колагенових волокон відповідає морфологічній картині фіброзу. Численні трансформації структури печінки є свідченням інтоксикації організму, провокують виникнення цирозу і служать специфічним біоіндикатором стану довкілля. Екологічна ситуація в Азово-Чорноморському басейні розцінюється як несприятлива для відтворення гідробіонтів.

MICRO-LEVEL CHANGES IN THE LIVER OF WHITE CARP (*STENOPHARYNGODON IDELLA VALENCIENNES*, 1844) IN NATURAL AND MODIFIED CONDITIONS OF EXISTENCE. M.S. Kozij. – The impact of the anthropogenic factor on the hydrosphere has acquired catastrophic proportions. As a result, there is a reduction in the number of populations of aquatic biota. The organism of hydrobionts represents a powerful factor in the accumulation of chemicals in the aquatic environment. It is known that fish are among the first to respond to anthropogenic pressure. Therefore, conducting histological monitoring in order to assess the condition of the body is of great importance. Microanatomical analysis of fish liver sections made it possible to identify organ reactions in the form of impaired blood circulation in the capillaries and dystrophic changes. Compensatory modifications of liver cells are indistinguishable from typical adaptive restructuring of hepatocytes. A modification of functional adaptation can be considered the dedifferentiation of cells under normal living conditions and under the influence of a damaging factor. The first sign of pathological changes in the liver is a violation of microcirculation. With prolonged exposure to toxicants, venous congestion and the phenomenon of stasis are detected. The liver of fish is highly reactive and has a large functional reserve. In transformed living conditions, the functions of the organ are disrupted. The increased fat content in the liver of fish is a consequence of metabolic disorders caused by the action of toxicants.

The most common morphological sign of these disorders is a variety of dystrophic changes. With pathology of the liver parenchyma of fish, granular, hydropic and fatty degeneration of cells is observed. A slow course of fatty degeneration is characterized by a moderate shift in cellular parameters and local deformation of hepatocytes. In the dynamics of the process, the most severe form of fatty degeneration occurs – lipophanerosis. The progression of the granular variant provokes the onset of hydropic dystrophy. Fatty degeneration is characterized by the appearance of vacuoles of various sizes in the cytoplasm. Small vacuoles merge to form specific fatty cysts. Their appearance is considered a diagnostic sign of the degree of liver damage in chronic exotoxicosis. Functional organ failure is accompanied by an increase in the amount of reticular tissue in the parenchyma. An increase in the content of collagen fibers corresponds to the morphological picture of fibrosis. Numerous transformations of the liver structure are evidence of intoxication of the body, provoke the occurrence of cirrhosis and serve as a specific bioindicator of the state of the environment. The ecological situation in the Azov-Black Sea basin is regarded as unfavorable for the reproduction of aquatic organisms.

Зростаючий і багатофакторний антропогенний тиск на акваторії набув катастрофічних масштабів, що відчутно позначається на скороченні чисельності популяцій водних організмів. При цьому слід зазначити, що організми гідробіонтів тваринного походження є досить потужним фактором накопичення хімічних речовин у гідросфері. Відомо, що риби представлені кінцевою ланкою гідроєкосистем, через що приймають головний тягар антропогенних трансформацій (Beckman, 1988; Bashir, Lan, 2002; Parashar, Banerjee, 2002; Volotova, Konovalov, 2003; Simonato, Guedes, 2008; Lukin, Sharova, 2011). Нині накопичено певний фактичний матеріал щодо вивчення морфофункціональних особливостей органів різних видів риб (Козій, 2011), проте вплив на печінку риб агротехнічних токсикантів нового покоління у спеціальній літературі описаний недостатньо. Зокрема, препарат ES "BULDOG" (ГДК 0,055 мг/л) порівняно недавно застосовується в агротехнічній практиці півдня України. Інсектицид досить ефективний через свій широкий спектр дії. З екологічної позиції цікавить вивчення особливостей реакцій печінки риб на новий препарат як відповідь на трансформування умов існування в результаті забруднення прибережних акваторій активними ґрунтовими стоками. Виходячи з вищесказаного, здійснення у цьому напрямку моніторингових досліджень органів-мішеней має актуальність та перспективність.

Матеріали і методи досліджень

З метою отримання достовірних результатів дані дослідження були проведені в природних умовах існування. Досліджувані групи були сформовані за принципом аналогів: інтактна (з умовно чистої акваторії понизь р. Дніпро, дослідна (акваторія понизь р. Дніпро, що забруднена активним ґрунтовим стоком). У кожній групі було визначено 10 статевозрілих (5-річних) особин, приналежність до статі при цьому не враховували.

Утримання риб здійснювали у спеціально обгороджених прибережних ділянках акваторії ($S=8,0 \text{ м}^2$, огороження сіткою з вічком 2,5 од., що дозволило виключити стрес-фактор при контакті з хижаками у літній час (липень–серпень 2021 р.), з урахуванням оптимальності кормової бази та сезонного гідрологічного оптимуму. Гістологічні дослідження зразків печінки риб були проведені на базі лабораторії гістології, цитології та ембріології Чорноморського національного університету імені Петра Могили. Камеральну обробку зразків печінки здійснювали за допомогою авторського обладнання та комбінованого заливання тканин гідробіонтів (модифікованого методу Апаті) (Козій, 2009). Обґрунтованість вибору маргінальної зони печінки риб визначається особливою місцевою контрастністю гістологічної картини, що виникає на фоні зміщення клітинної функції. Біометричні дослідження тканин виконані згідно з загальноприйнятими методиками (Антомонов, 2006). Отриманий матеріал обробляли методом варіаційної статистики з акцентом на помилки середніх величин, а також за допомогою пакету прикладних програм "Microsoft Excel".

Результати досліджень та їх обговорення

Тривале утримання риб в оптимальних умовах існування дало можливість отримати об'єктивну картину будови печінкової паренхіми. В нормі орган покритий зовні тонкою фіброзною капсулою, що дає початок внутрішнім перетинкам. Частки печінки утворені балками, які сформовані двома рядами полігональних гепатоцитів, що відходять радіальними тяжами від центральної вени (рис. 1).

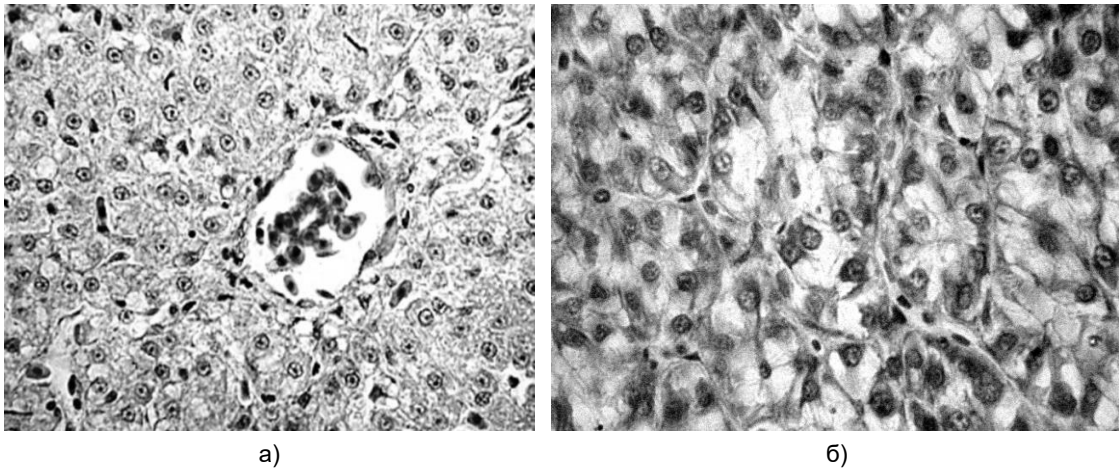


Рисунок 1. Структура маргінальної зони печінки білого амура. Норма. Гематоксилін Бьомера, фукселін Харта (у модифікації): а) – збільшення 120×, б) – збільшення 200×

Як бачимо (див. рис. 1: а), печінкові балки тісно переплітаються з синусоидами, що мають вигляд вузьких щілин між тяжами гепатоцитів. Ядра ендотелію капілярів витягнуті, локально виступають у просвіт судин. Гепатоцити звернені однією стороною до синусоїдів, іншою – до жовчних капілярів. Окремі клітини мають оптично однорідну цитоплазму (див. рис. 1: б). Іноді вона містить мізерну кількість зернистих включень, що відбиває різні фази акумуляції ліпідів. Нерівномірність вакуолізації цитоплазми, що виявляється, є свідченням фракційного характеру метаболічних процесів. Ядра гепатоцитів округлі (еліптичні), з чітко помітними глибокими гетерохроматину та нуклеолами. На підставі цієї картини можна зробити висновок, що клітини знаходяться у фінальній частині інтерфази.

Порівняльний мікроструктурний аналіз маргінальної зони печінки риб з акваторії, що тривалий час перебувала у зоні дії активного ґрунтового стоку (перевищення ГДК інсектициду більш ніж у 8 разів), дозволив виявити морфологічні зміни у вигляді компенсаторно-приспосувальних реакцій клітин, порушення мікроциркуляції крові та дистрофічних змін паренхіми. Зокрема, ранні компенсаторно-приспосувальні зміни гепатоцитів мають характер гіперфункції (рис. 2: а). З цього рисунка видно, що гіпертрофовані гепатоцити відрізняються збільшеними розмірами клітин та ядер, що майже завжди супроводжується збільшенням кількості нуклеол. Виявлено, що в умовах тривалої дії високих концентрацій інсектициду в паренхімі печінки виникає венозне повнокров'я та стази, що є сигналом початку патологічних процесів в органі (див. рис. 2: б). Спостерігається картина зупинки кровотоку, що спричинено токсичними впливами. При стазі просвіт розширених порожнин судин щільно заповнений форменими елементами крові. Найчастіше зі стазом пов'язаний швидкий розвиток геморагії.

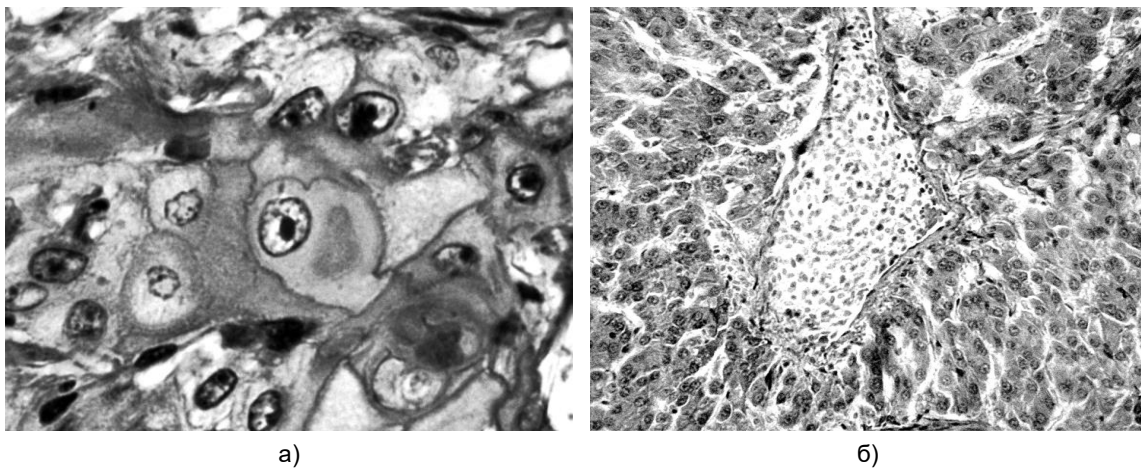


Рисунок 2. Маргінальна зона печінки білого амура. Гематоксилін Бьомера, фукселін Харта (у модифікації): а) – гіпертрофія гепатоцитів, збільшення 600×, б) – стан стазу, збільшення 120×

В нормальних умовах існування синтез ліпідів і глікогену у риб відбувається з різною інтенсивністю, що не пов'язано з видовою приналежністю. У трансформованих умовах існування функції органу зміщуються. Ця обставина в межах певної зони призводить до вузької клітинної спеціалізації. У нашому випадку практично у всіх особин, які зазнали тривалого впливу високих концентрацій ES "BULLDOG", була виявлена жирова дистрофія (рис. 3).

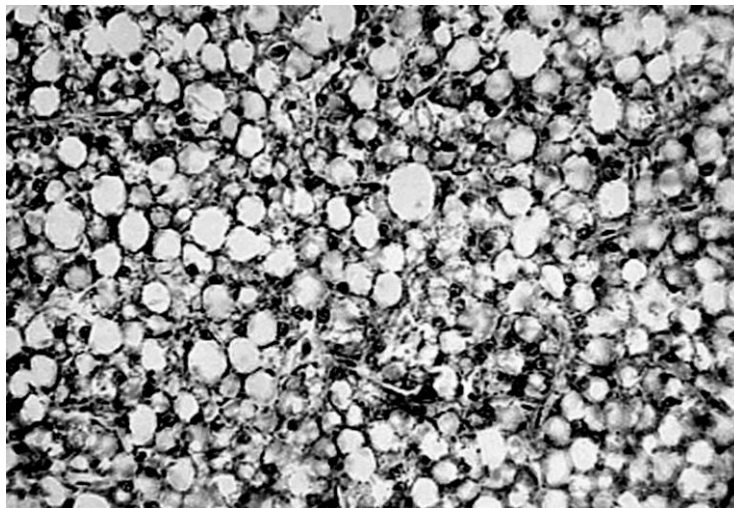


Рисунок 3. Маргінальна зона печінки білого амура. Жирова дистрофія. Гематоксилін Бьомера, фукселін Харта (у модифікації); збільшення 120×

У цитоплазмі клітин простежуються світлі, різної величини вакуолі (див. рис. 3). Дрібні вакуолі зливаються, утворюючи при цьому як більші, так і одну більшу вакуолю. Велика вакуоля зміщує ядро до периферії клітини. Цитоплазма таких клітин власне представляє вузький еозинофільний обідок. В окремих випадках жирові вакуолі суміжних клітин або самі клітини при злитті утворюють жирові кісти. У таких структурах ядра зникають і без'ядерні клітини утворюють великі ділянки.

Функціональна недостатність органу супроводжується збільшенням кількості ретикулярної тканини у паренхімі. Збільшення вмісту колагенових волокон відповідає морфологічній картині фіброзу.

Усунення клітинної функції супроводжується певними зрушеннями цитологічних характеристик (табл.).

Динамічність зміни цитоструктури маргінальної зони печінки білого амура в нормі та патології ($M \pm n$; $n=10$)

Група	Показники				
	розмір клітин, мкм	розмір ядра, мкм	співвідношення d		кількість внутрішньоклітинних порожнин, %
			ядро / клітина	ядерце / ядро	
інтактна	7,63±1,17	3,40±0,05	0,44±0,43	0,44±0,35	9,60±3,25
дослідна	10,16±2,41**	4,86±0,98	0,48±0,71	0,47±0,50	1,37±0,77***

Примітка: ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

Аналіз даних таблиці дозволяє зробити висновок, що збільшення площ клітин в 1,33 рази супроводжується збільшенням площ ядер (в 1,42 рази). Ця обставина демонструє зміну характеру внутрішньоклітинного метаболізму. Це виявляється у відчутному (в 7 разів) зниженні глікогеносекретуючої функції клітин. Невиразне збільшення значення відношення діаметра "ядерце / ядро" (в 1,1 рази) також вказує на зміну клітинної функції у вигляді підвищення рівня синтезу ліпідів.

Отримані результати дозволяють зробити висновок, що печінці риб властиві високий резерв функціональної здатності та значна реактивність. В той же час цілком очевидно, що реакції органу багато в чому стереотипні і фактично не залежать від характеру та інтенсивності впливу водного середовища. Примітно, що компенсаторні зміни клітин печінки риб

на мікрорівні майже не відрізняються від окремих процесів адаптивної перебудови гепатоцитів. Так, специфічною формою прояву функціональної адаптації є клітинне дедиференціювання, що спостерігається однаково в нормі та при дії деструктивних агентів.

Жирова гіпертрофія печінки риб може бути наслідком порушення обмінних процесів як в результаті трансформування кровотоку на локальній ділянці органу, так і в результаті токсикантів. У зв'язку з цим закономірно виникає питання про порушення функції органу при тій чи іншій мірі жирової дистрофії. Цілком природно, що дослідження паренхіми виключно світлооптичними методами не може дати вичерпної відповіді, оскільки за тим самим поняттям "дистрофія" ховається як різний ступінь патології ультраструктури клітини, так і неоднакове співвідношення між пошкодженими та нормальними структурами. На наш погляд, фіксується також невідповідність між незначними порушеннями функції органу та помітними морфологічними зрушеннями, оскільки дані, аналогічні наявним щодо наземних хребетних, були отримані також і при дослідженнях риб. Тим не менш, можна зробити певний висновок щодо характеру змін гепатоцитів. Так, у разі повільного розвитку жирової дистрофії спостерігається помірне зміщення та нерізде стискання органодів гепатоцитів, яке не викликає помітних змін. При жировій дистрофії, що швидко розвивається, ядро орієнтується центрально, що свідчить про ліпофанероз – найбільш важку форму жирової дистрофії, яка супроводжується функціональною недостатністю паренхіми.

Висновки

Тривала інтоксикація організму риб породжує активізацію клітинної проліферації та регенерації, що демонструє розвиток адаптації особин до стрес-фактору. Жирове переродження клітин печінки пов'язане з низькою виживаністю особин через акумуляцію жиророзчинних отрут. Для підтримки гомеостазу та резистентності організму надзвичайно важливі механізми зниження діючої концентрації отрут та їх подальшої детоксикації.

Отримані дані дозволяють характеризувати екологічну ситуацію, що склалася на акваторії Азово-Чорноморського басейну, як загалом несприятливу для відтворення видів, що мають підвищену резистентність до змін параметрів навколишнього середовища.

У перспективі продовження досліджень у цьому напрямку необхідне для розширення та поглиблення уявлень про механізм впливу токсикантів на канцерогенез. Вивчення трансформацій на мікрорівні дає можливість своєчасно виявляти ступінь патології, що дозволить як своєчасно вирішувати існуючі проблеми, так і знаходити адекватні методи попередження.

- Антомонов М. Ю. Математична обробка та аналіз медико-біологічних даних. Київ : VMD, 2006. 558 с.
- Козий М. С. Оценка современного состояния гистологической техники и пути усовершенствования изучения ихтиофауны : монография. Херсон : Олди-плюс, 2009. 310 с.
- Козий М. С. Гистоморфологические особенности ихтиофауны Юга Украины : монография. Херсон : Олди-плюс, 2011. 180 с.
- Bashir A., Lan J. P. Hepatic and gonadal lesions in medaka (*Oryzias latipes*) exposed to trichloroacetic acid as embryos. Proc. IV Internat. Symp. Aquatic Animal Health. New Orleans. ISAAH. 2002. P. 238–239.
- Beckman B. R. Copper intoxication in chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) induced by natural springwater: effect on gill Na^+ , K^+ -ATP-hase, hematocrit and plasma glucose. *Fish Aquat. Sci.* 1988. N 8. P. 1430–1435.
- Bolotova N. L., Konovalov A. F. Morphopathologic analysis of zander (*Stizostedion lucioperca* L.) in Beloe Lake. 28 Congr. Internat. Ass. Theor. Applied Limnol. Pt. 3. Melbourn. 2003. P. 1609–1612.
- Lukin A., Sharova J. Assessment of fish health status in the Pechora river: effects of contamination. *Ecotoxicology and Environmental Safety.* 2011. Vol. 74(3). P. 335–365.
- Parashar R. S., Banerjee T. K. Toxic impact of lethal concentration of lead nitrate on the gills of air-breathing catfish *Heteropneustes fossilis* (Bloch). Ver. Arh. 2002. Vol. 72(3). P. 167–183.
- Simonato J. D., Guedes C. L. Biochemical, physiological and histological changes in the neotropical fish *Prochilodus lineatus* exposed to diesel oil. *Ecotoxicology and Environmental Safety.* 2008. Vol. 69(1). P. 112–120.

Рукопис отримано 12.10.2023