

УДК 597-18:597.583.1.-1.044
ББК 28.693.324:[28.081.4:47.222]

Н. А. Каниева, Н. Н. Фёдорова

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ КАРПОВЫХ РЫБ ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ НЕФТИ

N. A. Kanieva, N. N. Fedorova

MORPHOFUNCTIONAL CHANGES IN CARP FISHES UNDER THE INFLUENCE OF OIL

Экспериментальные исследования позволили получить данные, свидетельствовавшие о воздействии сублетальных концентраций сырой нефти на организм карповых рыб. Опыты проведены на карпах в возрасте 2+, длительность эксперимента составила 30 суток. Пробы отбирали через 10, 20 и 30 суток эксперимента. Проницаемость гематоэнцефалического и гистогематического барьеров (мышцы, печень) определяли *in vitro* колориметрическим методом. Исследованы гистологические срезы головного мозга. Установлено, что при воздействии сублетальной концентрации нефти на рыб повышается уровень проницаемости нейтрального красного через гематоэнцефалические и гистогематические барьеры. Установлено, что на 10-е сутки эксперимента развивались компенсаторно-адаптивные реакции организма рыб. С увеличением времени воздействия токсиканта – на 20–30-е сутки – в организме рыб появились признаки деструктивных реакций в жизненно важных органах, в том числе в центральной нервной системе.

Ключевые слова: экспериментальные исследования, карповые рыбы, каспийская нефть, интоксикация, гематоэнцефалический и гистогематический барьеры, гистологические срезы головного мозга рыб, компенсаторно-защитная реакция.

Experimental studies provide evidence on the effects of sublethal concentrations of crude oil on the body of the carp fish. Experiments were conducted on carp over the age of two years. The experiment lasted 30 days. Samples were selected in 10, 20, 30 days from the experiments. The permeability of blood-brain and histohematogenous barriers (in muscle, liver) were determined *in vitro* by the colorimetric method. The histological environment of the fish brain was studied. It was stated that the exposure to sublethal concentrations of oil on fish increased the level of permeability of the neutral red through hemato-incirenic and histohematological barriers. It was found that on the 10th day of the experiment fish evolved compensatory-adaptive reactions. With the increase of toxicity exposure time on the 20–30th fish showed signs of destructive reactions of vital organs, as well as in the central nervous system.

Key words: experimental studies, carp, Caspian oil, intoxication, hemato-incirenic and histohematological barriers, histological environment of the fish brain, compensatory-adaptive reaction.

Введение

Организм животных, в том числе и рыб, обладает значительными возможностями для адекватного реагирования на действие повреждающих факторов внешней среды. Эти возможности складываются как из механизмов, осуществляющихся на уровне целостного организма, отдельных тканей, так и из приспособительных возможностей отдельных клеток.

Несмотря на широкое использование современных методов анализа, очень редко изучается подвергшаяся влиянию риск-фактора конкретная функциональная система организма. Как правило, для анализов используется прежде всего кровь, ее клетки и плазма. Такой подход, без сведений о функциональных нарушениях внутренних органов и, особенно, нервной системы, в настоящее время ограничивает знания о количественных и качественных изменениях компенсаторно-приспособительных реакций, определяющих возможность обратимости нарушений, вызванных действием поллютантов. Известны факты, свидетельствующие о расстройствах центральной нервной системы (ЦНС) в результате накопления в организме гидробионтов вредных метаболитов, которые с кровью проникали через гистогематический барьер в головной мозг. Патоморфологические изменения в головном мозге рыб под влиянием различных токсинов были описаны в [1–3]. Опубликованы материалы о фенольном отравлении рыб [4], влиянии гербицидов ялана и сатурна на них [5], а также данные о структурных изменениях в головном мозге рыб под влиянием нефти [6, 7].

В связи с вышесказанным целью исследований явился анализ морфофункциональных изменений мотонейронов, определяющих потенциальные возможности адаптации рыб к нефтяному загрязнению.

Материал и методы исследования

Опыты проводили на карпах (*Cyprinus carpio* L.) в возрасте 2+, рыб содержали в бассейнах при сублетальной концентрации сырой нефти, равной 150 мг/л, контрольных – в воде бассейнов без добавления токсиканта. Эксперимент проходил в течение 30 суток при постоянной аэрации воды и кормлении рыб живыми и искусственными кормами. Пробы отбирали из хвостовой вены рыб через 10, 20 и 30 суток эксперимента, у интактных – в те же дни и часы.

Проницаемость гематоэнцефалического и гистогематического барьеров определялась *in vitro* колориметрическим методом [8].

Гистологические срезы головного мозга толщиной 5–7 микрон окрашивали по Нисслю [9, 10].

Все препараты микроскопировали и фотографировали на микроскопе фирмы «Olimpus» и стереомикроскопе фирмы «Leica-MZ 12.5», оснащенном телевизионной камерой «Рисхера».

Для обработки цифровых данных были использованы методы вариационной статистики [11, 12], полученный цифровой материал обработан с помощью компьютерной программы DSTAT.

Результаты исследования и их обсуждение

Результаты эксперимента выявили морфологические изменения различных отделов головного мозга двухлеток карпа, подвергшихся воздействию сублетальной концентрации нефти.

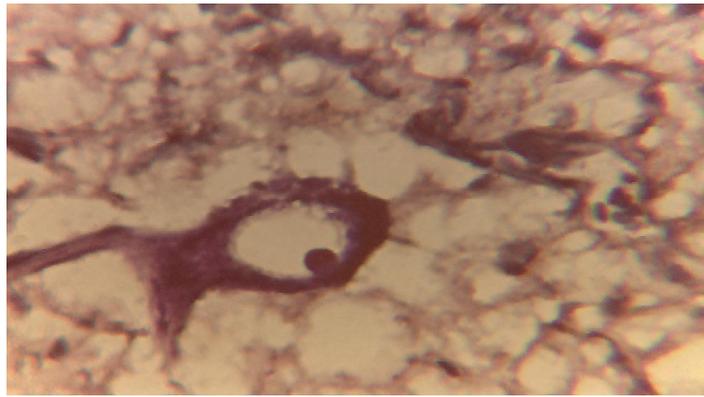
Контрольные варианты морфоструктуры всех отделов мозга карповых рыб соответствовали норме.

Через 10 суток эксперимента сосуды мозга становились расширенными, полнокровными, в некоторых из них наблюдалась агрегация эритроцитов. В ткани мозга появились мелкие очаговые кровоизлияния. Сосудистые изменения сопровождалось периваскулярным и перичеллюлярным отеком. Нейроны имели следующие изменения: произошло резкое набухание и гомогенизация цитоплазмы нервных клеток, эктопия (смещение) ядра к периферии клетки, у части клеток наблюдались явления кариоцитолитического, характеризовавшиеся «побледнением» цитоплазмы, лизисом ядра с постепенным превращением нейронов в «клеточную тень». Иногда наблюдались сморщенные, гиперхромные клетки с признаками вакуолизации, а также с отложениями липофусцина в цитоплазме (рис. 1, а).

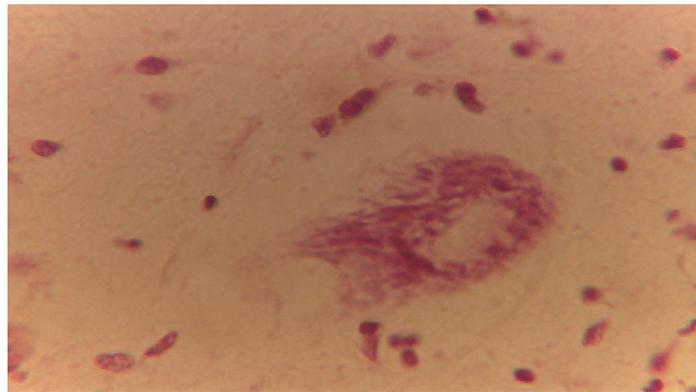
По мере увеличения времени воздействия нефти (20 суток эксперимента) в сосудах были выявлены гемокоагуляционные нарушения, сопровождавшиеся крупными кровоизлияниями в окружающие ткани. Отмечался периваскулярный и перичеллюлярный отек, наблюдались мелкие очаги некроза. Изменения нейронов были идентичны таковым у особей с 10-ю сутками экспозиции: выявлено набухание нейронов, кариолизис, дистрофические нарушения кариоплазмы, некробиоз (рис. 1, б).

На 30-е сутки эксперимента наблюдалось увеличение полнокровия сосудов, нарастал периваскулярный и перичеллюлярный отек. Отмечался тотальный кариолизис нейронов, а также цитолитический с образованием клеток-теней. Сохранившиеся нейроны представляли собой сморщенные гиперхромные клетки, что свидетельствовало об их функциональном чрезмерном напряжении и предшествовало их гибели, или клетки становились гипертрофированными, что являлось признаком развивавшихся компенсаторно-приспособительных реакций (рис. 1, в).

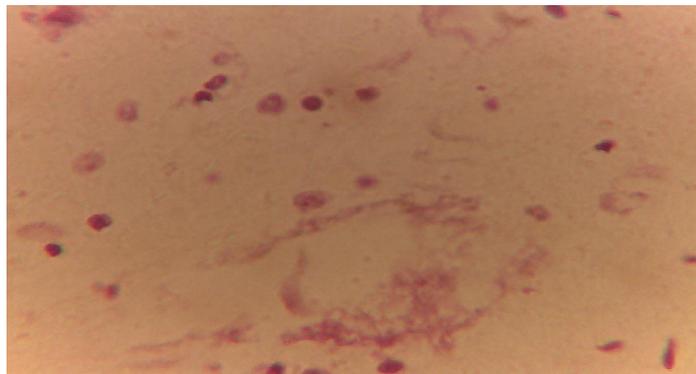
На 10-е сутки эксперимента происходило заметное повышение уровня проницаемости гематоэнцефалического барьера мозга относительно контрольного – в два раза. С увеличением времени воздействия нефти (20 суток) в мозгу рыб проницаемость гематоэнцефалического барьера становилась близкой к контрольной (рис. 2). Уровень проницаемости гематоэнцефалического барьера к нейтральному красному продолжал достоверно возрастать на 30-е сутки интоксикации (в 1,9 раза).



a



б



в

Рис. 1. Морфологические изменения в продолговатом мозге карпа под влиянием нефти:
a – 10 суток эксперимента; *б* – 20 суток эксперимента; *в* – 30 суток эксперимента.
Окраска по Ниссля; ув. 800

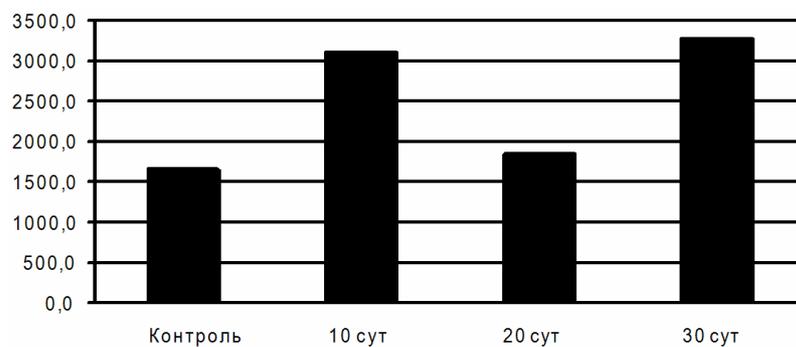


Рис. 2. Действие нефти на проницаемость гематоэнцефалического барьера
двухлеток карпа в эксперименте, мкг красителя/мг сухого веса ткани мозга

Обратимость нарушений, вызванных изменениями экологической обстановки, воздействием нефти, возможно ожидать в паренхиматозных органах и тканях, которым свойственна пролиферация клеточных элементов (печень, мышцы и т. д.). В эксперименте воздействие нефти на уровень проницаемости гистогематических барьеров печени и дорсальных мышц показало выраженную тенденцию к его зависимости от длительности экспозиции. Отметим, что проницаемость гистогематических барьеров была особенно высока на 20-е и 30-е сутки эксперимента по сравнению с контролем (табл.).

Средние значения сорбции нейтрального красного в печени и мышцах карпов в зависимости от экспозиции действия нефти

Показатель	Экспозиция	$M \pm m$	P
Мышцы	К	2359,8 ± 48,3062	*
	10	2542,7 ± 145,3031	
	20	2681,4 ± 101,1812	
	30	2680,2 ± 174,8646	
Печень	К	2057,7 ± 1150087	*
	10	1875,4 ± 194,8532	
	20	3073,6 ± 70,4221	
	30	2163,3 ± 180,0698	

Примечание. Звездочками отмечены величины, достоверно отличающиеся от соответствующих значений в контроле: $p < 0,05$.

Нарушение гистогематических барьеров приводит к нарушению трофики и накоплению эндотоксикантов в крови и тканях органов. Эти нарушения особенно опасны для мозга и ЦНС в целом, т. к. это ведет к функциональным расстройствам не только отделов ЦНС, но и других систем организма.

С изменением уровня проницаемости гематоэнцефалических и гистогематических барьеров в мозгу, печени и мышцах, на фоне деструктивных процессов в тканях этих органов, можно предположить, что токсикоз вступил в последнюю фазу, которая носила разрушающий характер.

Заключение

Экспериментальные исследования позволили получить данные, свидетельствовавшие о суммарном воздействии экзотоксикантов. На 10-й день эксперимента отмечался в основном адаптивный характер компенсаторно-защитных реакций организма в связи с интоксикацией нефтью, эффект которых утрачивал свое позитивное значение для организма вследствие развития необратимых процессов на 20–30-й день эксперимента в виде деструкции мотонейронов в отделах ЦНС подопытных рыб.

При воздействии сублетальной концентрации нефти на рыб повышался уровень проницаемости нейтрального красного через гематоэнцефалические и гистогематические барьеры. Мотонейроны всех исследованных отделов, включая двигательные ядра среднего мозга, находились в состоянии деструкции. Рыбы отказывались от корма, переставали двигаться.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бурковский А. Л. Влияние фосфорорганических соединений на микроморфологию и гистологию внутренних органов рыб / А. Л. Бурковский, С. Г. Кулькин // Тез. докл. Межотраслевой науч.-практ. конф. «Состояние и охрана биологических ресурсов Волгоградской области». Волгоград, 1977. С. 136–138.
2. Кокуричева М. П. О применении гистологического изучения органов и тканей рыб в водной токсикологии / М. П. Кокуричева // Влияние пестицидов и нефтепродуктов на водные организмы // Изв. ГосНИОРХ. 1974. Т. 98. С. 112–120.
3. Щербаков Ю. А. Морфологические изменения, развивающиеся в органах рыб при привыкании к токсическим веществам / Ю. А. Щербаков // Реакция гидробионтов на загрязнение. М., 1983. С. 114–116.
4. Лебединский Н. А. Санитарная гидробиология и водная токсикология / Н. А. Лебединский, В. А. Помаржанская. Рига, 1968. С. 81–86.
5. Земков Г. В. Эколого-токсикологические особенности влияния гербицида ялана на рыб / Г. В. Земков: дис. ... канд. биол. наук. Астрахань, 1990. 23 с.
6. Каниева Н. А. Особенности изменения белкового спектра сыворотки крови и скелетных мышц карпа в процессе интоксикации нефтью / Н. А. Каниева // Вестн. Саратов. гос. аграрного ун-та им. Н. И. Вавилова. 2004. № 2. С. 3–6.
7. Обухов Д. К. Исследование влияния нефтяного загрязнения на морфофункциональное развитие молоди осетровых / Д. К. Обухов, В. И. Крючков // Вопросы рыболовства. 2000. Т. 1, вып. 4. С. 98–117.

8. Покровский А. А. Биохимические методы исследования в клинике: справочник / А. А. Покровский. М.: Медицина, 1969. 651 с.
9. Меркулов Г. А. Курс патогистологической техники / Г. А. Меркулов. М.: Медицина, 1969. 422 с.
10. Ромейс Б. Микроскопическая техника / Б. М. Ромейс. М.: Иностран. лит., 1953. 720 с.
11. Лакин Г. Ф. Биометрия / Г. Ф. Лакин. М.: Высш. шк., 1973. 343 с.
12. Плохинский Н. А. Биометрия / Н. А. Плохинский. М.: Изд-во МГУ, 1973. 302 с.

REFERENCES

1. Burkovskij A. L., Kul'kin S. G. Vlijanie fosfororganicheskikh soedinenij na mikromorfologiju i gistologiju vnutrennih organov ryb [Influence of phosphorous organic compounds on micromorphology and histology of inner fish organs]. *Tezisy докладov Mezhotraslevoj nauchno-prakticheskoj konferencii «Sostojanie i ohrana biologicheskikh resursov Volgogradskoj oblasti»*. Volgograd, 1977, pp. 136–138.
2. Kokuricheva M. P. O primenenii gistologicheskogo izuchenija organov i tkanej ryb v vodnoj toksikologii [On application of histological studies of fish organs and tissues in water toxicology]. *Vlijanie pesticidov i nefteproduktov na vodnye organizmy*. *Izv. GosNIORH*, 1974, vol. 98, pp. 112–120.
3. Shherbakov Ju. A. Morfologicheskie izmenenija, razvivajushhiesja v organah ryb pri privykanii k toksicheskim veshhestvam [Morphological changes, developing in fish organs while adaptation to toxic substances]. *Reakcija gidrobiontov na zagriznenie*. Moscow, 1983, pp. 114–116.
4. Lebedinskij N. A., Pomarzhanskaja V. A. *Sanitarnaja gidrobiologija i vodnaja toksikologija* [Sanitarian hydrobiology and water toxicology]. Riga, 1968, pp. 81–86.
5. Zemkov G. V. *Jekologo-toksikologicheskie osobennosti vlijanija gerbicida jalana na ryb*. Dis. kand. biol. nauk [Ecological and toxicological peculiarities of herbicide influence on fish. Diss. cand. biol. sci.]. Astrakhan, 1990. 23 p.
6. Kanieva N. A. Osobennosti izmenenija belkovogo spektra syvorotki krovi i skeletnyh myshej karpa v processe intoksikacii neft'ju [Specific features of changes in protein spectrum of blood serum and body muscles of carp during the process of oil intoxication]. *Vestnik Saratovskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta imeni N. I. Vavilova*, 2004, no. 2, pp. 3–6.
7. Obuhov D. K., Krjuchkov V. I. Issledovanie vlijanija neftjanogo zagriznenija na morfofunkcional'noe razvitie molodi osetrovyh [Study of influence of oil pollution on morphofunctional development of sturgeon juveniles]. *Voprosy rybolovstva*, 2000, vol. 1, iss. 4, pp. 98–117.
8. Pokrovskij A. A. *Biokhimicheskie metody issledovanija v klinike. Spravochnik* [Biochemical methods of clinical studies. Reference]. Moscow, Medicina Publ., 1969. 651 p.
9. Merkulov G. A. *Kurs patogistologicheskoi tehniky* [Course of pathohistological equipment]. Moscow, Medicina Publ., 1969. 422 p.
10. Romejs B. *Mikroskopicheskaja tehnika* [Microscopic equipment]. Moscow, Inostrannaja literatura Publ., 1953. 720 p.
11. Lakin G. F. *Biometrija* [Biometry]. Moscow, Vysshaja shkola Publ., 1973. 343 p.
12. Plohinskij N. A. *Biometrija* [Biometry]. Moscow, Izd-vo MGU, 1973. 302 p.

Статья поступила в редакцию 19.02.2014

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Каниева Нурия Абдрахимовна – Астраханский государственный технический университет; г-р биол. наук, профессор; профессор кафедры «Прикладная биология и микробиология»; kanievana52@mail.ru.

Kanieva Nuria Abdrakhimovna – Astrakhan State Technical University; Doctor of Biology, Professor; Professor of the Department "Applied Biology and Microbiology"; kanievana52@mail.ru.

Фёдорова Надежда Николаевна – Астраханский государственный технический университет; г-р мед. наук, профессор; профессор кафедры «Гидробиология и общая экология»; kanievana52@mail.ru.

Fedorova Nadezhda Nickolaevna – Astrakhan State Technical University; Doctor of Medicine, Professor; Professor of the Department "Hydrobiology and General Ecology"; kanievana52@mail.ru.