

Гистопатологии печени у рыб Саратовского водохранилища

© 2019. А. К. Минеев, д. б. н., с. н. с., О. В. Минеева, к. б. н., м. н. с.,
Институт экологии Волжского бассейна РАН,
445003, Россия, г. Тольятти, ул. Комзина, д. 10,
e-mail: mineev7676@mail.ru, ksukala@mail.ru

Приведены результаты многолетних ихтиопатологических исследований массовых видов рыб из акватории Кольцово-Мордовинского участка Саратовского водохранилища. С применением стандартных гистологических методик изучены патологии печени у плотвы, леща, окуня, бычков (кругляка, головача, цуцика) и головешки-ротана. Обнаружено 8 типов гистопатологических изменений органа: гиперемия, инфильтрация клеток крови, кистозные новообразования, пигментированные опухоли, фиброз, вакуольная и жировая дистрофии, некроз гепатоцитов. Выявленные патологии имели разную степень тяжести для рыб (2–4 балла по пятибалльной шкале). Преобладали повреждения, имеющие необратимый характер и угрожающие жизни рыб, особенно при воздействии стресс-факторов и в период зимовки. Разнообразие обнаруженных гистопатологических изменений печени является следствием воздействия на гидробионтов широкого диапазона поллютантов органической и неорганической природы, а также паразитарной инвазии.

Ключевые слова: Саратовское водохранилище, рыбы, гистопатологии печени.

Histopathology of fishes' liver in the Saratov reservoir

© 2019. A. K. Mineev^{ORCID: 0000-0002-3464-0554}, O. V. Mineeva^{ORCID: 0000-0002-5050-8545},
Institute of Ecology of the Volga River Basin RAS,
10, Komzina St., Togliatti, Russia, 445003,
e-mail: mineev7676@mail.ru, ksukala@mail.ru

In order to determine the level of anthropogenic load on the reservoir and form the ideas about the health of populations of aquatic organisms the ichthyopathological studies of mass fish species (*Rutilus rutilus* L., *Abramis brama* L., *Perca fluviatilis* L., *Neogobius melanostomus* Pallas, *N. iljini* Vasiljeva et Vasiljev, *Proterorhinus marmoratus* Pallas, *Percottus glenii* Dybowski) of the Saratov reservoir were carried out. Fish catching was carried out in the water area of the Koltsovo-Mordovin section of the reservoir in the period 2003–2013. As a bioindicator, the liver performing a variety of metabolic functions was chosen, which was studied by standard histological techniques. 8 types of histopathological organ changes were revealed. They were divided into circulatory (hyperemia), inflammatory (infiltration of blood cells), proliferative (cystic tumors, pigmented tumors, fibrosis) and degenerative (vacuole and fat dystrophy, necrosis of hepatocytes). The most common type of disorders was hyperemia (the incidence of the disease varies from 31.4% to 88.2%). Discovered histopathologies have different severity for fish (2–4 points on a five-point rating system state). Damage, which is usually irreversible and life-threatening to fish, especially when exposed to stress factors and during the winter, prevailed. The main factor determining the pathological changes of the liver is the intoxication of fish with pollutants of organic and inorganic nature. Parasitological study of fish revealed in the liver of animal larvae of nematodes *Eustrongylides excisus* Jägerskiöld, *Raphidascaris acus* Bloch, *Contracaecum microcephalum* Rudolphi, which have a pronounced mechanical and toxic effect. Nematode invasion causes the most serious damage to this organ (infiltration of blood cells, necrosis of hepatocytes).

Keywords: Saratov reservoir, fish, histopathology of liver.

Многофакторное антропогенное воздействие (гидростроительство, химическое и тепловое загрязнение, промысел, браконьерство и др.) неизбежно влечёт за собой деградацию водных и биологических ресурсов. Рыбы, высшее трофическое звено пресноводных экосистем, в течение своего продолжительно-

го жизненного цикла аккумулируют значительное количество поллютантов различной природы, что делает их удобным объектом биоиндикации. Поражения органов и тканей рыб могут наблюдаться при отсутствии визуальных симптомов интоксикации, в таких случаях патоморфологические изменения

являются единственным показателем вредного воздействия токсикантов [1].

Важнейшим гистофизиологическим маркером состояния организма и его реакции на экологический фон является печень, выполняющая множество метаболических функций, в том числе детоксикационную. Отечественными и зарубежными исследователями описаны разнообразные гистопатологические изменения в печени рыб, имеющие разную степень значимости для функционального состояния органа [1–7].

Цель настоящей работы состояла в оценке гистопатологического состояния печени массовых видов рыб Саратовского водохранилища, воды которого подвержены значительному антропогенному воздействию.

Материал и методика

Ихтиологический материал собирали в акватории Кольцово-Мордовинского участка Саратовского водохранилища (53°10' с. ш., 49°26' в. д.) в период с 2003 по 2013 гг. Всего исследовано 390 половозрелых особей семи видов рыб, в том числе 86 экз. плотвы *Rutilus rutilus* (L.), 41 экз. леща *Abramis brama* (L.), 36 экз. окуня *Perca fluviatilis* (L.), 42 экз. бычка-кругляка *Neogobius melanostomus*

(Pallas), 39 экз. бычка-головача *N. iljini* (Vasiljeva et Vasiljev), 34 экз. бычка-цуцика *Proterorhinus marmoratus* (Pallas) и 112 экз. головешки-ротана *Percottus glenii* (Dybowski).

При изготовлении гистологических препаратов (парафиновые срезы, 8 микрон) использовали стандартные методики [8]. Ихтиотоксикологическое состояние рыб оценивали по пятибалльной шкале [6].

Параллельно проводили паразитологическое исследование животных. Сбор, фиксацию и камеральную обработку паразитов осуществляли по общепринятой методике [9]. Видовую диагностику червей проводили по соответствующему определителю [10].

Для статистического анализа использовали программный пакет STATISTICA Statsoft, Inc. (v. 6) и MS Excel (2007).

Результаты и обсуждение

В результате многолетних исследований у рыб Саратовского водохранилища выявлено 8 типов нарушений печени (табл.).

Гистологический анализ показал, что у значительной части особей печень в различной степени гиперемирована (табл.), что свидетельствует об её интенсивном функционировании. Этот вид повреждений относят

Таблица / Table

Гистопатологии печени у рыб Саратовского водохранилища
Histopathology of liver of fish in the Saratov reservoir

Тип патологии Type of pathology	Встречаемость различных типов патологий, % Occurrence of different types of pathologies, %						
	<i>R. rutilus</i>	<i>A. brama</i>	<i>P. fluviatilis</i>	<i>N. melanostomus</i>	<i>N. iljini</i>	<i>P. marmoratus</i>	<i>P. glenii</i>
Гиперемия / Hyperemia	31,4±5,0	39,0±7,7	33,3±8,0	42,9±7,7	48,7±8,1	88,2±5,6	40,2±4,7
Вакуольная дистрофия Vacuole dystrophy	1,2±1,2	9,8±4,7	16,7±6,3	2,4±2,4	10,3±4,9	64,7±8,3	8,0±2,6
Жировая дистрофия Fat dystrophy	5,8±2,5	9,8±4,7	–	2,4±2,4	7,7±4,3	26,5±7,7	–
Кистозные новообразования / Cystic tumors	2,3±1,6	9,8±4,7	–	2,4±2,4	2,6±2,6	–	8,0±2,6
Пигментированные опухоли / Pigmented tumors	4,7±2,3	7,3±4,1	2,8±2,8	2,4±2,4	7,7±4,3	8,8±4,9	–
Фиброз / Fibrosis	–	4,9±3,4	13,9±5,9	9,5±4,6	10,3±4,9	5,9±4,1	6,3±2,3
Инфильтрация клеток крови / Infiltration of blood cells	11,6±3,5	31,7±7,4	11,1±5,3	11,9±5,1	17,9±6,2	17,6±6,6	8,0±2,6
Некроз гепатоцитов Necrosis of hepatocytes	11,6±3,5	26,8±7,0	5,6±3,9	19,0±6,1	20,5±6,6	52,9±8,7	14,3±3,3

Примечание: «–» – патология не отмечена.
Note: “–” – pathology not noted.

к нарушениям циркуляторного типа, которые обычно являются первыми признаками патологических процессов в органе, и по пятибалльной системе [6] оценивается как лёгкий, не угрожающий рыбам гибелью (2 балла).

В обычных условиях печени свойственна высокая реактивность и большой резерв функциональной способности. В условиях патологии функции печени нарушаются, а морфологическим признаком этих нарушений часто служат дистрофии [2, 11].

Наблюдаемая у всех видов рыб вакуольная дистрофия гепатоцитов характеризуется наличием в клетках печени вакуолей разного размера, наполненных цитоплазматической жидкостью. Встречаемость данной патологии, являющейся необратимой [11], у исследуемых гидробионтов варьирует в широких пределах (табл.).

Жировая дистрофия гепатоцитов, регистрируемая у 5 видов рыб (табл.), также относится к дегенеративным (с разрушением клеток) типам изменений. Мелкие капельки жира обнаруживаются и в нормальных клетках печени, однако в патологических условиях накопление липидов резко увеличивается. Причинами дегенеративного ожирения органа могут выступать как нарушения обменных процессов, развивающиеся вследствие ограничения кровотока, так и действие токсичных веществ [5, 11].

Кистозные новообразования в печени представляют собой аномальные полости в нормальной ткани органа, заполненные тканями разного происхождения. Подобные кисты образуются, по-видимому, в процессе дегенерации гепатоцитов, являясь результатом соединительно-тканых разрастаний их оболочки [1]. Данный тип гистопатологий является достаточно редким у рыб Саратовского водохранилища (табл.).

Пигментированные опухоли, также редко регистрируемые (табл.), представляют собой плотные новообразования с хорошо оформленными границами, состоящие из гранул, окрашенных в более тёмный, чем окружающие ткани, или чёрный цвет. У исследованных рыб количество подобных новообразований варьирует от одного до четырёх-пяти. Отложение пигментов в паренхиме органа является весьма характерным признаком токсического поражения печени [11].

У шести видов исследованных рыб наблюдается фиброз (табл.), возникающий при серьёзных повреждениях паренхимы печени и массовой гибели гепатоцитов. Актив-

ная пролиферация соединительно-тканной сети ведёт к диффузному нарушению архитектоники печени рыб (балочной структуры), а это, в свою очередь, предшествует развитию цирротических изменений [2].

К воспалительным (связанным с иммунными процессами) типам изменений относится инфильтрация клеток крови. Данная патология, как правило, предшествует некрозу печёночных тканей, так как некоторые виды лейкоцитов (нейтрофилы и эозинофилы) выполняют фагоцитарную функцию.

Некроз (дисплазия) гепатоцитов, регистрируемый нами у всех исследованных видов рыб (табл.), относится к наиболее серьёзным патологиям. Наличие некрозов всегда свидетельствует о тяжёлом, обычно прогрессирующем течении патологического процесса, причинами которого выступают загрязнения вод тяжёлыми металлами, либо паразитарные инвазии [12–14]. Микроскопическими признаками некроза являются изменения как клеточного ядра (кариопикноз, кариорексис, кариолизис), так и цитоплазмы [11].

Проведённое нами исследование показало, что в условиях Саратовского водохранилища у массовых видов рыб наблюдаются признаки хронического токсикоза. Согласно пятибалльной системе оценки ихтиотоксикологического состояния животных [6] степень выраженности токсикоза соответствовала 2–4 баллам.

Мы считаем, что основным фактором, обуславливающим патологические изменения печени рыб, является качество водной среды. Воды Саратовского водохранилища в исследуемом районе на протяжении ряда лет характеризуются как «загрязнённые» и «грязные» 3 А и 3 Б класса качества [15]. Акватория Кольцово-Мордовинского участка водохранилища находится под воздействием поллютантов различных групп. Это, прежде всего, техногенные загрязнения, поступающие в водоём из расположенных выше по течению крупных промышленных центров (гг. Тольятти, Самара, Чапаевск). Также значительный вклад в загрязнение акватории вносят диффузные стоки от мелких населённых пунктов и с сельскохозяйственных угодий.

На общую картину состояния печени, как индикаторного органа, мог повлиять и паразитарный фактор. Паразиты, проникая в ткани рыб, оказывают выраженное механическое и токсическое воздействие, проявляя при этом высокую патогенность. У инвазированных рыб наблюдаются нарушения липидного об-

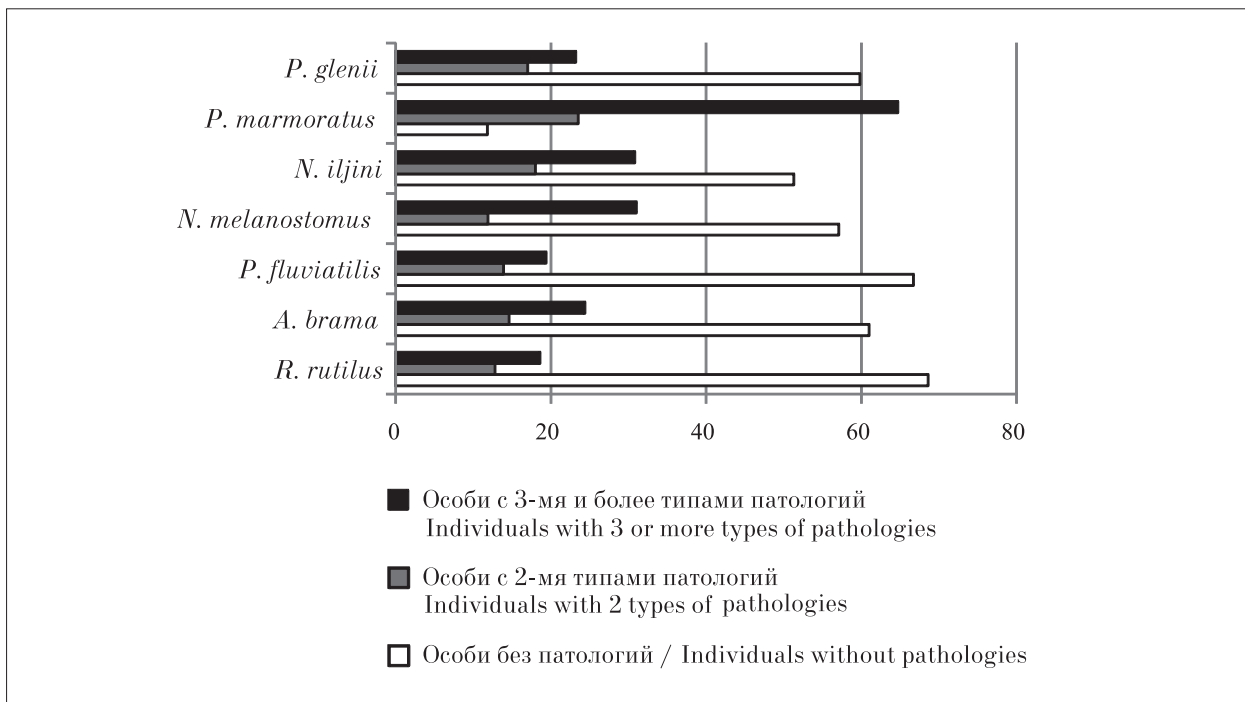


Рис. Встречаемость здоровых особей и особей с патологиями печени среди массовых видов рыб Саратовского водохранилища
Fig. Occurrence of healthy individuals and individuals with liver pathologies among the mass fish species of the Saratov reservoir

мена, усиление свободнорадикальных и перекисных процессов, дефицит образования структур антиоксидантной защиты, что предшествует развитию различных патологий печени [16, 17].

Особую патогенность имеют гельминты, локализующиеся собственно в печени (в свободном и/или инкапсулированном состоянии). У исследованных рыб обнаружено 3 вида нематод на личиночной стадии, уровень инвазии которыми колеблется от единичных случаев (*Eustrongylides excisus* Jägerskiöld) до 25–50% (*Raphidascaris acus* Bloch, *Contracaecum microcephalum* Rudolphi).

Нематодная инвазия печени вызывает наиболее серьёзные повреждения данного органа. При прохождении личинок (миграции червей) по печени нарушается целостность кровеносных сосудов, в результате чего форменные элементы крови выходят в ткань, развиваются обширные участки некроза. В тканях печени, содержащих инкапсулированных паразитов, хорошо заметна гиперплазия гепатоцитов, кариопикноз и кариолизис.

В современных условиях Саратовского водохранилища разнообразные нарушения печени рыб, вызванные стресс-факторами биотической и абиотической природы, встреча-

ются довольно часто (табл.), однако основу популяций исследованных видов рыб (за исключением бычка-цуцика) составляют особи, здоровые по данному признаку. Доля животных без каких-либо патологий печени у исследованных видов рыб различна и колеблется от 11,8% у бычка-цуцика до 68,6% у плотвы (рис.).

Печень таких рыб сохраняет нормальную архитектуру (балочное строение), гепатоциты без признаков патологических изменений, умеренно или слабо базофильны, липидных капель немного.

Следует отметить, что среди исследованных особей достаточно велика доля гидробионтов с тремя и более различными типами патологий печени (рис.), что, несомненно, указывает на высокий уровень токсической и паразитарной нагрузки на популяции массовых видов рыб в условиях Саратовского водохранилища.

Заключение

Многолетнее комплексное исследование рыб Саратовского водохранилища, включающее в себя патологоанатомический, гистологический и паразитологический анализ, показало, что ихтиофауна водоёма испытывает

хроническую токсическую нагрузку. Зарегистрированы 8 типов гистопатологических изменений печени разной степени тяжести. Согласно пятибалльной системе оценки ихтиотоксикологического состояния рыб степень выраженности токсикоза соответствует 2–4 баллам. Выявленные нарушения неизбежно ведут к дисфункции органа, к снижению его детоксикационной способности.

Патологические нарушения печени рыб весьма распространены; кроме того, они схожи у разных видов гидробионтов. В популяциях исследованных видов рыб часто встречаются особи, в печени которых одновременно обнаружены патологии не менее трёх различных типов.

Основными факторами, определяющими морфофункциональное состояние рыб, являются антропогенное загрязнение водоёмов и паразитарные инвазии.

В сложившихся экологических условиях, несомненно, важны мониторинг состояния водной среды, оценка качественного и количественного состава загрязнений водоёмов и водотоков, диагностика состояния функционально значимых систем организма, изучение механизмов естественной биотрансформации токсикантов в тканях. Однако действительно необходимым и продуктивным будет поиск путей реабилитации и повышения адаптационного потенциала рыб и других гидробионтов, что обеспечит их выживание в условиях мощного техногенного пресса. Требуется разработка и реализация таких технологий, которые не только снижают содержание токсикантов в окружающей среде, но и существенно повышают устойчивость биоты к воздействию стрессирующих факторов [1].

Исследования выполнены в рамках государственного задания ФГБУН Института экологии Волжского бассейна РАН, тема (проект) № АААА-А17-117112040039-7 «Экологические закономерности структурно-функциональной организации, ресурсного потенциала и устойчивого функционирования экосистем Волжского бассейна» (направление 51 «Экология организмов и сообществ»).

Литература

1. Селюков А.Г. Морфофункциональный статус рыб Обь-Иртышского бассейна в современных условиях. Тюмень: Изд-во Тюменского гос. ун-та, 2007. 184 с.
2. Fish pathology. London; Philadelphia; Sydney; Tokyo; Toronto: Stirling Univ., 1989. 383 p.

3. Pedlar R.M., Ptashinski M.D., Evans R., Klaverkamp J.F. Toxicological effects of dietary arsenic exposure in lake whitefish (*Coregonus clupeaformis*) // *Aquat. toxicol.* 2002. V. 57. No. 3. P. 167–189.

4. Thophon S., Kruatrachue M., Upathan E.S., Pochitititook P., Sahaphong S., Jarikhuan S. Histopathological alterations of white seabass (*Lates calcarifer*) in acute and subchronic cadmium exposure // *Environ pollut.* 2003. No. 121. P. 307–320.

5. Agamy E. Histopathological changes in the livers of Rabbit Fish (*Siganus canaliculatus*) following exposure to crude oil and dispersed oil // *Toxicol. pathology.* 2012. No. 40. P. 1128–1140.

6. Грушко М.П., Фёдорова Н.Н., Насиханова М.Н. Состояние жизненно важных органов судака Волго-Каспийского бассейна // *Вестник АГТУ. Сер. Рыбное хозяйство.* 2013. № 3. С. 108–112.

7. Шуман Л.А., Некрасов И.С., Селюков А.Г. Морфофункциональные корреляции окуня *Perca fluviatilis* в загрязнённых озёрах Среднего Приобья // *Вестник Тюменского государственного университета.* 2013. № 12. С. 128–139.

8. Микодина Е.В., Седова М.А., Чмилевский Д.А., Микулин А.Е., Пьянова С.В., Полуэктова О.Г. Гистология для ихтиологов: Опыт и советы. М.: ВНИРО, 2009. 112 с.

9. Быховская-Павловская И.Е. Паразиты рыб. Руководство по изучению. Л.: Наука, 1985. 121 с.

10. Определитель паразитов пресноводных рыб фауны СССР. Т. 2. Л.: Наука, 1985. 425 с.

11. Крючков В.Н., Дубовская А.В., Фомин И.В. Особенности патологической морфологии печени рыб в современных условиях // *Вестник АГТУ.* 2006. № 3 (32). С. 94–100.

12. Tramp B.F., Jones R.T., Sahaphong S. Cellular effects of mercury on fish kidney tubules // *The pathology of fishes* / Eds. W.E. Ribelin, M. Migan. Wis. Univ., Wisconsin Press, 1975. P. 585–612.

13. Kent M.L., Myers M.S., Hinton D.E., Eaton W.D., Elston R.A. Suspected toxicopathic hepatic necrosis and megalocytosis in pen-reared Atlantic salmon *Salmo salar* in Puget Sound, Washington, USA // *Dis. Aquat. Org.* 1988. V. 4. P. 91–100.

14. Hibiya E.T. An atlas of fish histology: normal and pathological features. N.Y.: Kodansha Ltd, 1996. 147 p.

15. Государственный доклад о состоянии окружающей среды и природных ресурсов Самарской области за 2013 год. Вып. 24. Самара: Изд-во «ДСМ», 2014. 283 с.

16. Bell G.L., Margolis L. The fish health program and the occurrence of fish diseases in the pacific region of Canada // *Fish Pathol.* 1976. V. 10. P. 115–122.

17. Izvekova G.I., Zhokhov A.E. Effect of metacercarial infection on some physiological traits of roach underyearlings // *Inland water biology.* 2016. V. 9. No. 1. P. 91–96.

References

1. Selyukov A.G. Morphological and functional status of fishes of the Ob-Irtysh watershed in the modern world. Tyumen: Izd-vo Tyumenskogo gosudarstvennogo universiteta, 2007. 184 p. (in Russian).
2. Fish pathology. London; Philadelphia; Sydney; Tokyo; Toronto: Stirling Univ., 1989. 383 p.
3. Pedlar R.M., Ptashinski M.D., Evans R., Klaverkamp J.F. Toxicological effects of dietary arsenic exposure in lake whitefish (*Coregonus clupeaformis*) // *Aquat. toxicol.* 2002. V. 57. No. 3. P. 167–189.
4. Thophon S., Kruatrachue M., Upathan E.S., Pochitithiyook P., Sahaphong S., Jarikhuan S. Histopathological alterations of white seabass (*Lates calcarifer*) in acute and subchronic cadmium exposure // *Environ pollut.* 2003. No. 121. P. 307–320.
5. Agamy E. Histopathological changes in the livers of Rabbit Fish (*Siganus canaliculatus*) following exposure to crude oil and dispersed oil // *Toxicol. pathology.* 2012. No. 40. P. 1128–1140.
6. Grushko M.P., Fedorova N.N., Nasikhanova M.N. State of vital organs of pike perch in the Volgo-Caspian basin // *Vestnik AGTU. Ser.: Rybnoye khozyaystvo.* 2013. No. 3. P. 108–112 (in Russian).
7. Schuman L.A., Nekrasov I.S., Selyukov A.G. Morphofunctional correlations of the perch *Perca fluviatilis* in polluted lakes of the Middle Ob region // *Vestnik Tyumenskogo gosudarstvennogo universiteta.* 2013. No. 12. P. 128–139 (in Russian).
8. Mikodina E.V., Sedova M.A., Chmilevsky D.A., Mikulin A.E., Pyanova S.V., Poluektova O.G. Histology for ichthyologists: Experience and advice. Moskva: VNIRO, 2009. 112 p. (in Russian).
9. Bykhovskaya-Pavlovskaya I.E. Parasites of fishes. Study Guide. Leningrad: Nauka, 1985. 121 p. (in Russian).
10. The guide on parasites in freshwater fish of the USSR fauna. Leningrad: Nauka, 1985. V. 2. 425 p. (in Russian).
11. Kruchkov V.N., Dubovskaya A.F., Fomin I.V. Peculiarities of pathologic morphology of fish liver in modern conditions // *Vestnik AGTU.* 2006. No. 3 (32). P. 94–100 (in Russian).
12. Tramp B.F., Jones R.T., Sahaphong S. Cellular effects of mercury on fish kidney tubules // *The pathology of fishes* / Eds. W.E. Ribelin, M. Migan. Wis. Univ., Wisconsin Press, 1975. P. 585–612.
13. Kent M.L., Myers M.S., Hinton D.E., Eaton W.D., Elston R.A. Suspected toxicopathic hepatic necrosis and megalocytosis in pen-reared Atlantic salmon *Salmo salar* Puget Sound, Washington, USA // *Dis. Aquat. Org.* 1988. V. 4. P. 91–100.
14. Hibiya E.T. An atlas of fish histology: normal and pathological features. N.Y.: Kodansha Ltd, 1996. 147 p.
15. State report on the state of the environment and natural resources of the Samara region for 2013. V. 24. Samara: Izd-vo DSM, 2014. 283 p. (in Russian).
16. Bell G.L., Margolis L. The fish health program and the occurrence of fish diseases in the pacific region of Canada // *Fish Pathol.* 1976. V. 10. P. 115–122.
17. Izvekova G.I., Zhokhov A.E. Effect of metacercarial infection on some physiological traits of roach underyearlings // *Inland water biology.* 2016. V. 9. No. 1. P. 91–96.