

Оценка состояния организма рыб при загрязнении водных экосистем нефтепродуктами и отходами целлюлозно-бумажного производства

А.А. Лукин, Ю.Н. Шарова, Л.А. Беличева – Институт Водных Проблем Севера Карского научного центра РАН

Северо-Запад России является одним из наиболее развитых промышленных регионов, на территории которого расположены крупные предприятия цветной металлургии, целлюлозно-бумажные комбинаты, предприятия по добыче и переработке нефти и газа и т.д. Одна из основных проблем в этих районах – загрязнение окружающей среды. Приоритетными загрязнителями в Мурманской области являются тяжелые металлы, окислы серы, в Карелии – лигнин, меркаптан, в Архангельской области – меркаптан, производные нефтепродуктов, в Республике Коми – нефтепродукты. Исследования по оценке воздействия загрязняющих веществ на водные и наземные экосистемы занимают на Северо-Западе России особое место.

Ключевые слова: Северо-Запад России, загрязнение, окружающая среда, биомаркер, рыбы

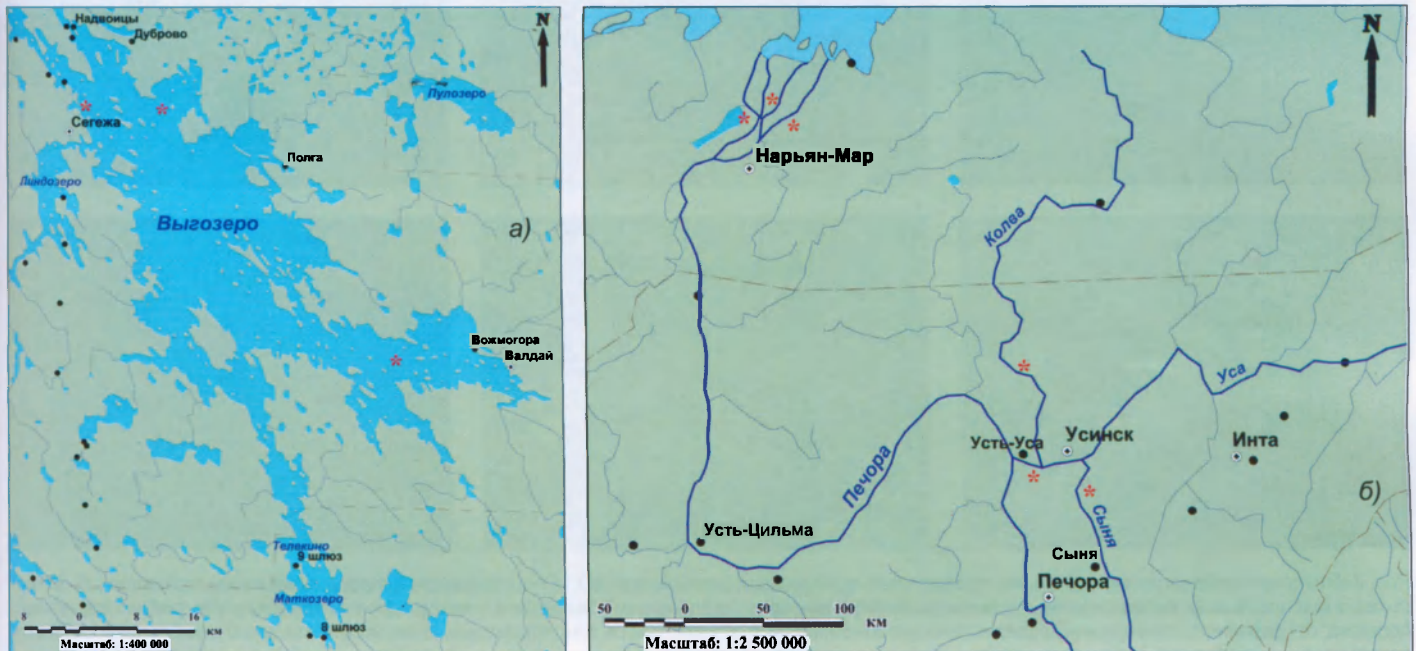


Рисунок 1. Карта-схема отбора проб: а) оз. Выгозеро, б) р. Печора и ее притоки*.
* места отбора проб

Северо-запад России является одним из наиболее развитых промышленных регионов, на территории которого расположены крупные предприятия цветной металлургии, целлюлозно-бумажные комбинаты, предприятия по добыче и переработке нефти и газа и т.д. Одна из основных проблем в этих районах – загрязнение окружающей среды. Приоритетными загрязнителями в Мурманской области являются тяжелые металлы, окислы серы, в Карелии – лигнин, меркаптан, в Архангельской области – меркаптан, производные нефтепродуктов, в Республике Коми – нефтепродукты. Исследования по оценке воздействия загрязняющих веществ на водные и наземные экосистемы занимают в этих регионах особое место [1-4] и, тем не менее, поиск новых, чувствительных индикаторов, способных на ранних этапах фиксировать происходящие изменения, до сих пор актуален. С этой точки зрения наиболее перспективным направлением для оценки изменений в окружающей среде, являются биологические маркеры (биомаркеры).

Под биомаркером мы понимаем биологическую реакцию суборганизменного или организменного уровня на предлагаемое воздействие, способную предсказать (засвидетельствовать) наличие какого-либо изменения под влиянием различных факторов. Согласно концепции биомаркеров, признанной в 1990-е гг., наиболее показательными являются биохимические, физиологические и гистологические индикаторы [5-8]. Преимущество гисто-

логических биомаркеров определяется их промежуточным положением относительно уровня биологической организации. Они обеспечивают быстрый и чувствительный метод оценки воздействия загрязняющих веществ, особенно хронических доз, на различные органы и ткани. За последние десятилетия появилось много работ, в которых гистологические биомаркеры применялись для сравнительного описания состояния здоровья рыб из загрязненных и незагрязненных участков водоема. [9-11].

Цель данной работы – исследовать влияние различного загрязнения на состояние организма рыб из водоемов и водотоков Северо-Запада России.

Материалы и методы

В основу работы положены материалы, собранные в период с 2007 по 2008 гг. на акватории оз. Выгозеро (Республика Карелия) и притоках р. Печора (Республика Коми) (рис. 1). Доминирующим загрязнителем для экосистемы оз. Выгозеро являются сточные воды целлюлозно-бумажного комбината, для бассейна р. Печора – это нефтепродукты и их производные. Объектом исследований были следующие виды рыб: сиг (*Coregonus lavaretus*), лещ (*Abramis brama*), плотва (*Rutilus rutilus*), окунь (*Perca fluviatilis*), судак (*Stizostedion lucioperca*) на акватории оз. Выгозеро, а также сиг и язь (*Leuciscus idus*) – в бассейне р. Печора. Обловы рыбы проводили набором ставных жаберных сетей из нейлонового монофиламент, стандартной длины – 25 м, высотой – 1,5 м

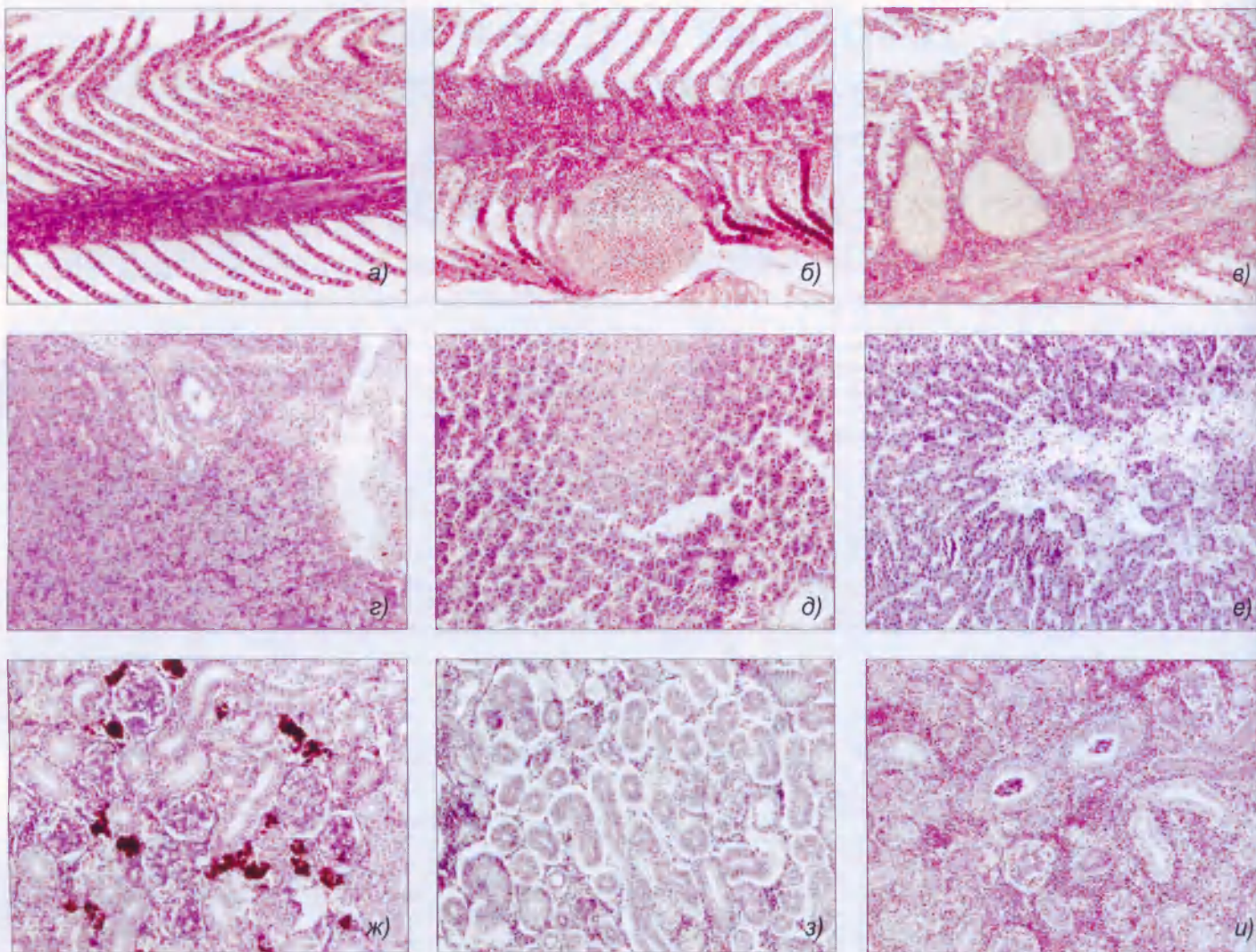


Рис. 2. Гистопатологические изменения в органах рыб оз. Выгозера (увеличение 20X10): а – гиперплазия респираторного эпителия; б – аневризма и инфильтрация респираторного эпителия лейкоцитами; в – ксеномы; г – базофилия и мегалоцитоз гепатоцитов, фиброз желчного протока; д – карцинома печени; е – некроз гепатоцитов; ж – ММЦ; з – отслоение эпителиальных клеток от базальной мембраны почечных канальцев; и – отложение детрита в просвет почечных канальцев

и размером яеи: 10, 12,5, 16, 22, 25, 30, 35, 38 и 45 мм, что обеспечивает вылов рыбы длиной от 5 см и более. У рыб определялись размерно-весовые характеристики, пол и стадия зрелости гонад, жирность (в баллах), степень наполнения желудка, возраст.

Для гистологического анализа отбирали жабры, печень, почки. Образцы органов фиксировали жидкостью Буэна и заливали в парафин. Срезы окрашивали гематоксилин-эозином по стандартной методике [12]. За время исследования были проанализированы органы и ткани 57 рыб. Для сравнительной характеристики состояния рыб определяли частоту встречаемости гистопатологических изменений разных органов. Для сравнения различий между группами использовали непараметрический критерий Вилкоксона-Манна-Уитни с использованием компьютерной программы Statgrafics 2.0 for Windows. Различия между выборками принимались с достоверностью 0,95.

Результаты

Оз. Выгозеро. При гистологическом исследовании органов рыб оз. Выгозеро нами выявлено 5 типов патологических изменений: пролиферативные, дегенеративные, воспалительные, неопластические изменения и нарушения кровообращения.

Из прогрессивных изменений были обнаружены: гиперплазия (рис. 2а) и гипертрофия клеток жаберного эпителия; фиброз желчных протоков и локальная регенерация гепатоцитов, сопровождавшаяся базофилией клеток (рис. 2г); разрастание соединительной ткани во-

круг почечных канальцев, кровеносных сосудов печени и почек, а также образование новых нефронов и пролиферация мезенгиальных клеток в клубочках. Среди патологий дегенеративного характера отмечались очаговый некроз ткани (рис. 2е) и интраваскулярный гемолиз эритроцитов, выявленные во всех исследуемых органах; единичные случаи кариопикноза, мегалоцитоза (рис. 2г) и вакуолизации гепатоцитов; дегенерация почечных клубочков, вакуолизация и кариопикноз эпителия почечных канальцев, отслоение эпителиальных клеток от базальной мембраны (рис. 2з) и скопление клеточного детрита в просвете почечных канальцев (рис. 2и), а также появление цист в печени и почках.

О развитии воспалительных процессов свидетельствовали отеки респираторного эпителия, инфильтрация респираторного эпителия лейкоцитами (рис. 2б); очаги инфильтрации лимфоцитов в печени и появление меланомакрофагических центров (ММЦ) в печени и почках (рис. 2ж), расширенные капилляры клубочков и гранулемы. Наблюдали нарушения кровообращения: кровоизлияния и стаз кровеносных сосудов во всех исследуемых органах, а также аневризмы в жабрах (рис. 2б).

У отдельных особей в жабрах и почках отмечалось разрастание соединительной ткани, приводящее к фиброзу; а в печени фиксировались признаки злокачественного неопластического перерождения (рис. 2д).

Гистологический анализ выявил, что жабры и почки рыб также были подвержены паразитарной инвазии. В жабрах микроспоридии приводили к образованию ксе-

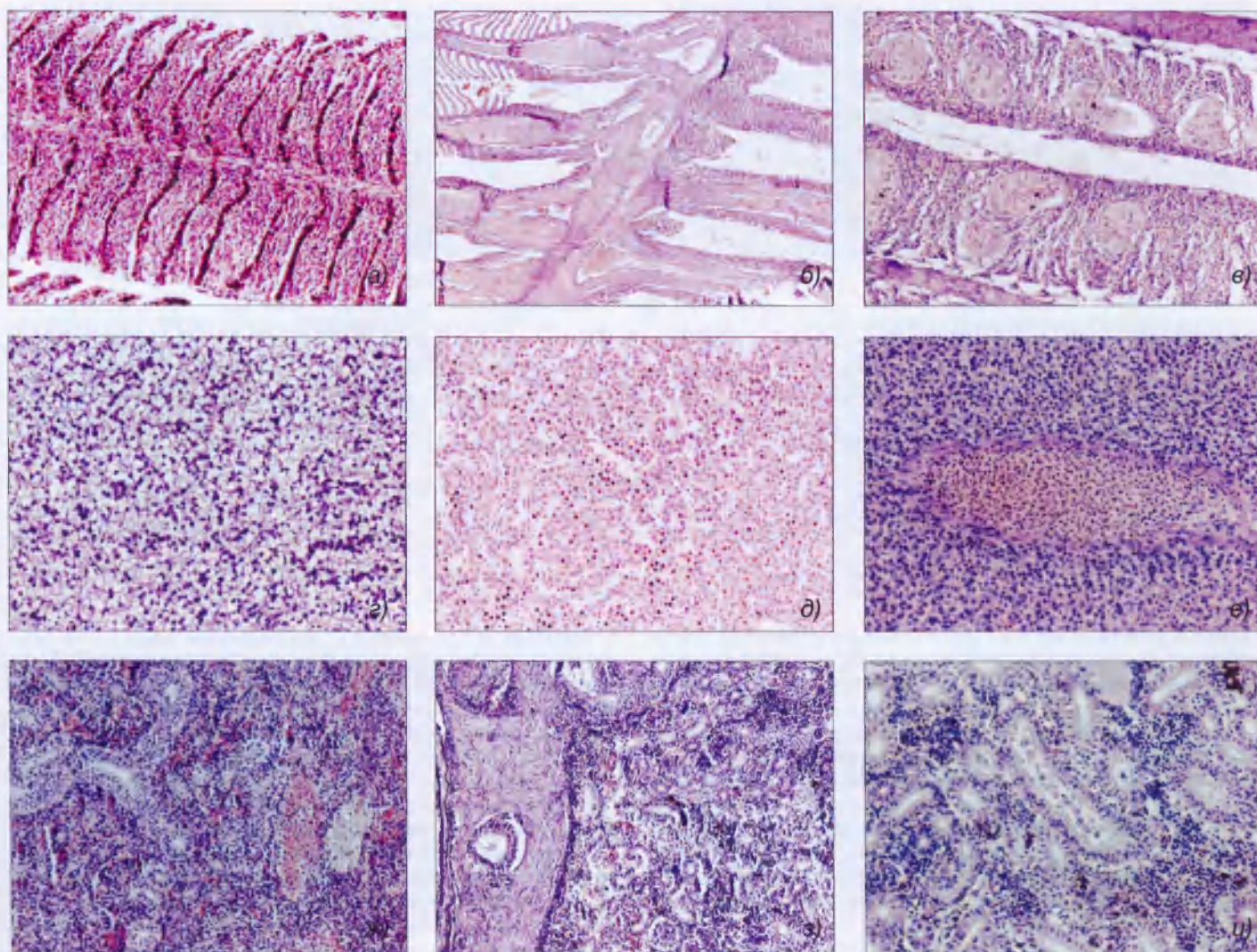


Рис. 3. Гистопатологические изменения в органах рыб р. Печора и ее притоков (увеличение 20X10): а – гиперплазия респираторного эпителия жабр и гемолиз эритроцитов; б – фиброз жаберных филламентов (увеличение 5 X 10); в – скопление амieb на жаберных филламентax; г – вакуолизация гепатоцитов; д – кариопикноз гепатоцитов; е – пролиферация соединительной ткани вокруг кровеносного сосуда и стаз; ж – ММЦ; з – фиброз почечной ткани; и – микоспоридии в просвете канальцев

ном (рис. 2в) и стимулировали чрезмерную гипертрофию эпителиальных клеток; инвазия инфузории не вызывала развитие каких-либо видимых морфологических нарушений. В почках были обнаружены цисты паразитов, ксеномы, развивающиеся в результате проникновения микроспоридий, и скопления плазмодий микроспоридий в просвете канальцев.

Бассейн р. Печора. При гистологическом исследовании органов рыб р. Печора и ее притоков выявили патологические изменения четырех типов: пролиферативные, дегенеративные, воспалительные и нарушения кровообращения.

Из группы пролиферативных изменений в жабрах отмечалась только гиперплазия респираторного эпителия (рис. 3а); в печени – гиперплазия и фиброз желчных протоков; в почках – избыточная пролиферация соединительной ткани вокруг почечных канальцев и кровеносных сосудов печени (рис. 3е) и почек, а также очаги образования новых нефронов. Были диагностированы дегенеративные изменения: гемолиз эритроцитов (рис. 3а) и локальные некрозы во всех исследуемых органах, небольшие очаги кариопикноза (рис. 3д), мегалоцитоза и вакуолизации (рис. 3г) гепатоцитов, образование цист в печени и почках; дегенерация почечных клубочков, вакуолизация канальцевого эпителия, отслоение эпителиальных клеток от базальной мембраны почечных канальцев, отложение клеточного детрита в просвете канальцев.

Единственным признаком развития воспалительной

реакции в жабрах рыб был отек респираторного эпителия; для печени и почек были характерны ММЦ (рис. 3ж) и очаги инфильтрации лимфоцитов; в почках также были диагностированы гранулемы, расширение капилляров клубочка и признаки гломерулонефрита (утолщение стенки клубочка, сморщивание почечного клубочка и увеличение внутреннего пространства). К развитию воспалительной реакции пролиферативного типа различной степени тяжести также приводили цисты паразитов.

Среди нарушений кровообращения были выявлены: кровоизлияния и стазы во всех исследуемых органах (рис. 3е), а также редкие случаи появления аневризм в жабрах и тромбов в сосудах печени. Достаточно распространенным повреждением являлось разрастание соединительной ткани, приводящей к развитию фиброзов в жабрах (рис. 3б) и почках (рис. 3з). Следует особо отметить несколько случаев появления Ито-клеток в печени.

Кроме вышеперечисленных гистопатологических изменений, в жабрах были обнаружены случаи паразитарной инвазии: скопление на респираторных ламеллах инфузорий и амieb (рис. 3е). В почках у ряда рыб также наблюдались инвазия микроспоридий (рис. 3и) и других паразитов.

Обсуждение

Как правило, токсиканты – специфичные по своей структуре и отдельным механизмам действия, в целом, вызывают общие реакции организма. Однако в результате проведенного статистического анализа, частоты

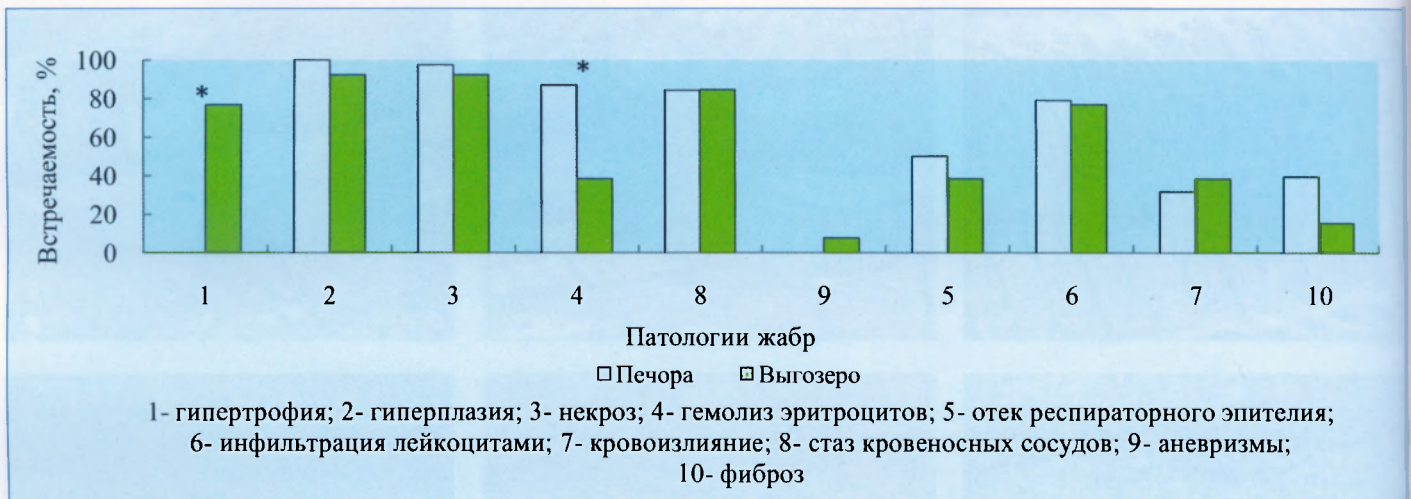


Рис.4. Частота встречаемости патологических изменений в жабрах рыб оз. Выгозеро и р. Печора*. *различия между выборками достоверны по критерию Вилкоксона-Манна-Уитни.

встречаемости гистопатологических изменений в жабрах, печени и почках рыб, обитающих в естественных водоемах с различным типом загрязнения, был выявлен ряд достоверных различий.

В жабрах статистически значимые различия в частоте встречаемости были выявлены только для двух патологий – гемолиз эритроцитов и гипертрофия клеток (рис. 4). Отсутствие отличий в реакции данного органа на различные типы загрязнения может быть связано с тем, что большинство известных патологических изменений в жабрах неспецифичны и происходят в ответ на широкий круг загрязняющих веществ. Так, большая часть выявленных нами патологий, была описана как в работах, посвященных исследованию влияния сточных вод ЦБК и/или их компонентов [13, 14], так и в работах по изучению воздействия нефтепродуктов на организм рыб [9, 15, 16].

Следует отметить, что у рыб р. Печора, по сравнению с особями из оз. Выгозеро, гиперплазия респираторного эпителия имела более тяжелые формы и приводила даже к слиянию жаберных филламентов. Возможно, развитие клеточной гипертрофии у рыб оз. Выгозеро может объясняться как необходимостью усиленной секреции слизи (увеличение продукции слизи отмечается в работах по исследованию влияния компонентов стоков ЦБП

на организм рыб [17]), так и необходимостью компенсации недостаточного развития других механизмов защиты от попадания в организм ксенобиотиков.

В печени и почках достоверно значимые различия в частоте встречаемости выявленных патологий проявлялись чаще. Так, у рыб р. Печора достоверно чаще встречались такие патологии как стаз и пролиферация соединительной ткани вокруг кровеносных сосудов, вакуолизация гепатоцитов и мелано-макрофагальная и лимфоцитарная инфильтрация паренхимы (рис. 5). Ряд исследований показали, что данные патологии могут быть вызваны как нефтью [11, 16, 18, 19], так и ее органическими производными – полихлорированными бифенилами (ПХБ) [10, 20, 21], высокие концентрации которых периодически обнаруживаются в р. Печора и ее притоках [22]. Однако в настоящее время они не рассматриваются как маркеры, специфичные к типу воздействия. Так, у рыб данного водоема более высокая частота вакуолизации гепатоцитов может рассматриваться и как следствие другой аномалии – стаза кровеносных сосудов, поскольку известно, что длительный стаз приводит к развитию дистрофических изменений в тканях.

Кроме этого, только у рыб р. Печора были выявлены случаи гиперплазии желчных протоков, развития Ито-клеток, тромбов в сосудах печени. Мы не нашли литературных данных

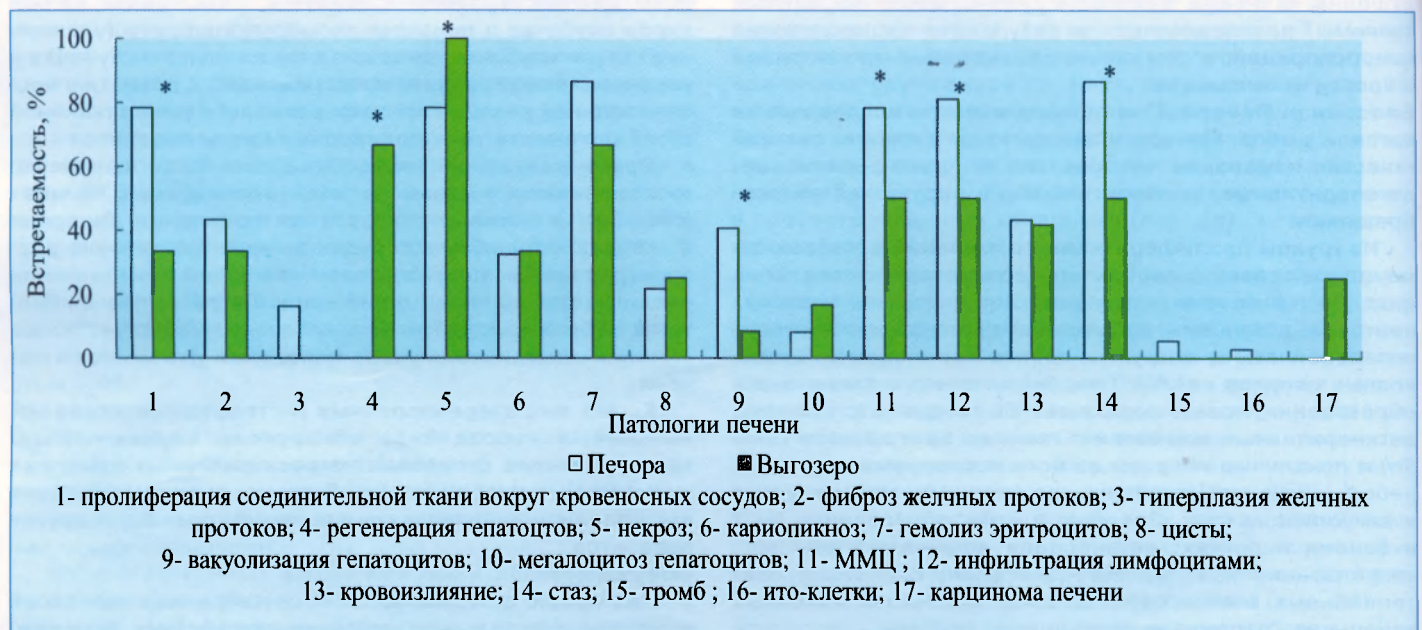


Рисунок 5. Частота встречаемости патологических изменений в печени рыб оз. Выгозеро и р. Печора*. *различия между выборками достоверны по критерию Вилкоксона-Манна-Уитни.

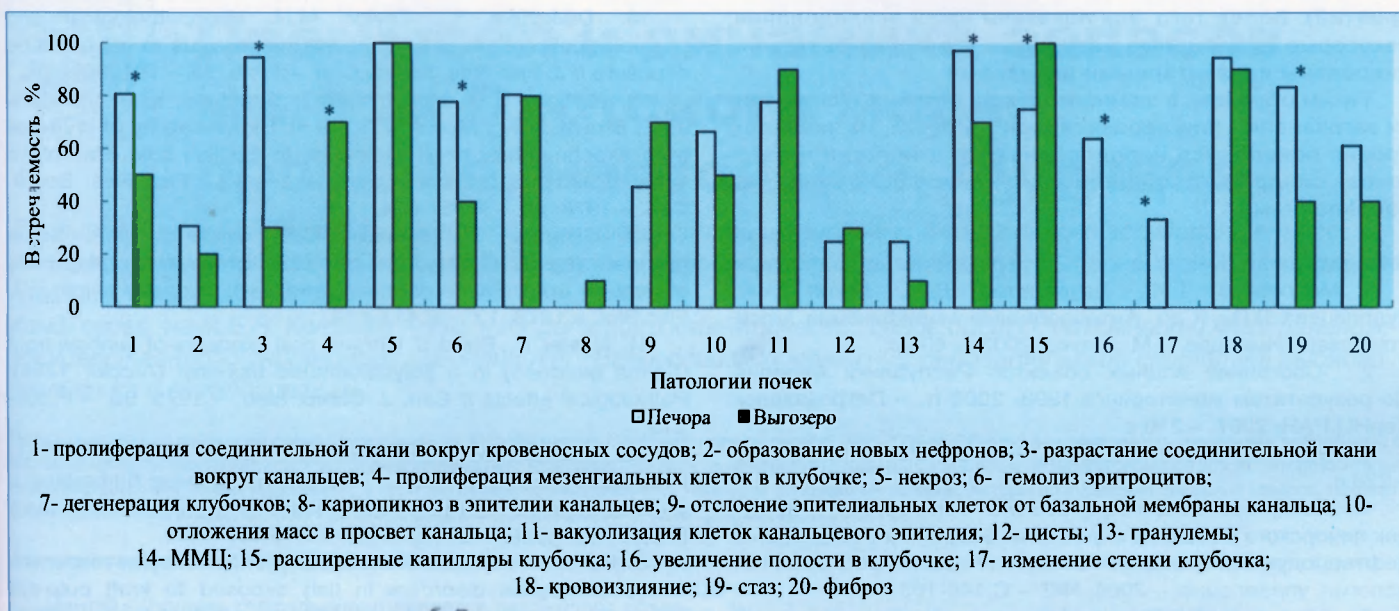


Рисунок 6. Частота встречаемости патологических изменений в почках рыб оз. Выгозеро и р. Печора * различия между выборками достоверны по критерию Вилкоксона-Манна-Уитни.

о развитии гиперплазии желчных протоков при действии ПАУ или ПХБ, однако признаки данной патологии были зафиксированы в работах о влиянии стоков ЦБК [13]. Среди патологий печени, вызываемых компонентами сточных вод ЦБК, также рассматриваются некроз, фиброз, появление очагов вакуолизованных и базофильных клеток, повышенное количество ММЦ и периваскулярное воспаление [13, 14, 23-26]. У рыб, находящихся под воздействием стоков ЦБК, отмечались все выше перечисленные аномалии и, по сравнению с рыбами р. Печоры, значительно чаще встречались некроз и регенерация клеток печеночной паренхимы, сопровождавшаяся в ряде случаев появлением мегалоцитов и базофильных клеток. Отмеченная регенерация гепатоцитов представляет собой механизм компенсации некробиоза, и, таким образом, имеет прямую связь с частотой наблюдения случаев некроза печени. При этом, согласно литературным данным [27], мегалоцитоз наблюдался в популяциях, где в конечном итоге у особей развивались неопластические изменения. Признаки злокачественной неоплазии – карциномы печени – фиксировались у отдельных особей оз. Выгозеро. В литературе отмечено только два случая обнаружения неопластических повреждений у рыб, под влиянием сточных вод ЦБК [28, 29].

Исследуемые типы загрязнения оказывали серьезное влияние на структуру тканей почек. По-видимому, рыбы, обитающие в водоемах, загрязненных нефтепродуктами, испытывают более серьезную нагрузку на выделительную систему, поскольку целый ряд патологий (стаз и пролиферация соединительной ткани вокруг кровеносных сосудов, гемолиз эритроцитов, меланомакрофагальная инфильтрация паренхимы, расширение внутреннего пространства и изменение стенки клубочка, чрезмерное разрастание соединительной ткани вокруг канальцев) статистически чаще регистрировался у особей бассейна р. Печора (рис. 6). Однако достоверно повышенная частота встречаемости некоторых из них, в частности, структурных аномалий клубочков, характерных для гломерулонефрита, может объясняться паразитарной нагрузкой. У рыб р. Печора паразитарная инвазия миксоспоридий в почечных канальцах обнаруживалась чаще (40 % и 10 % соответственно). Возможно, что особи, подверженные воздействию паразита, вследствие ослабления иммунитета, стали более чувствительными к токсическому действию поллютанта [30]. Выявленная нами, усиленная пролиферация макрофагов у рыб, находящихся под воздействием нефтепродуктов, могла быть вызвана необходимостью утилизации, появившихся в результате воздействия загрязняющих веществ,

продуктов распада клеточных мембран и разрушенных эритроцитов, частота встречаемости которых также была выше по сравнению с аналогичным показателем у рыб оз. Выгозеро.

У рыб оз. Выгозеро чаще встречались клубочки с расширенными капиллярами и пролиферацией мезенгиальных клеток клубочка, наличие последней патологии указывает на то, что имеет место развитие другой морфологической формы гломерулонефрита. Можно предположить, что в данном случае появление патологии определялось иными факторами окружающей среды, т.к. в почках рыб данного водоема паразитов выявлено не было. Кроме этого, у рыб оз. Выгозеро отмечались случаи кариопикноза эпителия канальцев, что, наряду с другими дегенеративными изменениями канальцев, указывает на развитие острого некроза канальцев, под влиянием нефротоксинов.

Заключение

В результате гистопатологических исследований жабр, печени и почек рыб, обитающих в водоемах с различным типом загрязнения, установлено наличие широкого спектра патологий. Появление этих патологий может быть вызвано хроническим поступлением малых доз загрязняющих веществ или залповыми выбросами (например, в результате аварий). Действие токсикантов, специфичных по своей структуре и являющихся компонентами сточных вод ЦБК или производными нефтепродуктов, в итоге вызывает общие реакции организма сразу в ряде органов.

Последствия загрязнения, как правило, выражаются в появлении различных заболеваний. У рыб оз. Выгозера и бассейна р. Печора, невзирая на удаленность регионов и различный тип загрязнения, визуально и на анатомическом уровне были обнаружены одинаковые патологии органов и тканей. Наряду с общими патологиями у рыб появляются заболевания, характерные для каждого из районов.

Результаты натурных наблюдений показали, что реакция организма на воздействие тех или иных факторов среды, независимо от особенностей этих факторов, имеет во многом сходный характер. Универсальность ответа может быть обусловлена тем, что на воздействие разных по типу загрязняющих веществ реагируют одни и те же регуляторные системы организма. При этом универсальность ответа организма проявляется независимо от действия одного загрязняющего вещества или комплекса загрязнителей (сточные воды промышленных пред-

