

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ГОЛОВНОГО МОЗГА КАРПА ПОД ВЛИЯНИЕМ НЕФТИ

Нефть влияет на гематоэнцефалический барьер рыб, при этом центральная нервная система (мотонейроны, двигательные ядра среднего мозга) находятся в деструктивном состоянии.

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, так и из приспособительных возможностей отдельных клеток.

Несмотря на широкое использование современных методов анализа, за редким исключением изучается конкретная функциональная система организма. Как правило, в анализе используется кровь и сыворотка. Такой подход без данных анализа функциональных нарушений внутренних органов и, особенно, важнейших из них для жизни организма в настоящее время ограничивает знания о количественных и качественных изменениях компенсаторно-приспособительных реакций, определяющих возможность обратимости вызванных действием поллютантов нарушений. Из числа различных систем организма в исследованиях большое значение имеют регуляторные, к которым относится ЦНС, эндокринная, иммунная. Первоначальные нарушения мышечной, сердечно-сосудистой, дыхательной, пищеварительной систем в процессе интоксикации могут существенно повлиять на функцию регуляторных систем. Например, известны факты, свидетельствующие о расстройстве ЦНС в результате накопления вредных метаболитов, которые при определенном уровне с кровью проникают через ГГБ в головной мозг. Патоморфологические изменения в головном мозге изучали у рыб под влиянием токсинов Кокуричева, (1974); Щербаков, (1983); Бурковский и др., (1977). Изучение различных отделов ЦНС имеет особое значение для оценки необратимости деструктивных и функциональных нарушений. В этом отношении известны опубликованные в научной литературе материалы по изучению фенольного отравления рыб (Лебединский и Помаржанский, 1968), влияния гербицидов

ялана и сатурна на рыб (Земков, 1990), а также структурные изменения в головном мозге рыб под влиянием нефти (Обухов с соавт., 2000).

Подобные исследования имеют значение в определении безопасных для организма животных концентраций всевозможных токсикантов, но в значительно большей мере определяют степень влияния различных ксенобиотиков их сочетания в естественной среде обитания, возможного синергизма, и, в частности такого сложного по составу, группового токсиканта как нефти.

В связи с выше сказанным, целью наших исследований явилось- установить морфофункциональные изменения и ГЭБ мотонейронов, определяющие 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 150мг/л, контрольных - в воде без добавления токсиканта. Эксперимент проводили в течение 30 суток при постоянной аэрации воды и кормлении живыми и искусственными кормами. Пробы крови отбирали из хвостовой вены рыб через 10, 20 и 30 суток эксперимента, у интактных – автоконтролем.

Проницаемость гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) определяли *in vitro* колориметрическим методом (Справочник «Биохимические методы исследования в клинике», 1969).

Гистосрезы головного мозга толщиной 7-10 микрон окрашивали по Нисслю (Ромейс, 1953;). Все препараты микроскопировали и фотографировали на микроскопе фирмы «Olympus» и стереомикроскопе фирмы «Leica – MZ 12.5», оснащенной телевизионной камерой «Picsxera».

Полученный цифровой материал обработан статистически на компьютерной программе D'STAT.

Результаты и их обсуждение

Результаты нашего эксперимента показали следующие морфологические изменения различных отделов головного мозга двухлеток карпа под воздействием сублетальной концентрации нефти.

Контрольные варианты морфоструктуры продолговатого мозга соответствовали норме.

Через 10 суток эксперимента сосуды мозга расширены, полнокровны, в некоторых из них наблюдается агрегация эритроцитов. Выявляются мелкие очаговые кровоизлияния. Сосудистые изменения сопровождаются периваскулярным и перицеллюлярным отеком. Невроциты с полиморфными изменениями. Резкое набухание и гомогенизация цитоплазмы нервных клеток, эктопия (смещение) ядра. Часть клеток с явлениями кариоцитолиза, характеризующегося побледнением цитоплазмы и лизисом ядра с постепенным превращением невроцита в «клеточную тень». Иногда наблюдаются сморщененные, гиперхромные клетки с признаками вакуолизации, а также отложение липофусцина в цитоплазме отдельных невроцитов (рис. 1 а).

По мере увеличения времени воздействия нефти (20 суток эксперимента) - в сосудах распространены гемокоагуляционные нарушения с крупными кровоизлияниями в окружающие ткани. Отмечается периваскулярный и перицеллюлярный отек, очаги некроза. Изменения невроцитов идентичны таковым особей с 10 сутками экспозиции: набухание, кариолизис, дистрофические нарушения, некробиоз и разрушение части нервных клеток (рис. 1 б).

На 30-ые сутки эксперимента наблюдали полнокровие сосудов. Периваскулярный и перицеллюлярный отек. Отмечается тотальный кариолизис невроцитов, а также цитолизис с образованием клеток-теней. Сохранившиеся невроциты представляют собой либо сморщененные гиперхромные клетки, что свидетельствует об их функциональном чрезмерном напряжении, либо гипертрофированы, что является признаком развивающихся компенсаторно-приспособительных реакций (рис. 1 в).

Значения проницаемости в мозге на 10-ые сутки эксперимента выявлено достоверное возрастание относительно контрольного в два раза. С увеличением времени воздействия нефти (20 суток), в мозге рыб выявлено существенное приближение протекания изучаемого процесса к уровню, близкому контролльному (рис.2).. Проницаемость ГЭБ к нейтральному

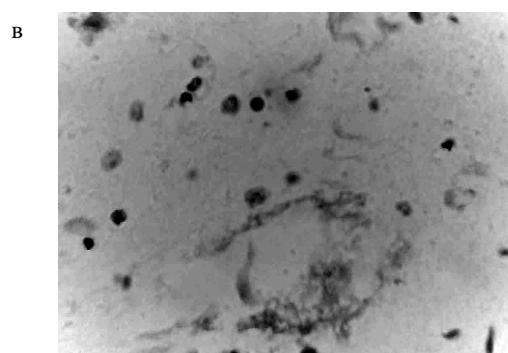
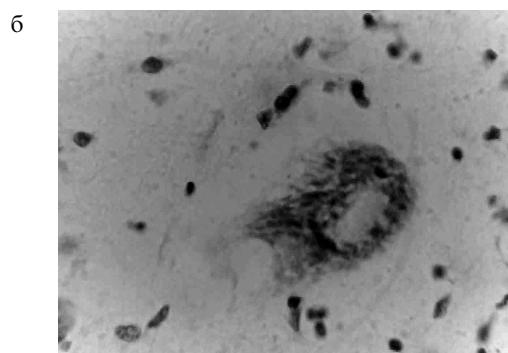
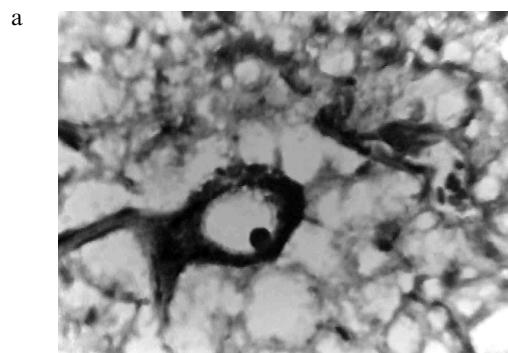


Рисунок 1. Морфологические изменения в продолговатом мозге карпа под влиянием нефти: а-10 суток эксперимента; б-20 суток эксперимента; в-30 суток эксперимента. Окраска по Нисслю; ув.800

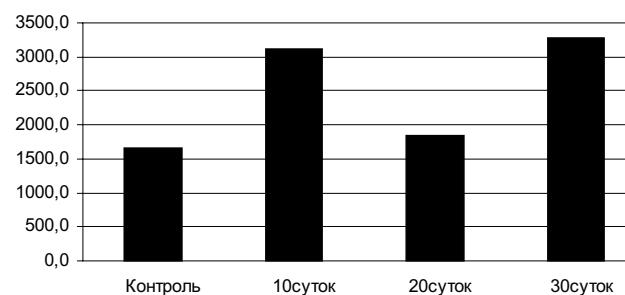


Рисунок 2. Действие нефти на проницаемость гематоэнцефалического барьера мозга двухлеток карпа в эксперименте (в мкг. красителя/мг сухого веса ткани)

красному продолжала достоверно возрастать на 30-ые сутки влияния нефти на рыб (в 1,9 раза) относительно контроля. В печени зафиксирована динамика приближения экспериментальных данных к контрольному уровню. Воздействие нефти на ГЭБ имело, безусловно, выраженный характер в зависимости от экспозиции. Причем проницаемость ГЭБ особенно высока на 10-ые и 30-ые сутки эксперимента, по сравнению с контрольными.

Проведенный анализ проницаемости ГЭБ мозга двухлеток карпа показал на реальные изменения функциональных особенностей проницаемости клеточных структур в условиях экспериментальных неблагоприятных воздействий.

С изменением проницаемости на фоне деструктивных процессов в тканях, видимо, токсикоз выступает в новую фазу своего развития разрушающего характера.

Выводы

Проведенные экспериментальные работы, позволили получить данные, свидетельствующие о суммации действия экзо-, и эндотоксикантов. Такой адаптивный характер интоксикации протекает на фоне компенсаторно-защитных реакций, эффект которых утрачивает свое позитивное значение для организма вследствие развития необратимых процессов в виде деструкции моторнейронов в отделах ЦНС подопытных рыб.

При воздействии сублетальной концентрации нефти на рыб у снижается проницаемость нейтрального красного через ГЭБ. Моторнейроны всех исследованных отделов, включая и двигательные ядра среднего мозга, находятся в состоянии деструкции, что объясняется адаптационной реакцией организма до момента полного отказа рыб от корма, угнетения двигательной активности, когда компенсаторные процессы уже не имеют физиологического значения.

Список использованной литературы:

1. Бурковский А.Л., Кулькин С.Г. Влияние фосфорорганических соединений на микроморфологию и гистологию внутренних органов рыб // Тез. докл. Межотраслевой научно-практич. конф. «Состояние и охрана биологических ресурсов Волгоградской области. Волгоград. 1977. С.136-138.
2. Земков Г.В., Журавлева Г.Ф., Кокушкина И.В. Физиолого-биохимические показатели осетровых рыб в зависимости от уровня накопления экзотоксикантов во внутренних органах // Влияние антропогенного фактора на экосистему озер. Сборник научн. трудов ГосНИОРХа. Вып. 313. Ленинград. 1990а. С. 186-205
3. Кокуричева М.П. О применении гистологического изучения органов и тканей рыб в водной токсикологии // Изв. ГосНИИОРХ. «Влияние пестицидов и нефтепродуктов на водные организмы». Т.98. Л. 1974. С. 112-120.
4. Лебединский Н.А., Помаржанский В.Л. Санитарная гидробиология и водная токсикология. Рига.1968. с.81-86.
5. Обухов Д.К. Крючков В.И. Исследования влияния нефтяного загрязнения на морфофункциональное развитие мордорды осетровых рыб // Вопросы рыболовства. 2000.Т.1.Вып.4. С.98-117.
6. Ромейс Б. Микроскопическая техника. М., 1957. –720с.
7. Справочник «Биохимические методы исследования в клинике», 1969. 540с.
8. Щербаков Ю.А. Морфологические изменения, развивающиеся в органах рыб при привыкании к токсическим веществам.// Реакция гидробионтов на загрязнение. М. 1983.С.114-116.