

Вплив токсикантів на гістологічну структуру тканин двостулкових молюсків

*Досліджено вплив токсикантів різної природи і концентрації (фенол, гідрохінон, СМЗ; LC_{25} , LC_{50} , LC_{75}) на гістологічну структуру тканин (гонада, мантія, гепатопанкреас) двостулкових молюсків *Unio conus*, *U.pictorum*, *Colletopterum piscinale**

Вирішення питання про необхідний рівень чистоти природних водойм завжди є компромісом між станом їх екосистем і контролюванням джерела забруднення [1].

Широко відомо про негативний вплив ряду токсикантів різного походження та спектрів дії на організм гідробіонтів. До токсикантів, які можна назвати серед розповсюджених і, практично, постійних компонентів забруднення водного середовища, безперечно належать феноли та СМЗ. У ряді робіт показано негативний вплив цих токсикантів на організм різних гідробіонтів [2; 3].

Токсиканти для нашого дослідження обрані за критерієм походження, що їх розрізняє, та, водночас, широкої розповсюдженості обох груп в водоймах різних типів. Відомо, що СМЗ мають виключно штучне походження. А феноли – це не тільки промислові відходи, а й природні компоненти середовища водойм різних типів. Відомо, що утворюються фенолиза природних умов внаслідок гниття органічних решток, наприклад, вищих водних рослин, фітопланктону, деревини. Обрані нами три токсиканти мають органічну природу.

У наших експериментах використовувалися різні концентрації токсикантів (LC_{25} , LC_{50} , LC_{75}) з терміном експозиції 2 доби. Такий підхід надає можливість спостерігати динаміку розвитку спектру патоморфологічних змін у тканинах двостулкових молюсків.

Матеріали і методи

В експерименті використано 57 екз. *Unio conus*, 42 – *U.pictorum*, 60 екз. *Colletopterum piscinale*, зібраних вручну в річках Тетерів та Гуйва (околиці Житомира) в теплий період 2002 р. При ідентифікуванні молюсків співставляли їх зовнішні конхіологічні ознаки з описаними в літературі [4; 5]. У вибірку ввійшли 3–6-річні особини. Доставлених у лабораторію тварин піддавали впродовж двох діб акліматизації до лабораторних умов. Орієнтовний дослід поставлений за методикою В.А.Алексєєва [6]. Значення LC_{25} і LC_{75} виявлено графічно [7]. Як токсиканти використано фенол, гідрохінон і СМЗ „Лотос Дах Extra”.

Для гістологічних досліджень тканини мантії, гонади та гепатопанкреаса молюсків трьох видів, експонованих в обраних концентраціях токсикантів, впродовж двох діб фіксували рідиною Буена, проводили через ряд спиртів зростаючої концентрації і заливали в парафін загальноприйнятим методом. Серійні зрізи товщиною 6 мкм фарбували гематоксилін-еозином. Мікрофотографування гістологічних препаратів проводили на мікроскопі “Микмед-1” з використанням фотоплівки “ORWODP-3”

Результати та обговорення

Встановлено, що за концентрації фенолу LC_{25} у гонаді самок спостерігається набряк та часткове відторгнення оболонки дозрілих або дозріваючих яйцеклітин, що локалізуються в порожнинах ацинусів. Такі яйцеклітини, а ми виявили їх від 5 до 10%, можна вважати потенційно загиблими. Між тим у стінках ацинусів не виявлено очевидних ознак деструктуризації. До того ж більшість яйцеклітин різних стадій зрілості в стінках ацинусів знаходяться в нормальному стані. Водночас, ми визначили серед дозріваючих яйцеклітин приблизно 20% із вираженою еозинофілією, що, безумовно, свідчить про негативний вплив токсиканту.

Поза межами ацинусів у міжацинарній сполучній тканині визначається розривлення волокон та подекуди навіть порушення структури стромальних клітин. У лакунарній системі спостерігається скопчення базофільних овальних клітин гемолімфи.

Перебування тварин у середовищі фенолу LC_{50} поглиблює руйнівні процеси в їх тканинах порівняно з LC_{25} : у стані некрозу знаходиться більша кількість дозрілих яйцеклітин (рис. 1, А), стінки частини ацинусів порушені.

За LC_{75} зміни в статевій залозі перлівницевих стають ще помітнішими. Відбувається значне руйнування ацинусів гонади, в результаті чого дозрілі яйцеклітини змінюють свою локалізацію. В

клітинах стінок ацинусів різко виражена еозиніфілія. Відмічено деструктизацію опірних елементів стінки. Місцями елементи стінки збережені, але клітини не мають чітких меж. Спостерігається відшарування оболонки яйцеклітин, ясно виражений некроз клітин. Перінуклеарний простір клітин світлий, в деяких клітинах відмічено глибокий розпад ядер. Такий стан гонади за LC₇₅ дозволяє вважати руйнівні зміни незворотними.

Утримання молосків у токсичному середовищі фенолу позначилось і на гістоструктурі їх гепатопанкреаса. Однак оскільки експозиція тварин у середовищі токсиканта була короткотривалою (2 доби), то відмічені патологічні зміни у гепатопанкреасі незначні. За LC₂₅ фенолу в структурі гепатопанкреаса помітних змін не виявлено. Просвіти ацинусів мають чіткі межі, між ацинусами в стромі знайдено помірну кількість клітинних елементів гемолімфи. За LC₅₀ у міжацинарній стромі виявлено більшу кількість клітинних елементів гемолімфи. Окремі ацинуси мають частково зруйновану стінку. За LC₇₅ строма між ацинусами переповнена гемолімфою, тобто виникає стаз. Зустрічається більша кількість, ніж за LC₅₀, ацинусів із зруйнованою стінкою. Просвіти ацинусів звужені (рис. 1, В), заповнені детритною масою. Клітини ацинусів знаходяться в стані дистрофії.

Вплив фенолу на мантию порівняно зі статеву залозу та гепатопанкреасом виражений найяскравіше. Вже за LC₂₅ у лакунах відмічено скупчення гемолімфи і тенденція до потовщення фібрил. Виражених змін в епітелії мантиї виявити не вдалося. Ці явища поглиблюються за LC₅₀ токсиканта. Внаслідок розвинення набряку лакуни переповнюються гемолімфою в такій мірі, що навіть їх конфігурація змінюється. На епітелії мантиї теж відбивається стан набрякання. Це призводить поступово спочатку до розтягнення апікальної частини клітин, а подальше – до майже повного відторгнення епітелію. При цьому не втрачається зв'язок між сусідніми клітинами в епітеліальному шарі, що може бути свідомством відторгнення і його базальної мембрани. У близько 20% клітин спостерігається глибокий розпад ядер.

Внаслідок дії гідроксину в тканинах перлівнищевих виявлено такі ж зміни, але виражені вони яскравіше, ніж за дії фенолу. Ця обставина дозволяє зробити висновок про те, що гідроксін є більш токсичним для молосків. Він утворюється під час багаторазових перетворень одноатомних фенолів і перевищує їх згубну дію [8].

При вивченні гістопрепаратів статеву залози молосків, витриманих в середовищі СМЗ, відмічено, що за LC₂₅ у міжацинарній тканині гонади спостерігаються явища застою. Частина зрілих клітин припинили свій розвиток, їх стінки потовщились, відбулася агрегація цитоплазми (рис. 1, С). Виявлено значний набряк тканини (рис. 1, D). Але незважаючи на вищеописані зміни, стінка ацинуса не зазнає руйнації. За LC₅₀, крім потовщення стінок яйцеклітин, відмічено ще й відторгнення їхніх оболонок, тобто десквамація. Стінка ацинуса, (а саме клітини стінки) ущільнена. Спостерігається ще більший набряк. Дуже значне розривлення та некротизація міжацинарної стромы, відсутність її чіткої структури відмічено за LC₂₅ токсиканта. Більша частина ацинусів містить мертві яйцеклітини. Некроз виявлено також у клітинах стінки ацинуса. Внаслідок дії токсиканта даної концентрації набряк в ацинусах дещо починає спадати.

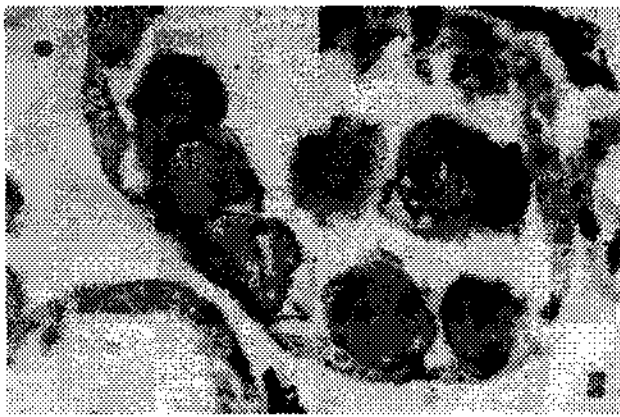
Відмітимо, що за дії фенолу та гідроксину в тканині гонади більше виражена деструктуризація клітинних елементів, а при дії СМЗ – набряк.

У гепатопанкреасі тварин, витриманих у розчині токсиканта LC₂₅, виявлено помітні зміни. У частини ацинусів порушена стінка, а в просвіті ацинусів знаходиться гемолімфа. Міжацинарний простір теж заповнений гемолімфою з властивими їй клітинними елементами, тобто спостерігається набряк міжацинарної тканини. За LC₅₀ відмічено посилення вищеописаних процесів. Дезінтеграцію гепатоцитів в деяких ацинусах, тобто початок загибелі останніх, виявлено за LC₇₅ СМЗ (рис. 1, Е). За цієї ж концентрації токсиканта в ділянці впадіння кровоносною судини в гепатопанкреас спостерігається мукозний екссудат.

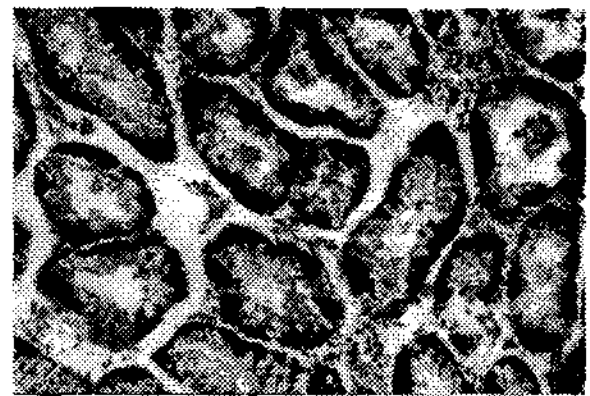
Вплив СМЗ на мантию двостулкових молосків є надзвичайно сильним. Вже за LC₂₅ відбуваються процеси вакуолізації – лакуни зливаються між собою у величезні вакуолі і деструктуризуються. Різкі зміни спостерігаються в епітеліальному шарі мантиї – ядра розміщуються у верхній третині клітини, межі між окремими клітинами визначити важко. Висота епітеліального шару порівняно з нормою збільшена, але він все ж не втрачає зв'язку з базальною мембраною. В тканині відмічено мікрокровотечу. Ці процеси посилюються зі зростанням концентрації токсиканта до LC₅₀ і набувають максимального вираження за LC₇₅ СМЗ.

Висновки

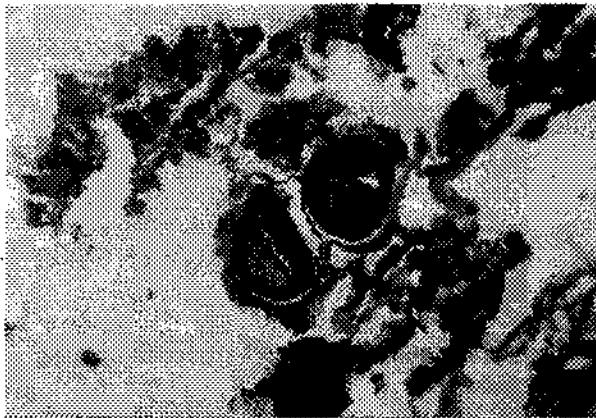
Дослідження впливу СМЗ "Лотос Дах Екстра" на тканини двостулкових молосків дало змогу встановити, що ця речовина є більш токсичною для тварин, ніж фенол і гідроксін і викликає в їх організмі значні патоморфологічні зміни. На нашу думку, причина цього криється в походженні токсикантів. Фенол і гідроксін часто утворюються в природі внаслідок гниття органічних решток, тобто мають природне походження, а "Лотос Дах Екстра" – штучно синтезований. Крім того, останній являє собою багатоконпонентну суміш ПАВ та різноманітних допоміжних складових.



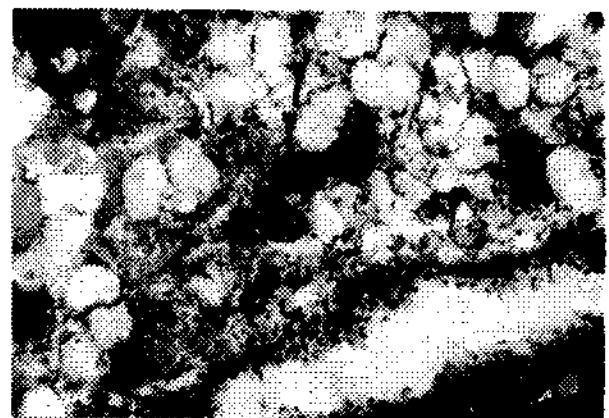
A



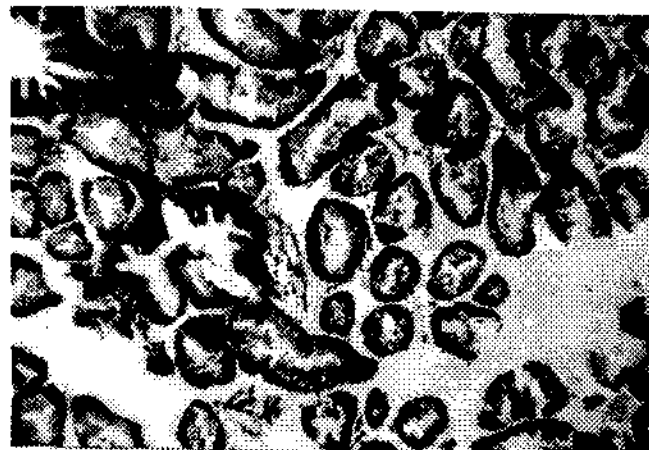
B



C



D



E

Рис. 1. Гістологічна структура тканин молюсків підданих дії токсикантів:

- A - Гонада молюска, підданого дії фенолу в концентрації LC_{50} (15x20),
 B - Гепатопанкреас молюска, підданого дії фенолу в концентрації LC_{75} (15x20),
 C - Гонада молюска, підданого дії СМЗ в концентрації LC_{25} (15x20): ацинус з яйцеклітинами,
 D - Гонада молюска, підданого дії СМЗ в концентрації LC_{25} (15x20): строма,
 E - Гепатопанкреас молюска, підданого дії СМЗ в концентрації LC_{75} (15x8).*

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ:

1. Cullen P. The concept of water quality: Prepr. Pap. Int. Hydrobiol. and Water Resour. Symp., Perth, 2-4 Oct., 1991. Vol. 2 // Nat. Conf. Publ. - 1991. - №22. - С. 512-523.
2. Дыганова Р.Я., Киселева Н.В. Физиологический тест при изучении механизма действия фенольных соединений на планарий // 5 Всес. конф. по вод. токсикол., Одесса, 18-22 апр., 1988. Тез. докл. - М., 1988. - С. 181.
3. Дыганова Р.Я., Колупаев Б.И., Лафтуллина О.Н. Планария *Polycelis tenuis* как объект биотестирования качества талых вод // Экол.-токсикол. оценка урбанизир. и сопредел. территорий. - Казань, 1990. - С. 131-137.
4. Старобогатов Я.И. Класс двусторчатые моллюски // Определитель пресноводных беспозвоночных Европейской части СССР. - Л.: Гидрометеиздат, 1977. - С. 123-152.
5. Стадниченко А.П. Фауна України. Т. 29, вип. 9. Перлівницеві. Кулькові (Unionidae, Cicladidae). - К.: Наук. думка, 1984. - 384 с.
6. Алексеев В.А. Основные принципы сравнительно-токсикологического эксперимента // Гидробиол. Журн. - 1981. - №3. - С. 92-100.
7. Прозоровский В.К. О выборе метода построения кривой летальности и определения средней летальной дозы // Журн. общ. биол. - 1960. - Т.21, №3. - С. 221-228.
8. Ложникова А.Н., Васильева Г.Л., Стом Д.И. Токсичность полифенолов для коловраток и низших ракообразных // Гидробиол. журн., 1981. - №6. - С.73-78.

Янович Л.Н., Чернышова А.О., Жовнерчук О.В. Влияние токсикантов на гистологическую структуру тканей двусторчатых моллюсков.

*Изучено влияние токсикантов различной природы и концентрации (фенол, гидрохинон, СМЗ, LC₂₅, LC₅₀, LC₇₅) на гистологическую структуру тканей (гонада, мантия, гепатопанкреас) двусторчатых моллюсков *Unio conus*, *U. pictorum*, *Colletopterum piscinale*).*

Yanovich L.M., Chernyshova A.O., Shovnertchuk O.V. The Influence of Toxicants on the Hystological Structure of Bivalve Molluscs Tissues

*The influence of toxicants of different nature and concentration (phenol, hydroxinon, "Lotos Dax Extra"; LC₂₅, LC₅₀, LC₇₅) on the hystological structure of bivalvemolluscs tissues (gonada, mantle, hepatopancreas) of such kinds as *Unio conus*, *U. pictorum*, *Colletopterum piscinale*.*