

УДК 504.05:579.8:598.12

Т.М. Шалахметова*, М.А. Суворова, Б.А. Абдуллаева, Б.А. Умбаев, А.К. Цой, А.Ж. Хамитов,
А. Ондасынова, Л. Сутуева

Казахский национальный университет им. аль-Фараби, Казахстан, Алматы

*E-mail: Tamara.Shalakhmetova@kaznu.kz

Влияние нефтезагрязнения на гистоструктуру висцеральных органов низших тетрапод

Аннотация. В статье представлены результаты сравнительного исследования гистоструктуры висцеральных органов (печени, почек) лягушки озерной (*Rana ridibunda*) из биотопов Атырауской области, подверженных нефтезагрязнению, и животных, подвергнутых воздействию разных концентраций водорастворимых фракций нефти в условиях лаборатории. Установлено, что наблюдаемые деструктивные изменения в структуре висцеральных органов у животных из биотопов Атырауской области являются результатом токсического действия нефти. Наиболее чувствительным органом являются почки лягушки озерной.

Ключевые слова: нефть, лягушка озерная, водорастворимые фракции нефти, висцеральные органы, Атырауская область.

Нефтедобыча является основной и наиболее динамично развивающейся отраслью экономики Республики Казахстан. Прикаспийский регион, как известно, является местом сосредоточения нефтедобывающих комплексов Казахстана [1]. За время освоения нефтегазовых месторождений Казахстана экологическая обстановка в Атырауской области значительно ухудшилась [2]. Причиной сложившейся экологической ситуации являются низкая социальная ответственность предприятий, загрязнение почвы и вод в результате утечек нефти, многочисленные нефтяные амбары и скважины на побережье, аварии при транспортировке [3]. Отсутствие на предприятиях нефтедобычи эффективной системы утилизации сточных вод приводит к образованию на территории промыслов обширных водоемов, содержащих токсичные химические вещества [4]. Ситуация осложняется тем, что пластовые воды многих нефтяных месторождений включают повышенное содержание радионуклидов и, как следствие, радиационное загрязнение среды. Анализ воды Каспийского моря вдоль Тенгизского побережья показывает, что кроме нефтяных загрязнений в воде идет накопление синтетических поверхностно-активных веществ, фенолов, нефтепродуктов и тяжелых металлов, которые занимают особое место среди загрязняющих веществ, так как не подвергаются химиче-

ской и биологической деградации, а в повышенных концентрациях оказывают пагубное влияние на водные экосистемы [5].

Комплексное воздействие на биоту множества химически неоднородных ксенобиотиков затрудняет прямую экстраполяцию экспериментальных данных при оценке состояния животного мира региона. В этом случае наиболее надежные данные можно получить, проводя одновременно биоиндикационные и экспериментальные исследования. Для проведения наземной биоиндикации в Атырауской области нами были выбраны фоновые виды – представители основных классов наземных позвоночных, удовлетворяющие требованиям, предъявляемым к видам-биоиндикаторам. Среди амфибий, обитающих в Атырауской области, в качестве вида-биоиндикатора перспективным является озерная лягушка, которой присущи небольшой радиус индивидуальной активности, отсутствие сильной тенденции к миграции, высокий и достаточно хорошо изученный полиморфизм [6].

Цель настоящего исследования – исследование органотоксического эффекта сырой нефти на амфибий в лабораторных условиях и изучение характера структурно-функциональных изменений в висцеральных органах у фоновых видов амфибий из биотопов Атырауской области, подверженных и неподверженных нефтезагрязнению.

Материалы и методы исследования

15 особей озерной лягушки (*Rana ridibunda*) были отловлены в районах, прилегающих Атыраускому нефтеперерабатывающему заводу (АНПЗ), окрестностях п.Бесикты (Махамбетский район) и р.Акбас (Исатайский район). Махамбетский район был принят за условный контроль, в связи с меньшим числом разрабатываемых нефтяных месторождений. Забой животных проводили под эфирным наркозом. Для проведения экспериментов по изучению воздействия нефти на амфибий были использовано 24 особи лягушки озерной (*Rana ridibunda*) с массой тела 40-70 г. Животные были разбиты на 4 группы, по 6 животных в каждой: I – интактные животные (контроль); II- животные подвергались воздействию водорастворимой фракции сырой нефти в концентрации 0,05%; III – в концентрации 0,5%; IV – в концентрации 1%, в течение 30 дней. Для экспериментов была использована сырая нефть месторождения Биикжал, скважина :BS-4, инт: 1053-1059 (Жалыойский район, Атырауская область). Сырую нефть смешивали с водой в пропорции 1:9. Полученную смесь помещали в колбу и на магнитной мешалке в темноте производили перемешивание смеси в течение 48 часов. После перемешивания, для разделения на фракции, полученную смесь оставляли на 12 часов при комнатной температуре [7]. Далее водорастворимую фракцию отделяли делительной воронкой и использовали для интоксикации. Животных содержали в акватеррариумах (габаритные размеры – 31x 31x51 см.). Водорастворимую фракцию нефти вводили в водную среду с частотой 2 дня, перед каждым следующим днем предыдущая среда заменялась.

Для проведения гистологического анализа кусочки печени, почек и лёгких фиксировали в забуференном 10% формалине. Кусочки исследуемых органов фиксировались в формалине не менее 10 дней. Образцы отмывали от фиксатора, обезживали, проводя через батарею спиртов возрастающей крепости, и заливали в парафин-воск. С помощью микротомы изготавливали срезы толщиной 5-7 мкм. Полученные срезы окрашивали гематоксилином и эозином. Проводку и окрашивание образцов проводили с использованием изопропилового спирта [7]. Препараты изучали и фотографировали при помощи микроскопа Leica DM LB2, оснащенного камерой Leica DFC 320 Camera.

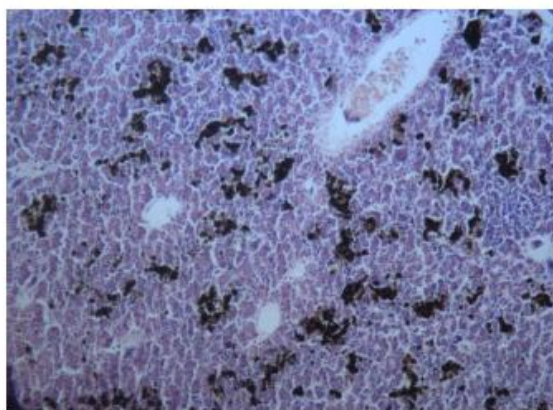
Результаты исследований и обсуждение

Биоиндикация является одним из наиболее важных методов экологического мониторинга, так как дает возможность обнаружить и определить биологически значимые антропогенные нагрузки. Для биоиндикации нефтезагрязненных районов Атырауской области нами были выбраны наиболее распространенный и многочисленный представитель амфибий – лягушка озерная (*Rana ridibunda*). Несмотря на то, что фауна амфибий региона немногочисленна и насчитывает всего 3 широко распространенных вида (озерная лягушка – *Rana ridibunda*, краснобрюхая жерлянка – *Bombina bombina*, зеленая жаба – *Bufo viridis*) применение данной группы животных в качестве биоиндикаторов оправдано. Озерная лягушка в течение всего жизненного цикла связана с водоемами и в том числе с прибрежными биотопами Каспийского моря. Состояние организма амфибий отражает состояние локального местообитания. Относительно небольшой радиус индивидуальной активности, отсутствие сильной тенденции к миграции, высокий и достаточно хорошо изученный полиморфизм – все эти факты позволяют успешно использовать озерную лягушку в качестве вида-биоиндикатора. Важным является принадлежность амфибий к нескольким звеньям трофодинамической цепи. Важнейшим этапом биоиндикационных исследований, помимо количественных популяционных и морфологических показателей является гистологический анализ, поскольку позволяет наиболее точно оценить степень изменения органа [8]. У позвоночных животных наиболее чувствительны к действию ксенобиотиков печень и почки, так как они активно участвуют в процессах биотрансформации и элиминации и, следовательно, наиболее уязвимы к действию токсичных веществ.

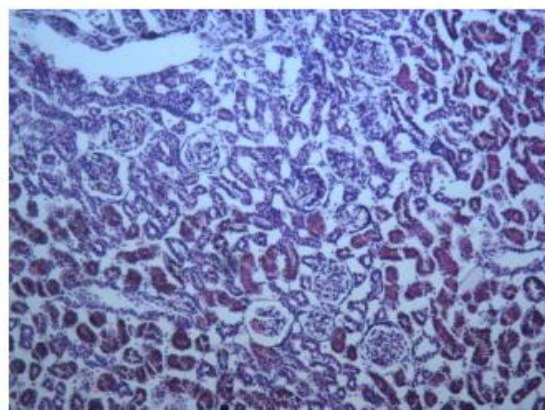
Биоиндикационные исследования предварялись лабораторными экспериментами по подострому воздействию на лягушек водорастворимых фракций нефти для выяснения эффектов нефти на висцеральные органы и выявления органов-мишеней. В результате исследования гистоструктуры печени и почек лягушки озерной патологические изменения в морфологии органов были выявлены при воздействии всех исследуемых концентраций водорастворимых фракций нефти. Причем выраженность и характер патоморфологических изменений в различных органах зависели от действующей концентрации ксенобиотика. Так, при воздействии

водорастворимых фракций нефти в концентрации 0,05% в печени лягушки озерной отмечались нарушения кровообращения – полнокровие крупных сосудов и стаз капилляров, структуры паренхимы органа, отмечался полиморфизм гепатоцитов, диффузная лимфогистиоцитарная инфильтрация. В паренхиме органа обнаруживалось большое количество мелано-макрофагальных скоплений (рис 1 – А). Изменения со стороны микроциркуляторного русла и дегенеративные изменения в гепатоцитах нарастали по мере увеличения дозы воздействия. При воздействии водорастворимых фракций нефти

в концентрации 1% в печени лягушки озерной отмечались множественные очаги некрозов гепатоцитов. Дистрофические и некробиотические процессы сопровождалась диффузной воспалительной инфильтрацией. Надо отметить, что для воздействия нефти, наряду с дистрофическими и некробиотическими изменениями паренхимы и стромы печени, характерна умеренная воспалительная инфильтрация. По данным Кармазина А.П. (2010), воздействие на лягушек озерных нефти специфично и приводит к выраженной моноцитопении, нейтропении и эозинопении [9].



А



Б

Рисунок 1 – Гистоструктура печени (А) и почек (Б) лягушки озерной (*Rana ridibunda*) при воздействии водорастворимых фракций нефти в концентрации 0,05%. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. x 100.

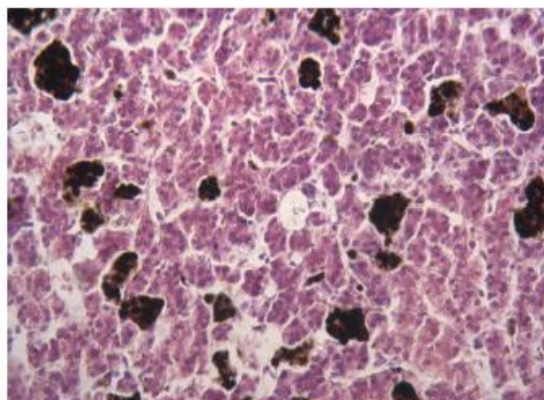
В почках лягушек, подвергнутых воздействию всех изученных концентраций водорастворимых фракций нефти, также наблюдались патоморфологические изменения, имеющие выраженный дозозависимый характер. Так, при воздействии нефти в концентрации 0,05% наблюдались отек паренхимы, уплотнение и деформация почечных телец, выраженная воспалительная инфильтрация (рис 1 – Б). Выявлена деструкция дистальных и проксимальных канальцев, диффузная генерализованная пролиферация мезангиальных клеток, утолщение базальных мембран, экссудативная реакция почечных канальцев. При воздействии водорастворимых фракций нефти в концентрации 0,5% наблюдался интерстициальный отек, мезангиальная пролиферация, стаз в петлях капилляров, деструкция дистальных и проксимальных канальцев, воспалительная инфильтрация интерстиция.

Воздействие водорастворимых фракций нефти в 1% концентрации приводила к развитию генерализованных патологических изменений в почках. Инфильтрация носила умеренный характер, что также согласуется с данными об угнетении моноцитопоза и нейтропении при воздействии больших концентраций нефти. В отдельных участках органа деструкция почечных телец приводила к появлению пустых капсул без клубочков.

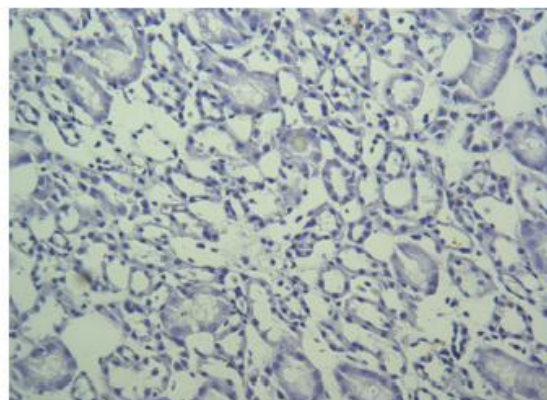
Похожая картина наблюдалась у озерных лягушек (*Rana ridibunda*) из биотопов Атырауской области, подверженных воздействию нефти и нефтепродуктов. У всех исследованных животных также были обнаружены патологические нарушения в структуре печени и почек. Так, при микроскопическом исследовании печени лягушки озерной было отмечено нарушение трубчатого строения органа, отек крупных сосудов (рис 2 – А). Наблюдалось

расширение синусоидов печени, стаз эритроцитов. В паренхиме органа отмечено большое количество мелано-макрофагальных скоплений. Выявлялись участки некроза паренхиматозных клеток печени,

многочисленные полиморфные гепатоциты. Строма органа была инфильтрирована воспалительными клетками, преимущественно лимфогистиоцитарного ряда, наблюдалась активация клеток Купфера.



А



Б

Рисунок 2 – Гистоструктура печени (А) и почек (Б) лягушки озерной (*Rana ridibunda*) из биотопов, подверженных нефтезагрязнению (АНПЗ г.Атырау). Окраска гематоксилином и эозином. Ув. х 200.

Микроскопическое исследование почек амфибий, в частности, лягушки озерной из биотопов, подверженных нефтезагрязнению (АНПЗ г.Атырау), выявило ряд глубоких структурных нарушений в структуре органа, как гломерулярных, так и тубуло-интерстициальных. Отмечалась деструкция дистальных и проксимальных канальцев, сильный отек интерстиция (рис 2 – Б). При этом были очевидны признаки дистрофических и атрофических изменений в почечных канальцах, а также некроз клеток почечного эпителия. В сосудистых клубочках наблюдалась пролиферация мезангиальных клеток, приводящая к слипанию и разъединению капилляров – синехиям, что в свою очередь вызывало деформацию и сморщивание клубочков.

Сравнивая результаты гистопатологических исследований висцеральных органов лягушки озерной, можно заключить, что при интоксикации животных нефтью больше всего повреждаются почки. Этот вывод согласуется с данными других исследователей. Например, Кармазиным А.П. (2010) было показано, что при воздействии нефти на лягушек озерных, токсикант накапливается в 3,8—5,5 раз больше в почках, чем в печени [9], что, по-видимому, и служит патогенетическим фактором, вызывающим деструктивные процес-

сы. Известно также, что у крыс-самцов при воздействии углеводородов нефти наблюдается развитие специфической нефропатии, которая служит причиной рака почек и последующей гибели животных. Выраженные дегенеративные изменения в почках лягушки озерной при действии углеводородов нефти могут служить причиной гибели животных, которая наблюдается в биотопах нефтезагрязненных территорий. Среди изученных нами на нефтезагрязненных территориях Атырауской области представителей тетрапод (лягушка озерная, зеленая жаба, водяной уж, желтый суслик) лягушки оказались наиболее чувствительными к действию поллютантов. Это, вероятно, связано с особенностями жизни этих амфибий в околородных и водных биотопах, а также с их строением, например, покровов. По-видимому, поступление водорастворимых ксенобиотиков в организм амфибии происходит через кожные покровы. Таким образом, анализ литературных источников, сравнение результатов лабораторных и биоиндикационных исследований позволяют сделать вывод о том, что структурные изменения в паренхиме висцеральных органов лягушки озерной из биотопов Атырауской области являются результатом токсического действия углеводородов нефти.

Литература

- 1 Kaiser M. J., Pulsipher A. G. A review of the oil and gas sector in Kazakhstan // *Energy Policy*. - 2007. - V. 35, № 2. - P. 1300-1314.
- 2 Netalieva I., Wesseler J., Heijman W. Health costs caused by oil extraction air emissions and the benefits from abatement: the case of Kazakhstan // *Energy Policy*. - 2005. - V. 33, № 9. - P. 1169-1177.
- 3 Dahl C., Kuralbayeva K. Energy and the environment in Kazakhstan // *Energy Policy*. - 2001. - V. 29, № 6. - P. 429-440.
- 4 Tolosa I., Mora S., Reza S.M., Villeneuve J.P., Bartocci J., Cattini C. Aliphatic and aromatic hydrocarbons in coastal caspian Sea sediments // *Marine Pollution Bulletin*. - 2004. - V. 48, № 1-2. - P. 44-60.
- 5 Сериков Ф., Оразбаев Б. Экологический мониторинг и анализ состояния здоровья населения нефтегазоносных районов Атырауской области // *Поиск*. - 2002. - № 4. - С. 116-122.
- 6 Anderson J.W., Neef J.M., Cox B.A., Tatem H.E., Hightower G.M. Characteristics of dispersions and water-soluble extracts of crude and refined oils and their toxicity to estuarine crustaceans and fish // *Mar Biol.* - 1974. - V. 27. - P. 75-88.
- 7 Викторов И.В., Прошин С.С. Применение изопропилового спирта в гистологических методах: обезвоживание и заливка ткани в парафин, обработка парафиновых срезов // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. - 2003. - т. 136, № 7. - С. 119 - 120
- 8 Опекунова М.Г. Биоиндикация загрязнений. - СПб.: издательство санкт-петербургского государственного университета, 2004. - 354 с.
- 9 Кармазин А. П. Биомониторинг нефтяного загрязнения устья реки Дон с использованием водных позвоночных. - Краснодар: автореф. соис. канд. биол. наук, 2010. - 23 с.

Т.М. Шалахметова, М.А. Суворова, Б.А. Абдуллаева, Б.А. Умбаев, А.К. Цой,
А.Ж. Хамитов, А. Ондасынова, Л. Сутуева

Мұнаймен ластанудың төменгі сатыдағы тетраподалар ішкі мүшелерінің гистокұрылымына әсері

Баяндамада Атырау облысының әр түрлі аймақтарынан ауланған көл бақа мен сұжыланды биоиндикатор ретінде алып, ішкі мүшелерінің гистокұрылымы бойынша мәліметтер келтірілген. Зерттеу нәтижелері бойынша мұнаймен ластанған биотоптардан ауланған жануарлар мүшелерінің гистокұрылымындағы өзгерістер мұнайдың улы әсері екенін дәлелдейді және бұл әсерлерге өте сезімтал мүше – бүйрек болып табылады.

Түйін сөздер: мұнай, көл бақа, ішкі мүшелер, Атырау облысы.

T.M. Shalakhmetova, M.A. Suvorova, B.A. Abdullayeva, B.A. Umbayev, A.K. Tzoy,
A.Zh. Hamitov, A. Ondasynova, L. Sutuyeva

The oil pollution influence the hystostructure of visceral organs of lower Tetrapoda

The data on visceral organs hystostructure of marsh frogs used as bioindicator of various areas of Atyrau region and those exposed to water-soluble oil fractions are represented in this article. It was concluded that alterations in frogs' organs structure are result of oil intoxication and kidneys are most susceptible organ.

Keywords: oil, marsh frog, water-soluble oil fractions, visceral organs, Atyrau region.