



МОРФОЛОГИЧНИ ИЗМЕНЕНИЯ В ХЕПАТОПАНКРЕАС И БЪБРЕК НА КАРАКУДА (*CARASSIUS GIBELIO*) ПОД ДЕЙСТВИЕ НА НАРАСТВАЩИ КОНЦЕНТРАЦИИ ЦИНК

*Елена Ст. Томова, Атанас Д. Арnaudов,
Илиана Г. Велчева, Димитрина Д. Лазарова*

*ПУ „Св. Паусий Хилендарски“, Биологически факултет,
ул. „Цар Асен“ 24, 4000 Пловдив,
E-mail: arnaudov@uni-plovdiv.bg*

Abstract. The influence of increasing concentration of zinc (0.1, 0.5, 1.0, 1.5 and 2.0 mg.l-1) on histological texture of hepatopancreas and kidney of Crucian carp (*Carassius gibelio*) was studied. The main histopathological alteration in the hepatopancreas of Crucian carp is degeneration. With the increasing of the Zinc concentration in the water degeneration appears more intensively. The highest concentrations of Zinc (1.5 and 2.0 mg.l-1) cause necrotic and hiperthrophic alteration in the parenchyma. The presence of zinc in the water causes hyperplasia of hemopoetic tissue in the kidney and compression atrophy of the tubules. Zinc in concentration 0.5 mg.l-1 and higher causes formation of basophilic granules in the apical part of the tubule cells.

Key words: *Carassius gibelio*, zinc, histopathology, kidney, hepatopancreas

ВЪВЕДЕНИЕ

Негативното влияние на цинка върху риби е свързано и с нарушаване функциите на чернодробната тъкан и хемopoетичната система на организма им. То се проявява и в концентрации значително по-ниски от леталните такива. В специализираната литература, данни за хистологичните промени при риби под действие на цинк има най-вече за органи, свързани с дишането и с жизнения цикъл на еритроцитите (HEMALATHA & BANERJEE, 1997; ТОМОВА *et al.*, 2008). Малобройни са данните за токсичното действие на цинка върху други видове и органи и те са най-вече за комбинираното му действие с други тежки метали във водни басейни.

KROUPA & HARTVICH (1990) доказват по-високо ниво на цинк в бъбреци и черен дроб на риби. Според КОКА *et al.* (2005) при *Lepomis gibbosus* цинка от замърсен водоем в Турция се акумулира най-много в хрилете и черния дроб, като предизвиква дистрофично-некротични изменения в хепатоцитите (вакуолна дистрофия, намаляване на гликогена, разкъсване на клетките).

В опити на LOGANATHAN *et al.* (2004) се доказва, че под действието на цинк се наблюдават тежка некроза, кръвоизлив и дегенерация в черния дроб на *Labeo rohita*.

MURUGAN *et al.* (2008) доказват биоаккумуляция на цинк от сладководната риба *Channa punctatus*. След хронична експонация, откритите концентрации са в нисходящ ред - черен дроб >бъбреци> черво > хриле > мускул.

Изменения установяват и GREENFIELD *et al.* (2008) при силно устойчивия на антропогенно въздействие вид *Pogonichthys macrolepidotus*. Във водоем в Сакраменто (САЩ) доказват агрегация на макрофаги в черен дроб, бъбрек и полови органи. Показани са и не много силно изразени увреждания в черния дроб – изчерпване на гликогена, липидоза и наличие на цитоплазмени включения в хепатоцитите.

С разработването на настоящата работа си поставихме за цел *ex - situ* проследяване въздействието на нарастващи концентрации цинк върху морфологията на хепатопанкреас и бъбрек на каракуда (*Carassius gibelio*).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Като опитни животни бяха използвани по 10 индивида от вида *Carassius gibelio*. Рибите произхождат от рибно стопанство за стоково отглеждане. Всички екземпляри използвани в експеримента бяха от еднаква размерно-възрастова група (дължина 9.5÷12 cm, тегло 90÷120 g). Те бяха без патологични изменения по кожата, очите, люспите и перките и с нормална подвижност.

Експериментите се провеждаха в аквариуми с обем 25 литра.

За предизвикване на токсично въздействие на цинк бяха използвани поредица от нарастващи концентрации на цинков сулфат ($ZnSO_4 \cdot 5H_2O$). съответно - 0.1, 0.5, 1.0 и 2.0 mg.l⁻¹. Като контрола беше използвана отстояла чешмяна вода. Експозицията на всяка концентрация и на контролата беше 96 часа. През това време рибите не бяха хранени. В хода на експеримента бяха поддържани следните параметри на водата в контролната и опитните постановки: температура 18 - 20⁰C, рН 7-7.5 и твърдост 9.5 dH.

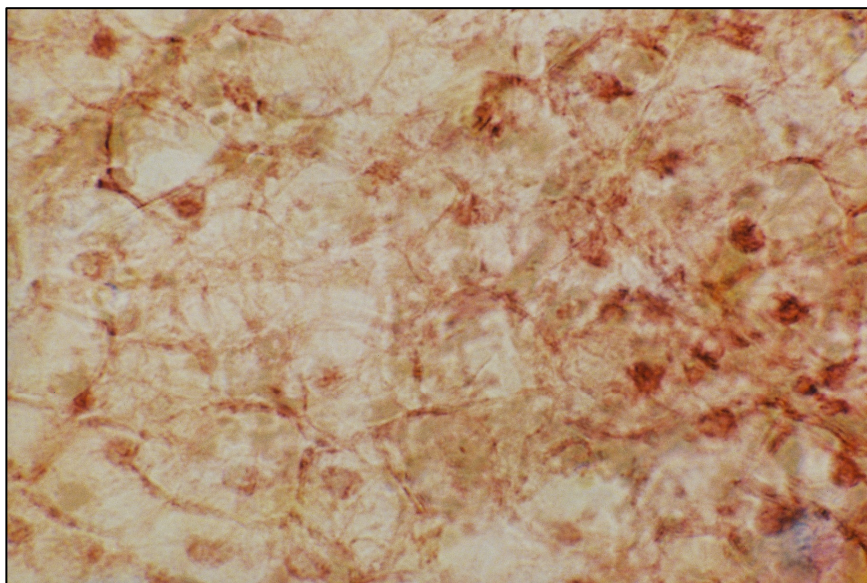
След 96 часовата експозиция от всеки екземпляр бяха отделяни хепатопанкреас и бъбрек. Фиксирането на пробите се извършваше в 10 % формалин за 12 часа. Пробите за хистологичен анализ бяха обработени по методика, описана от EVGENIEVA (1983). Получените парафинови срези бяха с дебелина 0.5-0.7 μm и бяха оцветени с хематоксилин и еозин (ХЕ).

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

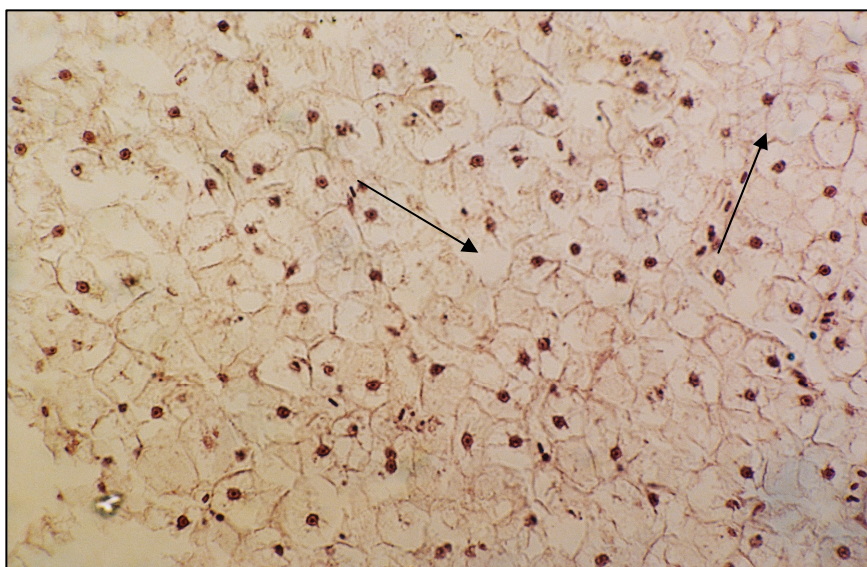
Хистопатологични промени в хепатопанкреаса

Под действието на цинка настъпват дегенеративни и некротични промени в хепатоцитите, като степента на тези изменения е в зависимост от дозата на токсиканта. При най-ниската използвана концентрация (0.1 mg.l⁻¹) беше наблюдавано мътно набъбване на хепатоцитите на определени участъци от паренхимата (Фиг. 1).

При по-високите концентрации на цинка бяха установени също и хидропсна дистрофия (0.5 mg.l⁻¹ и по-високи) и кариопикноза и кариолизис (1.0 mg.l⁻¹ и по-високи). При най-високата концентрация (2.0 mg.l⁻¹) некротичните изменения преобладаваха над дегенеративните (хидропсна дистрофия) (Фиг. 2).



Фиг. 1. Хепатопанкреас. Мътно набъбване на хепатоцитите под действие на 0.1 mg/l^1 цинк. ХЕ x 600.

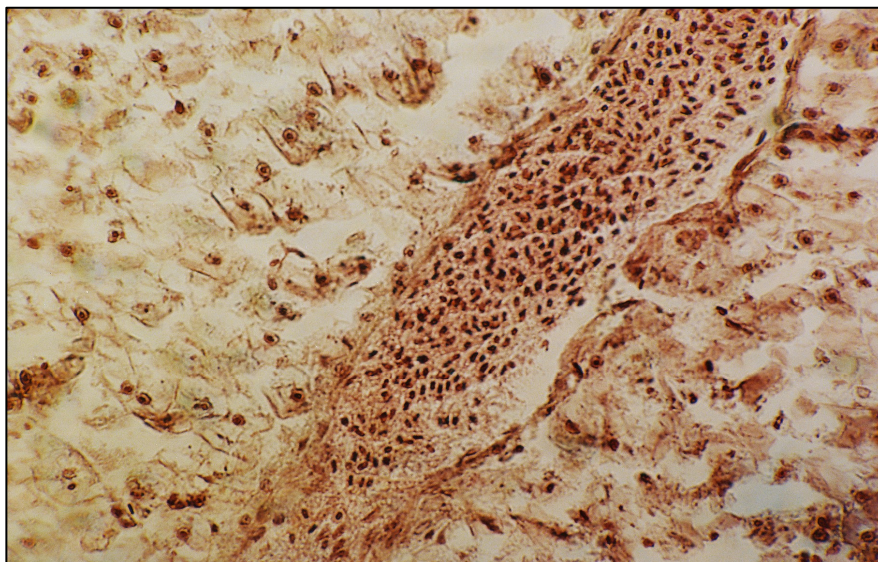


Фиг. 2. Хепатопанкреас. Хидропсна дистрофия и некроза на ядрата на хепатоцитите под действие на 1.0 mg/l^1 цинк. ХЕ x 400.

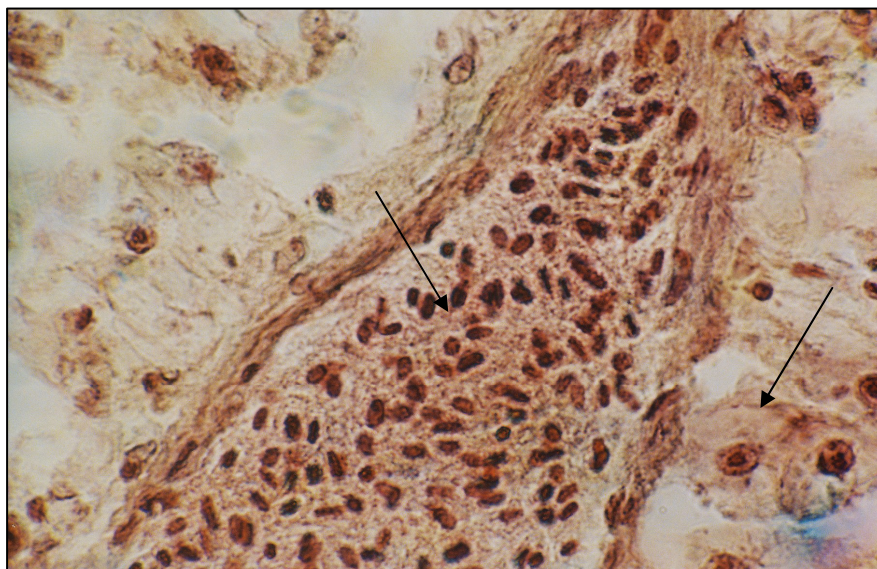
Също така, в хепатопанкреаса на каракудата беше наблюдавана и паренхимна хиперплазия при групите, третирани с 1.0 mg.l^{-1} цинк и по-високи. Според нас, това уплътняване на паренхима вероятно има компенсаторно-регенеративен характер.

Действието на цинка предизвиква и промени в кръвообръщението в хепатопанкреаса на каракудата. Установени бяха хиперемични изменения в капилярите при всички опитни групи (Фиг. 3). При групите, третирани с 1.0 mg.l^{-1} цинк и по-високи беше наблюдавана и тромбоза в кръвоносните съдове, както и хипертрофирали хепатоцити (Фиг. 4). При най-високата концентрация се установяват и отделни некротични участъци в паренхима (Фиг. 5). Подобно на на-

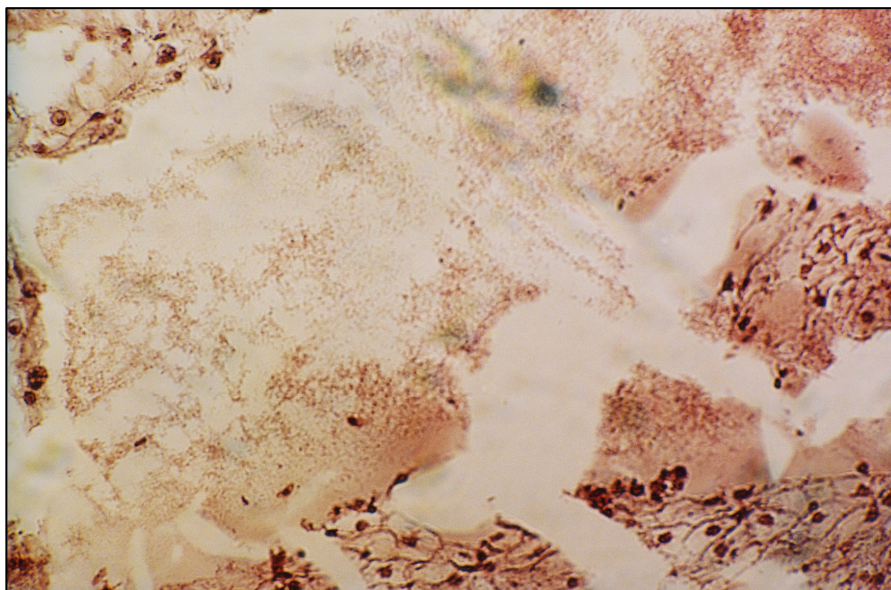
шите резултати и DUK *et al.* (2007) посочват хистопатологични промени в хепатопанкреас на риби като, хепатоцитна вакуолизация, клетъчен оток, както и претоварване на кръвоносните съдове. Интензитетът на тези хистологични промени се повлиява от продължителността на експеримента. Сходни са и промените в черния дроб на риби по действието на цинк, установени от WANGSONGSAK *et al.* (2007).



Фиг. 3. Хепатопанкреас. Хиперемичан кръвоносен съд, мътно набъбване, вакуолизация и отделни некротизирани хепатоцити под действие на 2.0 mg/l-1 цинк. ХЕ x 400.



Фиг. 4. Хепатопанкреас. Кръвоносен съд със съсирена кръв и хипертрофирани хепатоцити под действие на 2.0 mg/l¹ цинк. ХЕ x 600.

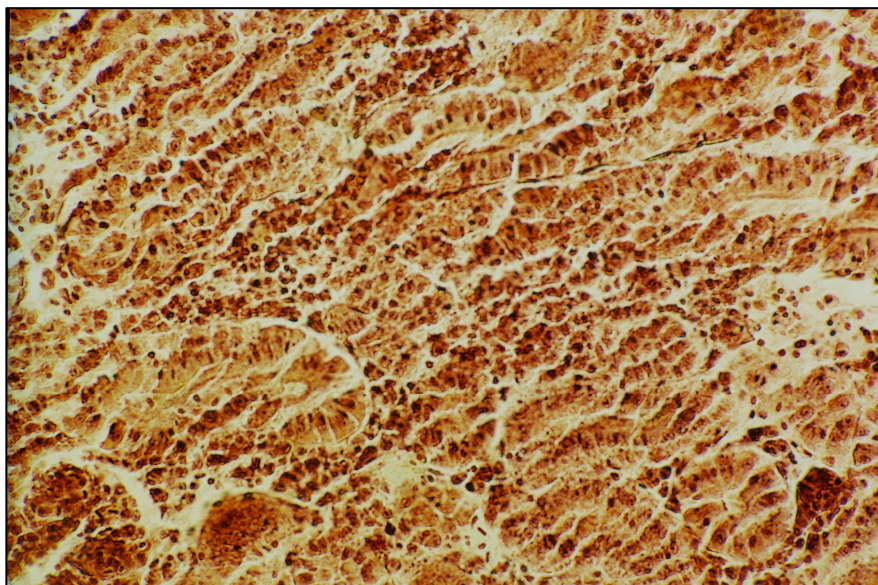


Фиг. 5. Хепатопанкреас. Обширен некротичен участък в паренхима под действие на 2.0 mg/l^1 цинк. ХЕ x 400.

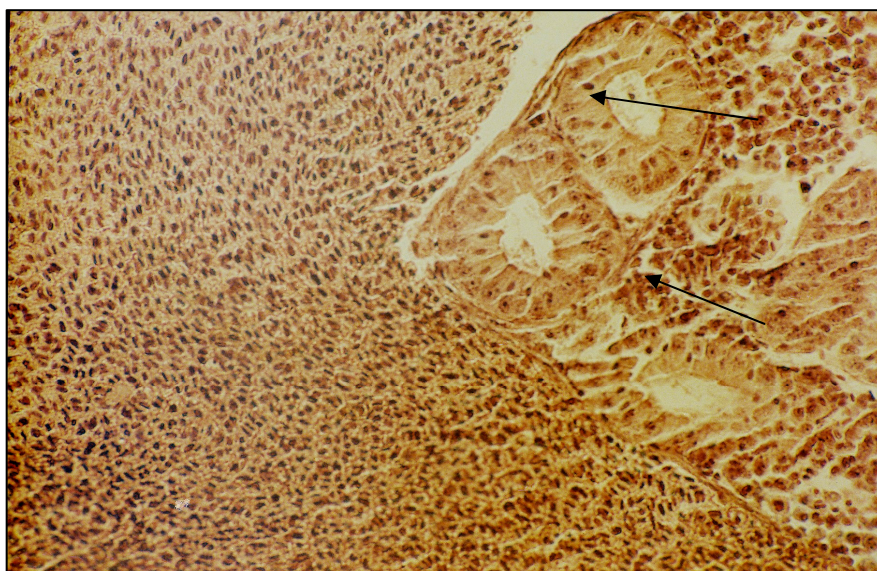
Хистопатологични промени в бъбрека

В бъбрека на каракудата измененията се изразяваха основно в хиперплазия на хемопоеичната тъкан, свързана с нуждата на организма от усилване на еритропоезата. Разрастване на хемопоеичната тъкан беше наблюдавано още при най-ниската използвана концентрация. Ядрата на клетките от ретикулната тъкан и на бъбречните каналчета се оцветяваха базofilно, за разлика от ядрата на същите клетки от контролната група, които се оцветяваха еозинofilно. Сред ретикулната тъкан се наблюдаваха и множество еритробласти и лимфобласти (Фиг. 6).

Наред с промените в паренхима, бяха наблюдавани и промени в кръвоносните съдове. Капилярните синуси в хемопоеичната тъкан бяха разширени и изпълнени с голямо количество еритроцити. Разрастването на хемопоеичната тъкан предизвика атрофични изменения от компресионен тип в бъбречните каналчета. Те се изразяват в стесняване на лумена им (при концентрации 0.5 mg.l^1), намаляване на големината им и избледняване на клетките, при концентрации 1.0 mg.l^1 и по-високи. В апикалната част на клетките на бъбречните каналчета бяха наблюдавани и по една добре оформена гранула при концентрации 0.5 mg.l^1 и по-високи. Гранулите се оцветяваха базofilно (Фиг. 7). Наред с всички описани изменения, в ретикулната тъкан на бъбрека на рибите от всички опитни групи се установи и липса на хемосидерин, който беше откриван в клетъчни струпвания от всички индивиди от контролната група.



Фиг. 6. Бъбрек. Базофилно оцветяване на клетките на бъбречните каналчета. Разрастване на хемопоеичната тъкан под действие на 0.5 mg/l^{-1} цинк. ХЕ x 400.



Фиг. 7. Бъбрек. Разширен кръвоносен съд, изпълнен с новообразувани еритроцити и базофилни гранули в епителните клетки на бъбречните каналчета под действие на 0.5 mg/l^{-1} цинк. ХЕ x 400.

GUPTA & SRIVASTAVA (2006) са установили тежки хистопатологични увреждания в бъбреците на *Channa punctatus*, но при въздействие на многократно по-високи (сублетални) дози цинк във водата и по-дълготрайна експозиция – 10 mg/l^{-1} , 15 mg/l^{-1} и 25 mg/l^{-1} за 15 дни. В този смисъл, получените от нас резултати показват, че цинка има ясно изразено токсично действие върху бъбреците на рибите, дори и в много ниски концентрации. Нещо повече, при такива условия започва и силно разрастване на хемопоеичната тъкан и усиленото производство на нови еритроцити (Фиг. 6 и 7).

ИЗВОДИ

Основна хистопатологична промяна в хепатопанкраса на каракудата под действието на цинка е *дегенерацията*. С нарастване на неговата концентрация, дегенерацията се проявява в по-тежка форма.

При по-високите концентрации, цинкът предизвиква и *некротични* и *хипертрофични* изменения в паренхима на хепатопанкреаса на каракудата.

Наличието на цинк във водата предизвиква *хиперплазия* на хемопоеичната тъкан в бъбрека и *компресионна атрофия* на бъбречните каналчета.

Цинка, в концентрация 0.5 mg.l^{-1} и по-голяма води до образуване на *базофилни гранули* в апикалната част на клетките на бъбречните каналчета.

БЛАГОДАРНОСТИ

Настоящото проучване е финансирано от НПД – ПУ „Паисий Хилендарски“, Договор 07Б11 и 07Б59.

ЛИТЕРАТУРА

EVGENIEVA T. P. 1983. Histological methods in the experimental Zoology. Moscow, Science, (in Russian), 38p.

DYK J., G. M. PIETERSE AND J. H. J. VAN VUREN. 2007. Histological changes in the liver of *Oreochromis mossambicus* (Cichlidae) after exposure to cadmium and zinc. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 66(3): 432-440.

GREENFIELD B. K., SW. J. TEH, J. R. M. ROSS, J. HUNT, G. H. ZHANG, J. A. DAVIS, G. ICHIKAWA, D. CRANE, S. S. O. HUNG, D. F. DENG, F.C. TEH, P. G., GREEN. 2008. Contaminant concentrations and histopathological effects in Sacramento split-tail (*Pogonichthys macrolepidotus*). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 55(2): 270-281.

GUPTA P., N. SRIVASTAVA. 2006. Effects of sub-lethal concentrations of zinc on histological changes and bioaccumulation of zinc by kidney of fish *Channa punctatus* (Bloch). *Journal of Environmental Biology*, 27(2): 211-215.

HEMALATHA S., T. K. BANERJEE. 1997. Histopathological analysis of acute toxicity of zinc chloride on the respiratory organs of air-breathing catfish *Heteropneustes (Saccobranchus) fossilis* (Bloch), *Veterinarski Arhiv*, 67(1): 11-24.

KOKA Y. B., S. KOKA, S. YILDIZ, B. GURCU, E. OSANC, O. TUNCBAS, G. AKSOY. 2005. Investigation of hystopatological and cytogenetic effects on *Lepomis gibbosus* (Pisces: Perciformes) in the Cine Stream (Aydin, Turkey) with determination of water pollution. *Environmental Toxicology*, 20(6): 560-571.

KROUPA M., HARTVICH P. 1990. Selected heavy metals in the tissues of fish in the Luznice river Czechoslovakia. *Zivocisna vyroba*, 35 (10): 937-994.

LOGANATHAN K., B. VELMURUGAN, J. HONGRAY HOWRELIA, M. SELVANAYAGAM AND BHARAT BHUSAN PATNAIK. 2004. Zinc induced histological changes in brain and liver of *Labeo rohita* (Ham.). *Environmental Sciences and Biotechnology Research Unit, P.G. and Research Department of Zoology, Loyola College, India*,

MURUGAN S. SENTHIL, R. KARUPPASAMY, K. POONGODI, S. PUVANESWARI. 2008. Bioaccumulation Pattern of Zinc in Freshwater Fish *Channa punctatus* (Bloch.) After Chronic Exposure. *Annamalai University, Department of Zoology, India, Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 8: 55-59.

TOMOVA E., AT. ARNAUDOV, I. VELCHEVA. 2008. Morphophysiological alterations in erythrocytes and spleen of *Carassius gibelio* under the influence of zinc, *Journal of Environmental Biology*, 29(5/6) (in press).

WANGSONGSAK A., S. UTARNPONGSA, M. KRUAETRACHUE, M. PONGLIKITMONGKOL, P. POKETHITIYOO AND T. SUMRANWANICH. 2007. Alterations of organ histopathology and metallolhionein mRNA expression in silver barb, *Puntius gonionotus* during subchronic cadmium exposure. *Journal of Environmental Sciences*, 19(11): 1341-1348.

**MORPHOLOGICAL CHANGES IN THE HEPATOPANCREAS
AND KIDNEY (*Carassius gibelio*) UNDER THE INFLUENCE
OF INCREASING CONCENTRATIONS OF ZINC**

*Elena S. Tomova, Atanas D. Arnaudov,
Iliana G. Velcheva, Dimitrina D. Lazarova*

*University of Plovdiv, Faculty of Biology,
24 Tzar Assen Str., 4000 Plovdiv, E-mail: arnaudov@uni-plovdiv.bg*

(Summary)

The influence of increasing concentration of zinc (0.1, 0.5, 1.0, 1.5 and 2.0 mg.l⁻¹) on histological texture of hepatopancreas and kidney of Crucian carp (*Carassius gibelio*) was studied.

The main histopathological alteration in the hepatopancreas of Crucian carp is degeneration. With the increasing of the Zinc concentration in the water degeneration appears more intensively. The highest concentrations of Zinc (1.5 and 2.0 mg.l⁻¹) cause necrotic and hipertrophic alteration in the parenchyma.

The presence of zinc in the water causes hyperplasia of hemopoetic tissue in the kidney and compression atrophy of the tubules. Zinc in concentration 0.5 mg.l⁻¹ and higher causes formation of basophilic granules in the apical part of the tubule cells.