

УДК 576.895.1:591.81

**ЦИТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПЕЧЕНИ  
БЕЛОМОРСКОЙ ТРЕСКИ (*Gadus morhua maris-albi* Derjugin, 1920)  
ПРИ ПАРАЗИТАРНЫХ ИНВАЗИЯХ**

Н.В. Шакурова, Е.В. Кудрявцева

**Аннотация**

Одной из самых зараженных рыб Белого моря является треска *Gadus morhua maris-albi*. Печень рыб является удобным модельным объектом в исследованиях патогенеза при паразитозах. Проведено электронно-микроскопическое исследование клеток печени беломорской трески при минимальной и максимальной инвазии в контрольных уловах. Проанализированы цитологические особенности гепатоцитов и перисинусоидальных клеток печени при фоновой инвазии. Выявлены признаки жирового гепатоза у экземпляров с высокой степенью инвазии. Исследованы цитоморфологические изменения гепатоцитов и условия адаптации к паразитарным инвазиям.

**Ключевые слова:** печень рыб, ультраструктура, инвазии, беломорская прибрежная треска, гельминтозы, гепатоциты, *Gadus morhua*, электронная микроскопия.

Печень рыб является жизненно важным органом, выполняющим метаболическую, гомеостатическую, барьерную функции. Полифункциональность этого органа определяет повышенную чувствительность печени к разнообразным воздействиям среды. Одним из постоянных поражающих факторов для беломорской трески являются паразиты пищеварительной системы [1]. Треска *Gadus morhua maris-albi* выступает в роли дефинитивного, промежуточного, а также кумулятивного хозяина для разных видов паразитов. Проблема адаптации животных к паразитарным инвазиям является одной из важнейших в паразитологии и биологии. Решение этой проблемы может лежать в плоскости цитоморфологических исследований печени инвазированных животных.

**1. Материал и методы**

Сбор материала и лов беломорской прибрежной трески *Gadus morhua maris-albi* производился в период ее откорма (в июне, июле) в Кандалакшском заливе Белого моря. В сборах преобладали особи 3–5 лет, экземпляры старших возрастов (шести и более лет) составляли 16% улова, что объясняется возрастными миграционными особенностями вида. Паразитологическое обследование трески ее внутренних органов, проводилось по общепринятой методике И.Е. Быховской-Павловской [2]. Установлено, что общая зараженность беломорской прибрежной трески составляет 100%. Массовыми видами являются скребни (*Echinorhynchus gadi*), нематоды семейства Anisakidae (*Cucullanus cirratus*, *Anisakis* sp. larva),

цестоды (*Diphyllobothrium* sp. larva, *Bothriocephalus* sp. larva), трематоды (*Hemiurus levinseni*). Доминируют в паразитоценозе беломорской трески скребни и нематоды (экстенсивность инвазии (ЭИ) равна 100% и 86% соответственно).

Общая интенсивность инвазии (ОИИ) трески составила 33 экз./особь. Анализ топического распределения паразитов во внутренних органах (печени, желудка, пилорических придатков, кишечника, брюшной полости) показал, что постоянным местом присутствия паразитов является печень, кумулирующая до 50% всех паразитов особи.

Поскольку печень всех обследованных экземпляров была инвазирована, в качестве биологического контроля нами были использованы образцы с минимальными показателями интенсивности инвазии (ИИ) ( $ИИ_{печени} = 1$  экз.,  $ОИИ = 4$  экз./особь).

Для цитоморфологического анализа воздействия гельминтов на структуру и функцию печени были использованы образцы с высокой степенью поражения ( $ИИ_{печени} = 6-10$  экз. при  $ОИИ = 20-32$  экз./ особь).

Для изучения ультраструктурных изменений печени трески были подготовлены фрагменты органа величиной  $8 \text{ мм}^3$ . Первичная фиксация биоматериала осуществлялась в 1%-ном глутаровом альдегиде на 0.1 М фосфатном буфере (рН 7.4) в течение 12 ч при температуре  $4^\circ\text{C}$ . Постфиксация биоматериала проводилась в 1%-ном растворе  $\text{OsO}_4$  (на том же буфере с добавлением 0.1 М сахарозы, время экспозиции – 2 ч при  $20^\circ\text{C}$ ). После дегидратации и пропитки материал был помещен в смесь эпоновых смол. Тонкие срезы, полученные на ультрамикротоме Ultracut E Reichert (Reichert, Австрия), просмотрены и отсняты на электронном микроскопе JEM-100CX (JEOL, Япония).

## 2. Результаты и их обсуждение

Для костистых рыб (Teleostei) характерен трубчатый тип строения печени [3]. Паренхима этого органа составлена из гепатоцитов, формирующих анастомозирующие ламины вокруг синусоидов. Кровеносные сосуды (синусоиды) и соединительная ткань образуют строму печени. В перисинусоидальном пространстве располагаются жиросодержащие клетки [4]. Небольшие просветы между соседними гепатоцитами, ограниченные клеточными мембранами, представляют собой желчные каналцы, по которым транспортируется желчь.

**2.1. Ультраструктура печени трески (биологический контроль).** Для выяснения возможных патологических изменений печени трески при сильных инвазиях необходимо иметь представление о нормальном строении печени. Ввиду отсутствия в сборах интактных особей мы использовали наименее зараженные экземпляры в качестве контрольных образцов.

Согласно результатам электронно-микроскопического исследования, гепатоциты контрольной группы демонстрируют типичную цитоморфологическую картину без явной патологии. Клетки имеют призматическую форму. Центральное положение занимает ядро правильной формы со светлой нуклеоплазмой и крупным ядрышком (рис. 1). Нередко гепатоциты имеют два ядра, это для клеток печени – явление вполне обычное [4, с. 553]. Перинуклеарное пространство неравномерно расширено, достигая в отдельных участках 600 нм

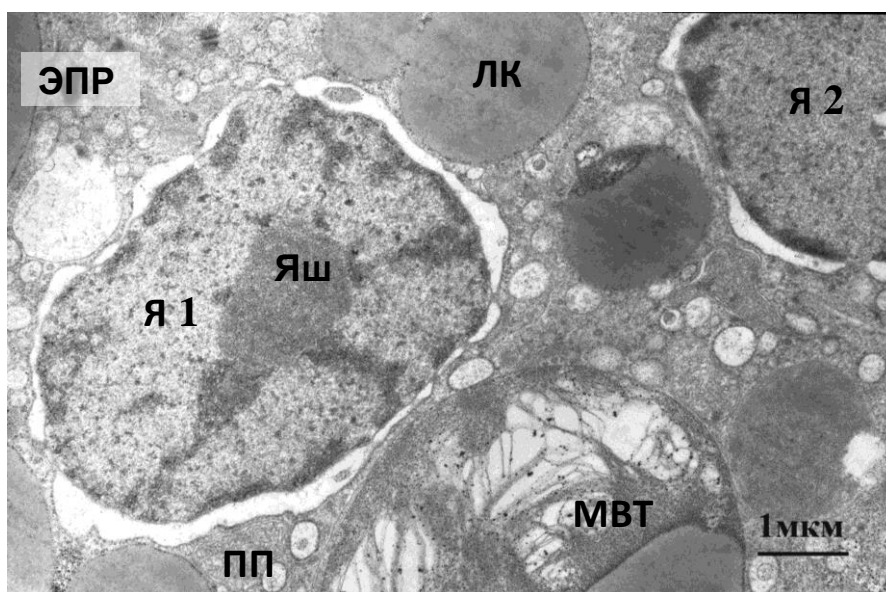


Рис. 1. Печень беломорской трески при минимальной инвазии (биологический контроль). Дикарионный гепатоцит. Я1, Я2 – два ядра гепатоцита, ПП – перинуклеарное пространство, ЭПР – каналы гранулярного эндоплазматического ретикулума, ЛК – липидные капли (липосомы), МВТ – мультивезикулярные тела

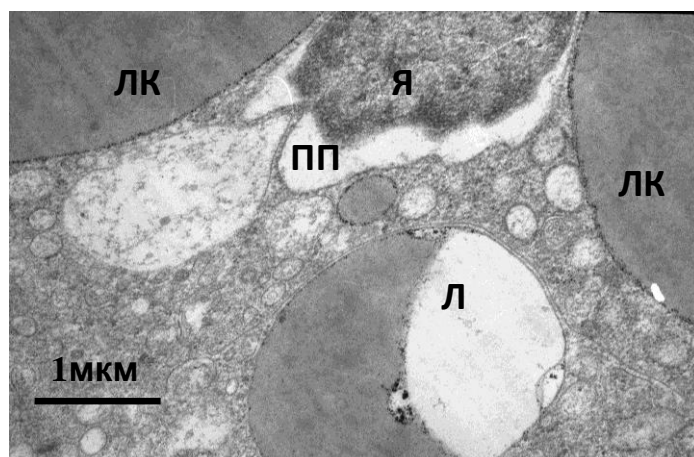


Рис. 2. Печень беломорской трески при минимальной инвазии. Увеличенное перинуклеарное пространство (ПП). Я – ядро гепатоцита, ПП – перинуклеарное пространство, ЛК – липидные капли, Л – вторичная лизосома

(рис. 2). Синтетическая и депонирующая функция печеночных клеток находит свое отражение не только в структуре и количестве ядер, но и в наборе клеточных органелл и включений. В цитоплазме гепатоцитов отмечается большое число первичных лизосом, пероксисом, мультивезикулярных тел, вторичных лизосом с фрагментами липидных включений, митохондрии. Многочисленные диффузно-рассеянные в цитоплазме жировые капли размерами от 300 нм до 10–12 мкм (рис. 3), скопления гликогена, обширные каналы гранулярного ЭПР и гладкого ЭПР указывают на активные процессы липо- и глюкогенеза.

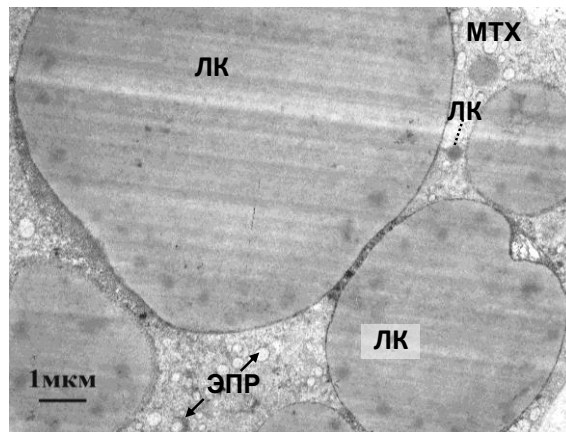


Рис. 3. Печень беломорской трески при минимальной инвазии. Многочисленные диффузно-рассеянные в цитоплазме гепатоцита жировые капли (от 300 нм до 10–12 мкм). МХ – митохондрии, ЛК – липидные капли, ЭПР – каналы эндоплазматического ретикулума (в цитоплазме – зерна гликогена)

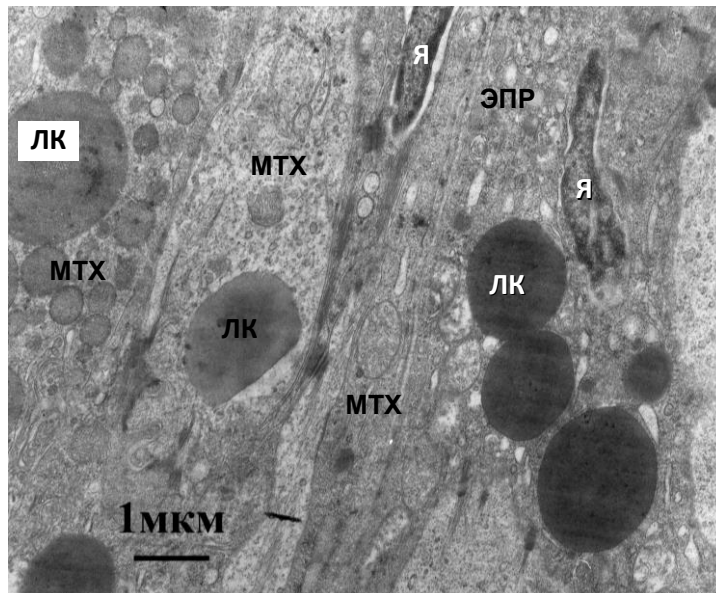


Рис. 4. Печень беломорской трески при минимальной инвазии. Жиросодержащие клетки перисинусоидального пространства (клетки Купфера). МХ – митохондрии с темным и светлым матриксом, ЛК – липидные капли, ЭПР – каналы эндоплазматического ретикулума, Я – ядро

В выстилающих печеночные синусоиды жиросодержащих клетках, депонирующих жир и витамин А, ядро обычно занимает эксцентричное положение, а размеры и форма ядра заметно отличаются от ядер большинства гепатоцитов. Уплотненные или лопастные ядра вытесняются на периферию крупными липидными каплями (рис. 4). В этом случае отмечается уменьшение перинуклеарного пространства и каналов гранулярного ЭПР до 200 нм, что указывает на снижение активности трансляционных процессов и посттрансляционной модификации

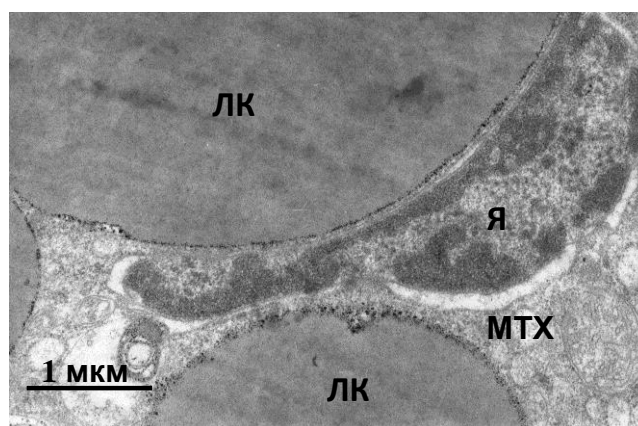


Рис. 5. Печень беломорской трески при минимальной инвазии. Жиросодержащие клетки перисинусоидального пространства (клетки Купфера). Уплощенное ядро между жировыми каплями. Я – ядро, МТХ – митохондрии со светлым матриксом, ЛК – липидные капли

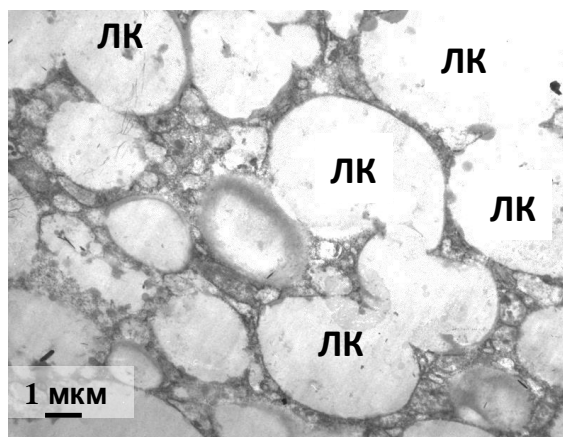


Рис. 6. Печень беломорской трески при сильной инвазии. Гепатоциты. Крупные липидные капли, сливающиеся друг с другом, – основной компонент гепатоцитов. ЛК – липидные капли

белков. Косвенным подтверждением сказанному служит и небольшое количество лизосом. Большая часть цитоплазмы заполнена жировыми включениями (диаметром 2–8 мкм), сливающимися в местах контакта (рис. 5).

**2.2. Ультраструктура печени трески (интенсивная инвазия).** При высокой зараженности трески наблюдаются патологические изменения гепатоцитов, указывающие на перерождение гепатоцитов в липоциты. О жировой дегенерации свидетельствует «пенистый» вид паренхимных клеток печени (рис. 6). Основным компонентом цитоплазмы гепатоцитов оказываются жировые включения, сливающиеся в одну гигантскую каплю произвольных очертаний. При этом в некоторых гепатоцитах отмечается изменение структуры липосом – они выглядят электронно светлыми с периферически локализованными фрагментами исходной плотности (рис. 7).

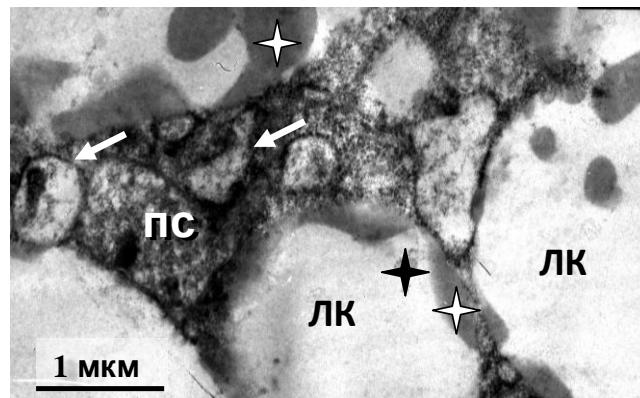


Рис. 7. Печень беломорской трески при сильной инвазии. Гепатоциты. Электронная плотность липидных включений различна – в центре низкая электронная плотность (черная звезда), по периферии – средняя электронная плотность (белая звезда). ЛК – липидные капли, ПС – пероксисомы (стрелки также указывают на пероксисомы)

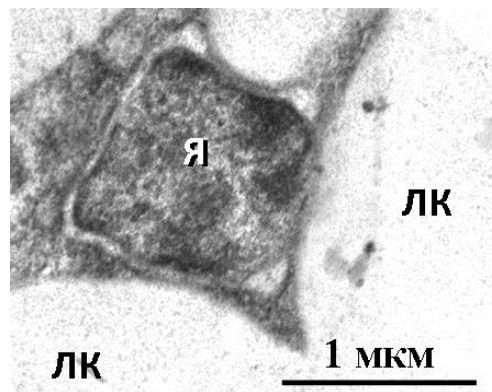


Рис. 8. Печень беломорской трески при сильной инвазии. Деформированное ядро гепатоцита. ЛК – липидные капли, Я – ядро

Ядра гепатоцитов деформированы, имеют полигональную, лопастную или уплощенную из-за доминирующих жировых масс. Ядрышко исчезает, хроматин конденсируется, формируя в нуклеоплазме обширные гетерохроматиновые поля. Перинуклеарное пространство составляет 100–120 нм (рис. 8).

Вблизи липидных масс располагаются многочисленные пероксисомы. Увеличение пероксисом в клетках печени является, вероятно, следствием оксидативного стресса. У позвоночных, в частности у человека, окислительный стресс является одним из механизмов ответа иммунной системы на действие патогенов [5]. Нарушение клеточного редокс-статуса, вызывающего увеличение уровня реактивных форм кислорода, ведет к активации процессов окисления липидов и нуклеиновых кислот и к увеличению числа пероксисом (рис. 6). На активизацию процесса утилизации липидов указывает увеличение числа мультивезикулярных тел, лизосом, а также везикуляция каналов ЭПР, диктиосом комплекса Гольджи.

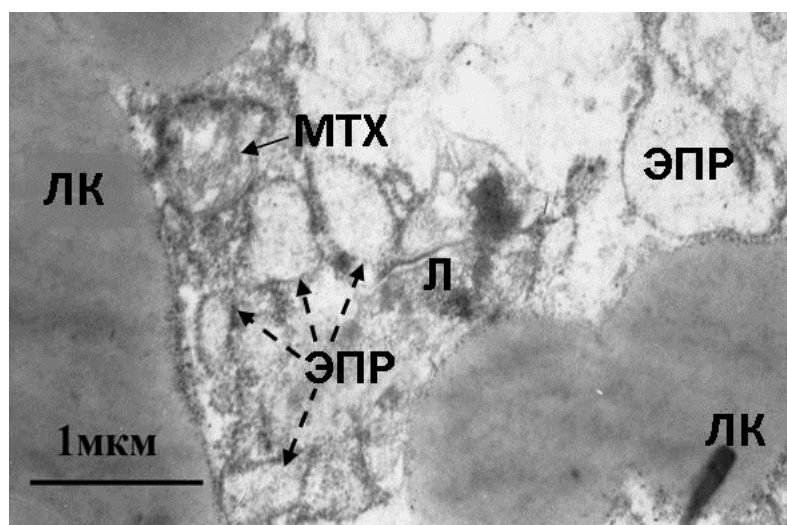


Рис. 9. Печень беломорской трески при сильной инвазии. Гепатоцит. Расширенные каналы гранулярного эндоплазматического ретикулума (ЭПР) и митохондрия с увеличенным матриксом и поврежденными кристами (МТХ). ЛК – липидные капли, Л – лизосома

О нарушении окислительно-восстановительных процессов клетки свидетельствуют и аномалии ультраструктуры митохондрий, проявляющиеся в вакуолизации матрикса и повреждении крист. (рис. 9). Все эти патологические изменения гепатоцитов отражают нарушения обменных процессов в ответ на инвазию, и могут быть охарактеризованы как гепатоз (стеатогепатоз) среднекапельного типа.

В заключение можно констатировать, что с помощью электронно-микроскопического исследования выявлено нарушение ультраструктуры клеток паренхимы печени трески при высокой степени инвазии органа ( $ИИ_{печени} = 6-10$  экз.). При паразитарной инвазии наблюдаются такие патологические изменения, как смещение и деформация ядра, сокращение перинуклеарного пространства, везикуляция каналов ЭПР и диктиосом комплекса Гольджи, указывающие на снижение секреторной активности гепатоцитов; повреждение митохондрий, их внутренней мембраны, увеличение числа пероксисом вблизи липосом, что говорит о нарушении окислительно-восстановительных процессов в клетке и активизации процессов окисления липидов. Описанные цитоморфологические изменения печени являются удобными тест-функциями, чувствительными к присутствию тканевых эндопаразитов.

#### Литература

1. Шакурова Н.В., Сальникова М.М. Мониторинг паразитов беломорской прибрежной трески *Gadus morhua marisalbi* (Derjugin, 1920) // Паразитология в изменяющемся мире: Материалы V съезда Паразитологического о-ва при РАН: Всерос. конф. с междунар. участием (г. Новосибирск, 23–26 сент. 2013 г.). – Новосибирск: Гармонд, 2013. – С. 216.
2. Быховская-Павловская И.Е. Паразитологическое исследование рыб. – Л.: Наука. – 1969. – 107 с.

3. Chapman G.B. Ultrastructure of the liver of the fingerling rainbow trout *Salmo gairdneri* Richardson // J. Fish Biol. – 1981. – V. 18, No 5. – P. 553–567. – doi: 10.1111/j.1095-8649.1981.tb03796.x.
4. Салмова Н.А., Журавлева Н.Г. Морфологическое строение печени и поджелудочной железы молоди трески (*Gadus morhua* L.) в условиях искусственного выращивания // Вестник МГТУ. – 2012. – Т. 15, № 3. – С. 551–558.
5. Forman H.J. Reactive oxygen species and alpha, beta-unsaturated aldehydes as second messengers in signal transduction // Ann. N. Y. Acad. Sci. – 2010. – V. 1203. – P. 35–44. – doi: 10.1111/j.1749-6632.2010.05551.x.

Поступила в редакцию  
26.02.15

**Шакурова Наталия Владимировна** – кандидат биологических наук, доцент кафедры зоологии и общей биологии, Казанский (Приволжский) федеральный университет, г. Казань, Россия.

E-mail: ntlshakurova@gmail.com

**Кудрявцева Елена Владимировна** – студент кафедры зоологии и общей биологии, Казанский (Приволжский) федеральный университет, г. Казань, Россия.

E-mail: m081383@yandex.ru

\* \* \*

**CYTOMORPHOLOGICAL CHANGES IN THE HEPATE  
OF THE WHITE SEA COASTAL COD (*Gadus morhua maris-albi* Derjugin, 1920)  
DURING PARASITIC INVASIONS**

*N.V. Shakurova, E.V. Kudryavtseva*

**Abstract**

The cod *Gadus morhua maris-albi* is one of the most heavily infested fish species in the White Sea. The fish liver (hepate) is a convenient model to study the pathogenesis in parasitosis. A transmission electron microscopy study of the White Sea cod hepatocytes in both minor and severe infestation was performed in this paper. The ultrastructure of hepatocytes and pericytes in minor infestation was analyzed. The signs of fatty liver disease in specimens with the high degree of infestation were revealed. Changes in the fine structure of hepatocytes and adaptation of the organism to parasitosis were discussed.

**Keywords:** hepate of fish, ultrastructure, invasions, White Sea coastal cod, helminthosis, hepatocytes, *Gadus morhua*, electron microscopy.

**References**

1. Shakurova N.V., Sal'nikova M.M. Monitoring of parasites of the White Sea coastal cod *Gadus morhua maris-albi* (Derjugin, 1920). *Parazitologiya v izmenyayushchemsya mire: Materialy V s'ezda Parazitologicheskogo o-va pri RAN: Vseros. konf. s mezhdunar. uchastiem (g. Novosibirsk, 23–26 sent. 2013 g.)* [Parasitology in the Changing World: Proc. V Congr. Russ. Soc. Parasitol., Russ. Acad. Sci.: All-Russ. Conf. Int. Participation (Novosibirsk, Sept. 23–26, 2013)]. Novosibirsk, Garamond, 2013. 216 p. (In Russian)
2. Выховская-Павловская И.Е. Parasitological Study of Fish. Leningrad, Nauka, 1969. 107 p. (In Russian)
3. Chapman G.B. Ultrastructure of the liver of the fingerling rainbow trout *Salmo gairdneri* Richardson. *J. Fish Biol.*, 1981, vol. 18, no. 5, pp. 553–567. doi: 10.1111/j.1095-8649.1981.tb03796.x.



4. Salmova N.A., Zhuravleva N.G. The morphological structure of the liver and pancreas in juvenile cod (*Gadus morhua* L.) under the conditions of artificial rearing. *Vestn. MGTU*, 2012, vol. 15, no. 3, pp. 551–558. (In Russian)
5. Forman H.J. Reactive oxygen species and alpha, beta-unsaturated aldehydes as second messengers in signal transduction. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 2010, vol. 1203, vol. 35–44. doi: 10.1111/j.1749-6632.2010.05551.x.

Received  
February 26, 2015

---

**Shakurova Nataliya Vladimirovna** – PhD in Biology, Associate Professor, Department of Zoology and General Biology, Kazan Federal University, Kazan, Russia.

E-mail: [ntlshakurova@gmail.com](mailto:ntlshakurova@gmail.com)

**Kudryavtseva Elena Vladimirovna** – Student, Department of Zoology and General Biology, Kazan Federal University, Kazan, Russia.

E-mail: [m081383@yandex.ru](mailto:m081383@yandex.ru)