

УДК: 639.331.7

DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.2.258

АНАЛИЗ ПАТТЕРНОВ ЛИПИДНОЙ ИНФИЛЬТРАЦИИ ПРИ СТЕАТОЗЕ МАКРОВЕЗИКУЛЯРНОГО ТИПА У КАРПА ОБЫКНОВЕННОГО (*CYPRINUS CARPIO*)

Семенова Е.В.* – асп., мл. науч. сотр. лаборатории инновационных препаратов рекомбинантной протеомики. (ORCID 0000-0003-3675-5467);

ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт патологии,
фармакологии и терапии»

* elenasemyonova5@gmail.com

Ключевые слова: аквакультура, промысловое рыбоводство, карп обыкновенный, жировая дистрофия печени.

Keywords: aquaculture, commercial fish farming, common carp, liver steatosis.

Поступила: 25.04.2025

Принята к публикации: 06.06.2025

Опубликована онлайн: 20.06.2025



РЕФЕРАТ

Макровезикулярный стеатоз представляет собой распространенную патологию печени карпа обыкновенного (*Cyprinus carpio*). Выявление и количественная оценка специфических маркеров макровезикулярной трансформации печеночной ткани карпа обыкновенного позволит оптимизировать методы профилактики и терапевтической коррекции данной патологии в условиях интенсивной аквакультуры, что имеет существенное экономическое значение для рыбоводческой отрасли. Целью работы являлось проведение количественного анализа паттернов липидной инфильтрации при стеатозе макровезикулярного типа у карпа обыкновенного (*Cyprinus Carpio*). В исследовании использовали 20 особей карпа обыкновенного массой 800-900 г., выращенных на базе АО «Рыбопитомник» Воронежской области. Для моделирования острой фазы воспаления гидробионты были разделены на 2 группы: контрольную (n=10) и опытную группу (n=10), содержащуюся в водной среде с добавлением сульфата меди II ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) при концентрации 60 мг/л в пересчете на ион металла. Отбор биологического материала исследуемых особей из каждой группы (n=10) будет производиться через 56 часов после начала эксперимента. Для подтверждения жировой дистрофии из отобранных образцов печени изготавливали срезы на замораживающем микротоме, которые окрашивали составным красителем из Судана III и шарлаха красного для выявления нейтральных жиров в гепатоцитах. Все окрашенные препараты заключали в водорастворимую глицерин-желатиновую среду и так же просматривали в светооптическом микроскопе. Количественный анализ показывает преобладание жировых включений над функциональной паренхимой печени, что нарушает работу органа. Комбинированный подход, сочетающий классические гистологические методы с современным количественным анализом, может быть эффективен для диагностики патологий печени рыб и рекомендуется для внедрения в ветеринарных лабораториях.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION.

Макровезикулярный стеатоз представляет собой распространенную патологию печени карпа обыкновенного (*Cyprinus Carpio*) [1]. Системный анализ паттернов липидной инфильтрации имеет решающее значение для понимания механизмов гепатопатии. Выявление и количественная оценка специфических маркеров макровезикулярной трансформации печеночной ткани карпа обыкновенного позволит оптимизировать методы профилактики и терапевтической коррекции данной патологии в условиях интенсивной аквакультуры, что имеет существенное экономическое значение для рыбководческой отрасли. Целью работы являлось проведение количественного анализа паттернов липидной инфильтрации при стеатозе макровезикулярного типа у карпа обыкновенного (*Cyprinus Carpio*). Данное исследование имеет большое значение для ихтиопатологии и аквакультуры, так как печень является центральным органом метаболизма у рыб, и её патологические изменения могут служить индикатором неблагоприятных экологических условий или нарушений в технологии выращивания карпов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

В исследовании использовали 20 особей карпа обыкновенного массой 800-900 г., выращенных на базе АО «Рыбопитомник» Воронежской области. Лабораторные исследования проводили на базе лаборатории инновационных препаратов рекомбинантной протеомики отдела экспериментальной фармакологии и моделирования живых систем. Для моделирования острой фазы воспаления гидробионты были разделены на 2 группы: контрольную (n=10) и опытную группу (n=10), содержащуюся в водной среде с добавлением сульфата меди II ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) при концентрации 60 мг/л в пересчете на ион металла. Отбор биологического материала исследуемых особей из каждой группы (n=10) будет производиться через 56 часов после начала эксперимента.

Для проведения морфологических исследований тканей были отобраны образцы печени карпов, которые фиксировали в 10 %-ом растворе нейтрального формалина. Затем образцы тканей обезживали в растворах этилового спирта возрастающей концентрации и уплотняли парафином. Из парафиновых блоков готовили срезы толщиной 3-5 мкм, которые окрашивали гематоксилин-эозином и просматривали. Для подтверждения жировой дистрофии из отобранных образцов печени изготавливали срезы на замораживающем микротоме, которые окрашивали составным красителем из Судана III и шарлаха красного для выявления нейтральных жиров в гепатоцитах. Все окрашенные препараты заключали в водорастворимую глицерин-желатиновую среду и так же просматривали в светооптическом микроскопе. Измерение гистоморфометрических показателей препаратов производилось с использованием инструментов программной обработки изображений OMERO v5.6. и Orbit image analysis v 3.64. Преобразование и визуализация данных была выполнена с помощью общедоступного пакета cluster v 2.1.4 [2].

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Морфологическое исследование гистологического препарата контрольной группы (рисунок 1А) демонстрирует сохранность структуры органа. Клетки печени имеют полигональную форму с четкими границами, однородной цитоплазмой и центрально расположенными ядрами. Ядра гепатоцитов округлой формы, расположены центрально, хроматин равномерно распределен. Синусоидные капилляры хорошо определяются между печеночными балками, имеют нормальную ширину и содержат умеренное количество клеток Купфера. Портальные триады четко визуализируются по периферии печеночных долек. Это подтверждается отсутствием обилия липидных включений при окраске составным красителем из Судана III и шарлаха красного (рисунок 1Б).

Микропрепарат печени опытной группы (рисунок 1В) демонстрирует

наличие макровезикулярного стеатоза, характеризующегося патологической аккумуляцией липидных включений в цитоплазматическом компартменте гепатоцитов. Ядра клеток печени проявляют выраженную гиперхромность с дислокацией к периферии, что является следствием компенсаторно-адаптивных механизмов в условиях хронического повреждения паренхимы органа [3]. На некоторых участках отмечается кариопикноз, характеризующий начальные стадии апоптоза или

некроза. Архитектоника цитоплазмы характеризуется неоднородностью что, по мнению Roh H., может свидетельствовать о повреждениях митохондрий и эндоплазматического ретикулина в результате окислительного стресса, проводящего к накоплению дефектных белков и липидов в гепатоцитах [4]. Окраска составным красителем из Судана III и шарлаха красного (рисунок 1Г) подтверждает диффузное поражение печени, выявляя вакуолизацию клеток.

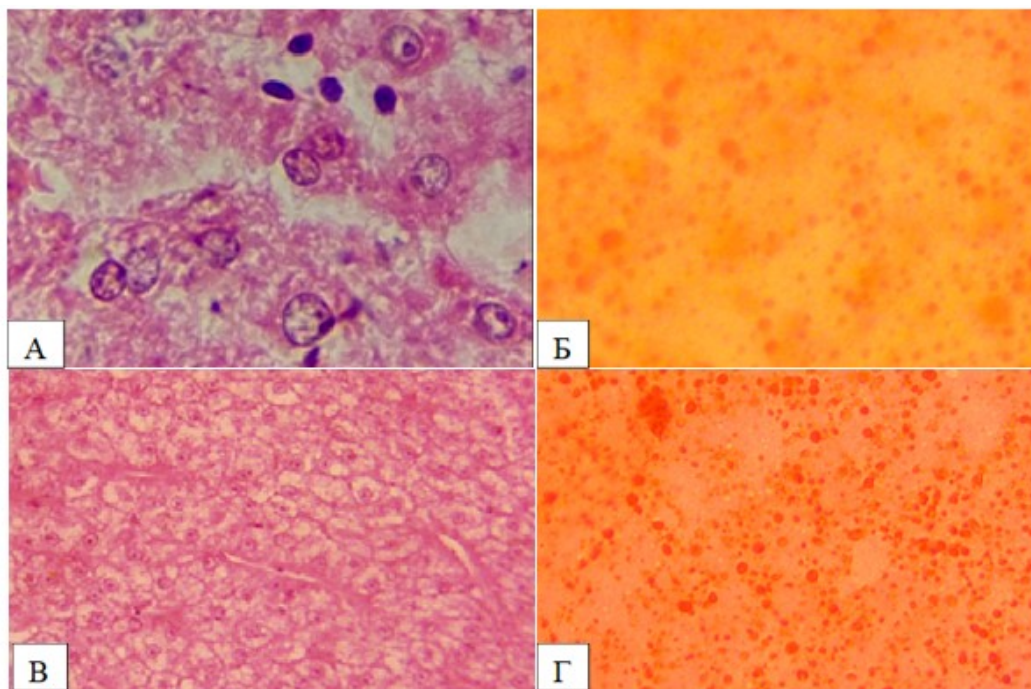


Рисунок 1 – Микрофотографии структуры печени карпа обыкновенного (*Cyprinus Carpio*). А- сохранная структура органа контрольной группы. Окраска гематоксилин-эозином, ув. х400. Б – отсутствие обилия липидных включений в печени контрольной группы. Окр. судан III + шарлах красный, ув. ок. 8, об.40. В – среднекапельная жировая дистрофия. Окраска гематоксилин-эозином, ув. х400. Г – среднекапельная диффузная жировая дистрофия в печени. Окр. судан III + шарлах красный, ув. ок. 8, об.40.

Проведенный количественный анализ липидных включений контрольной и опытной группы (рисунок 2 А, Б) визуализирует соотношение между жировыми каплями и паренхимой печени. Средние значения интенсивности хроматических

показателей жировых капель контрольной группы находились в диапазоне от 90 до 125 единиц, тогда как опытная группа демонстрировала значения превышающие 140 единиц. Повышение базового уровня интенсивности меньшая варибельность

показателей жировых капель, а также более четкий паттерн ритма колебаний в опытной группе указывает на формирование характерного для стеатоза диффузного накопления липидов. Оценка соотношения максимальных и минимальных размеров включений (рисунок 2 В, Г) дополняет количественный анализ, демонстрируя разнообразие интенсивности ли-

пидных капель. Разница в показателях паренхимы печени свидетельствует о неоднородности сохранившейся функциональной структуры печени опытной группы на фоне вытеснения цитоплазмы гепатоцитов жировыми каплями, что согласуется с морфологическим исследованием, описанным выше.

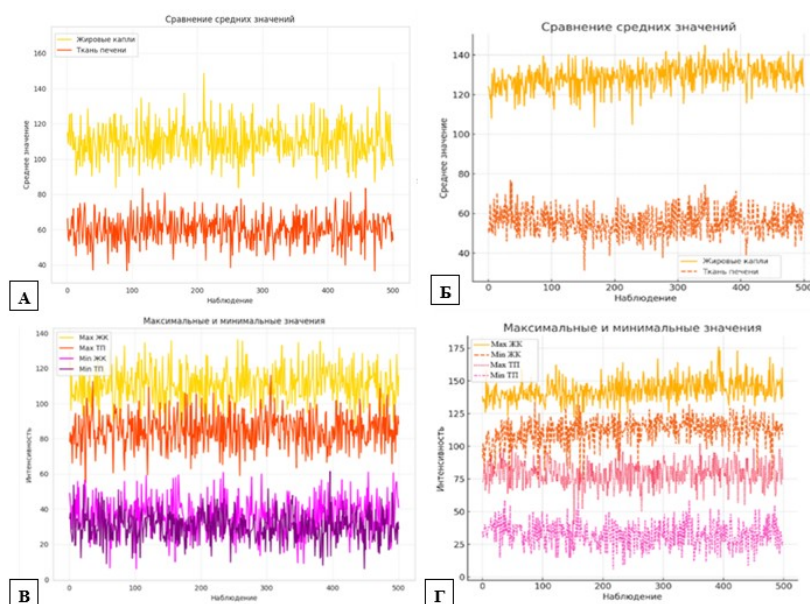


Рисунок 2 – Количественный анализ липидных включений. А, Б – Оценка средних значений интенсивности хроматических показателей жировых капель и паренхимы печени контрольной и опытной групп. В, Г – Оценка соотношения максимальных и минимальных размеров включений и паренхимы печени контрольной и опытной групп. ЖК – жировые капли, ТП – ткань печени.

Для объективизации степени липидной инфильтрации в исследуемом гистологическом препарате провели количественную оценку пространственной гетерогенности жировых включений посредством трехмерного картирования коэффициента хроматической дисперсии (КХД) (рисунок 3 А, Б) [4]. В контрольной группе наблюдаются несколько изолированных пиков средней высоты, распределенный неравномерно, что отражает физиологическую вариабельность нормальной ткани. Цветовое распределение демон-

стрирует преобладание зеленого спектра, указывающего на средние значения коэффициента, с относительно равномерным распределением цветов. На рисунке 3Б топография поверхности характеризуется более высокими, четко выраженными и многочисленными пиками, которые имеют упорядоченный характер возвышений. Чередование участков с различной интенсивностью инфильтрации подтверждает диффузный характер поражения с вовлечением большей части паренхимы печени, что соответствует выше представленным рисункам 1 и 2.

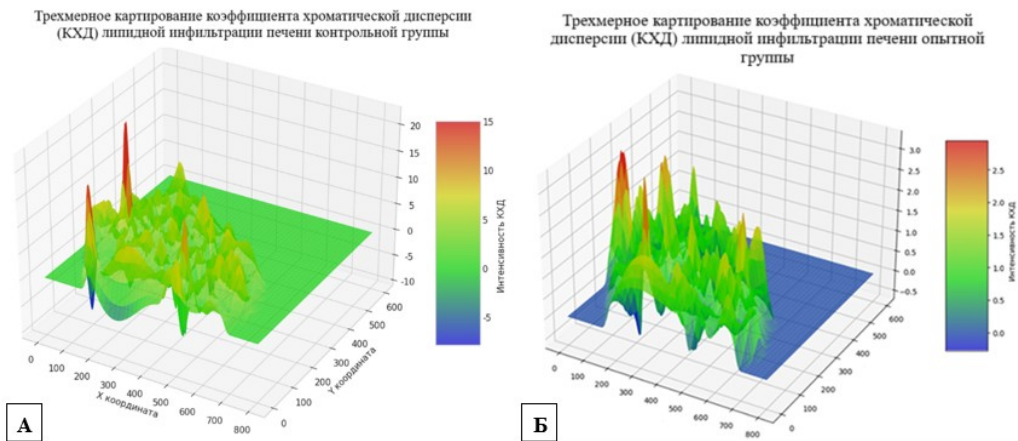


Рисунок 3 – Трехмерное картирование коэффициента хроматической дисперсии липидной инфильтрации печени карпа обыкновенного (*Cyprinus Carpio*). А - контрольной группы, Б - опытной группы

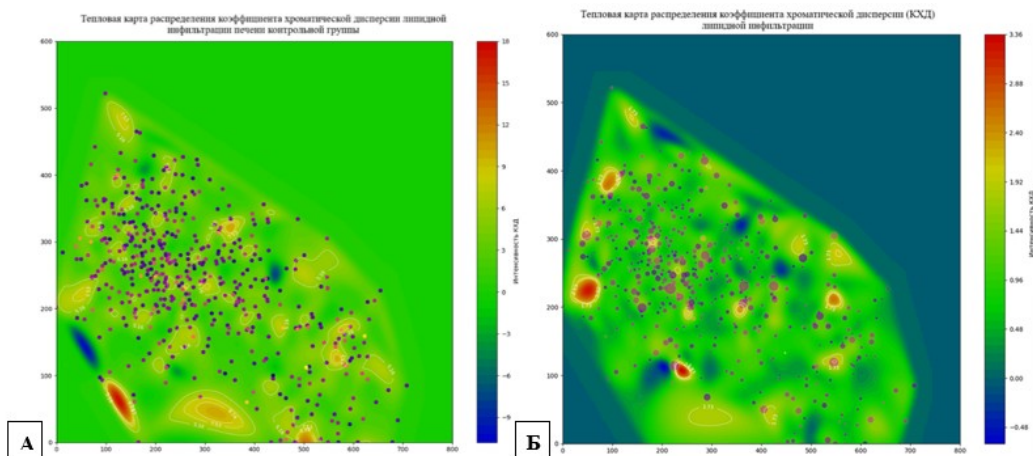


Рисунок 4 – Тепловая карта распределения коэффициента хроматической дисперсии липидной инфильтрации печени карпа обыкновенного (*Cyprinus carpio*). А - контрольной группы, Б - опытной группы

Представленная тепловая карта распределения коэффициента хроматической дисперсии липидной инфильтрации (рисунок 4 А, Б) дополняет и уточняет вышеописанные данные, предоставляя двумерную топографическую визуализацию патологического процесса. На рисунке 4 А тепловая карта контрольной группы демонстрирует относительно однородное распределение значений КХД с пре-

обладанием зеленого фона, желтые участки очагов повышенных значений немногочисленны, имеют небольшой размер и равномерно распределены по ткани, что соответствует нормальному физиологическому состоянию паренхимы.

На тепловой карте опытной группы отчетливо визуализируются очаги высокой интенсивности липидной инфильтрации, представленные красными зонами с

КХД 2.40-3.36, распределенные по всей паренхиме печени. Эти очаги соответствуют пикам на трехмерной карте и зонам наиболее интенсивного накопления жира, видимым на гистологических препаратах при окраске составным красителем из Судана III и шарлаха красного. Стоит отметить отдельные синие зоны с отрицательными значениями КХД, которые соответствуют участкам паренхимы с нормальной структурой или пониженной восприимчивостью к развитию жировой дистрофии. Наличие этих областей, не обнаруживавшихся при анализе только гистологических препаратов и средних количественных показателей, поэтому имеет особое значение для прогнозирования потенциала регенерации печени при устранении патогенных факторов.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Количественные показатели подтверждают, что объем жировых включений у опытной группы значительно превышает объем сохранившейся функционально активной паренхимы печени, что неизбежно приводит к нарушению функциональной активности органа. Такая степень поражения свидетельствует о серьезных метаболических нарушениях в печени карпа и может служить индикатором неблагоприятных условий содержания или заболевания рыб. Отсутствие значительных колебаний в соотношении жировых капель и паренхимы свидетельствует о хроническом течении патологического процесса, что может быть результатом продолжительного воздействия неблагоприятных факторов, таких как несбалансированное питание, токсическое воздействие или хронические инфекции. Методологический подход, включающий последовательную интеграцию классических гистологических методов с современными методами количественного анализа и пространственной визуализации, демонстрирует высокую эффективность в диагностике патологических изменений печени рыб и может быть рекомендован для внедрения в практику ветеринарных лабораторий, занимающихся проблемами здоровья гидробионтов.

ANALYSIS OF LIPID INFILTRATION PATTERNS IN MACROVESICULAR HEPATOPATHY IN COMMON CARP (CYPRINUS CARPIO)

Semenova E.V.* – graduate student, Junior researcher, Laboratory of Innovative Recombinant Proteomics. (ORCID 0000-0003-3675-5467);

All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy (ARVRIPP&T)

*elenasemyonova5@gmail.com

ABSTRACT

Macrovesicular steatosis is a common liver pathology of common carp (*Cyprinus carpio*). Detection and quantitative assessment of specific markers of macrovesicular transformation of liver tissue of common carp will allow to optimize methods of prevention and therapeutic correction of this pathology in conditions of intensive aquaculture, which is of significant economic importance for the fish farming industry. The aim of the work was to conduct a quantitative analysis of lipid infiltration patterns in macrovesicular steatosis in common carp (*Cyprinus Carpio*). The study used 20 common carp individuals weighing 800-900 g, grown at the JSC "Fish Nursery" in the Voronezh Region. To simulate the acute phase of inflammation, the aquatic organisms were divided into 2 groups: the control group (n=10) and the experimental group (n=10) contained in an aquatic environment with the addition of copper sulfate II ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) at a concentration of 60 mg/l in terms of the metal ion. Biological material from the studied individuals from each group (n=10) will be collected 56 hours after the start of the experiment. To confirm fatty degeneration, sections were made from the selected liver samples on a freezing microtome, which were stained with a composite dye of Sudan III and scarlet red to identify neutral fats in hepatocytes. All stained preparations were enclosed in a water-soluble glycerin-gelatin medium and also viewed under a light microscope. Quantitative analysis shows the predominance of fatty inclusions over the functional parenchyma of the liver, which

disrupts the functioning of the organ. A combined approach combining classical histological methods with modern quantitative analysis may be effective for diagnosing fish liver pathologies and is recommended for implementation in veterinary laboratories.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Семенова, Е. В. Об актуальности исследования патогенеза и профилактики гепатозов в аквакультуре Воронежской области / Е. В. Семенова // Инновационные тенденции развития Российской науки: Материалы XVII международной научно-практической конференции молодых ученых, Красноярск, 04–06 марта 2024 года. – Красноярск: Красноярский государственный аграрный университет, 2024. – С. 198–201. – EDN CMIJXW.
2. Maechler, M., Rousseeuw, P., Struyf, A., Hubert, M., Hornik, K. (2022). cluster: Cluster Analysis Basics and Extensions. R package version 2.1.4.
3. Eriegha O. J. Histopathology of Selected Economically Important Fish Species from the Escravos Estuary, Nigeria: A Baseline Study for Environmental Monitoring / Eriegha O. J. // International Journal of Innovative Studies in Aquatic Biology and Fisheries. - №9. – 2024. – P. 118.
4. Roh H. Overfeeding Overfeeding-Induced Obesity Could Cause Potential Immuno-Physiological Disorders in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) / H. Roh // Animals. - 2020. - №10. - P.1499.
5. Ван Дж., Ли К. Количественный анализ опухолей печени на разных стадиях с ис-

пользованием технологии микроскопической гиперспектральной визуализации // Журнал биомедицинской оптики. – 2018. – Т. 23. – No 10. – С. 106002-106002.

REFERENCES

1. Semenova, E. V. On the relevance of studying the pathogenesis and prevention of hepatosis in aquaculture in the Voronezh region / E. V. Semenova // Innovative trends in the development of Russian science: Proceedings of the XVII international scientific and practical conference of young scientists, Krasnoyarsk, March 4–6, 2024. – Krasnoyarsk: Krasnoyarsk State Agrarian University, 2024. – P. 198–201. – EDN CMIJXW.
2. Maechler, M., Rousseeuw, P., Struyf, A., Hubert, M., Hornik, K. (2022). cluster: Cluster Analysis Basics and Extensions. R package version 2.1.4.
3. Eriegha O. J. Histopathology of Selected Economically Important Fish Species from the Escravos Estuary, Nigeria: A Baseline Study for Environmental Monitoring / Eriegha O. J. // International Journal of Innovative Studies in Aquatic Biology and Fisheries. - №9. – 2024. – P. 118.
4. Roh H. Overfeeding Overfeeding-Induced Obesity Could Cause Potential Immuno-Physiological Disorders in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) / H. Roh // Animals. - 2020. - №10. - P.1499.
5. Wang J., Li K. Quantitative Analysis of Liver Tumors at Different Stages Using Microscopic Hyperspectral Imaging Technology // Journal of Biomedical Optics. – 2018. – Т. 23. – No. 10. – P. 106002-106002.