

УДК 597.541–18:504.5

М.П. Грушко, Н.Н. Федорова, А.А. Айтимова*

Астраханский государственный технический университет,
414056, г. Астрахань, ул. Татищева, 16

**ГИСТОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ СОСТОЯНИЯ ТКАНЕЙ
ВНУТРЕННИХ ОРГАНОВ СЕЛЬДИ-ЧЕРНОСПИНКИ
*ALOSA KESSLERI KESSLERI***

При гистологическом анализе во внутренних органах всех исследованных особей сельди-черноспинки обнаружен широкий спектр патологий, что, вероятно, обусловлено устойчивым загрязнением окружающей среды в результате хозяйственной деятельности человека. Обнаруженные патологии на тканевом и клеточном уровне характеризовались общими признаками, но разной степенью проявления: отеки, кровоизлияния, некрозы, воспаления, соединительнотканное разрастания, пролиферативные изменения эпителия. Наиболее чувствительными органами к воздействию факторов среды оказались жабры, печень, почка и кишечник.

Ключевые слова: сельдь-черноспинка, гистопатологическое исследование, печень, почки, кишечник, мышечная ткань, жабры, гонады, селезенка.

Grushko M.P., Fedorova N.N., Aitimova A.A. Histological analysis of state of tissues in internal organs of black-backed shad *Alosa kessleri kessleri* // *Izv. TINRO*. — 2017. — Vol. 188. — P. 155–161.

Internal organs of black-backed shad are examined by histological analysis. Wide range of pathologies is found, which are supposedly caused by chronic environmental pollution. The pathologies of tissue and cellular levels have common features but various symptoms, as edema, hemorrhage, necrosis, inflammation, connective tissue proliferation, proliferative changes in the epithelium. The gills, liver, kidney, and intestines are the most sensitive to negative impacts of environments.

Key words: black-backed shad, histopathological examination, liver, kidney, intestines, muscle, gills, gonad, spleen.

Введение

Для выяснения причин гибели водных объектов и изучения патогенеза их заболеваний используются разные методы исследования, в том числе и гистологический. Он позволяет на клеточно-тканевом уровне выяснить глубину патологического процесса у гидробионта и оценить уровень поражения уже на начальной стадии болезни, при хроническом ее течении или нарушениях обмена веществ, когда внешних проявлений ещё не наблюдается (Чернышова, 2009; Мельникова, 2015; Руднева, 2015).

Цель работы — гистологическое описание состояния тканей внутренних органов сельди-черноспинки *Alosa kessleri kessleri* и оценка степени проявления патологии в них.

* Грушко Мария Павловна, доктор биологических наук, профессор, e-mail: mgrushko@mail.ru; Федорова Надежда Николаевна, доктор медицинских наук, профессор, e-mail: fedorova37@mail.ru; Айтимова Алина Арслановна, магистр, e-mail: aitimova.alina@mail.ru.

Grushko Maria P., D.Sc., professor, e-mail: mgrushko@mail.ru; Fedorova Nadezhda N., D.Sc., professor, e-mail: fedorova37@mail.ru; Aitimova Alina A., student, e-mail: aitimova.alina@mail.ru.

Материалы и методы

Объектом исследования являлись половозрелые особи сельди-черноспинки *Alosa kessleri kessleri*, выловленные в р. Волге во время нерестового хода в 2014–2015 гг. Для анализа были отобраны кусочки печени, почек, селезенки, кишечника, жабр, гонад, скелетной и сердечной мышечных тканей сельди. Всего отобрано и проанализировано 400 сагиттальных и фронтальных гистологических срезов тканей органов от 25 шт. половозрелых особей сельди-черноспинки. Материал обрабатывался методами классической гистологии (Волкова, Елецкий, 1982). Ткани органов были фиксированы в жидкости Буэна. Материал заливали в парафин, делали срезы толщиной 4–5 мкм, гистологические срезы окрашивали гематоксилин-эозином. Микроскопирование фиксированных и окрашенных препаратов осуществлялось с помощью светового микроскопа «МИКРОМЕД-2» с применением иммерсии. Микрофото съемка срезов органов производилась при помощи фотонасадки SONI DSC-W7.

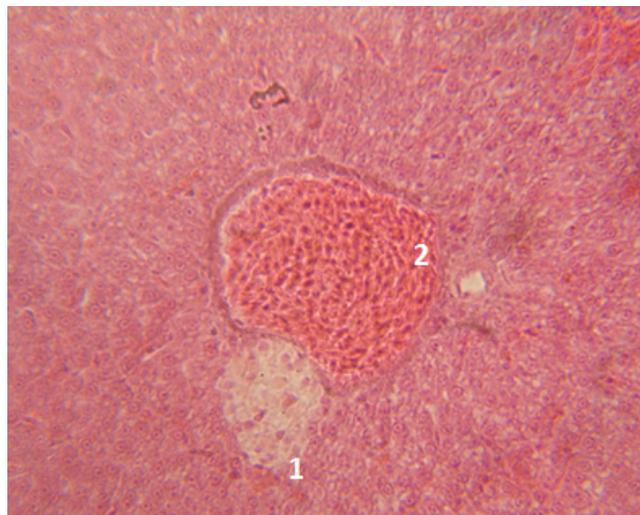
Гистопатологическое состояние органов рыб оценивали по пятибалльной системе (Аршаница, Стекольников, 2011): 1 — отсутствие патологоанатомических изменений, причиной которых могло быть токсическое воздействие; 2 — легкие повреждения органов рыб, не вызывающие смертельного исхода; 3 — повреждения средней тяжести, проявляющиеся как внешне, так и при вскрытии, но не угрожающие жизни рыб; 4 — наличие повреждений, носящих необратимый характер и угрожающих жизни рыб, особенно при воздействии стресс-факторов; 5 — признаки предсмертного состояния рыб, глубокие необратимые повреждения жизненно важных органов, агональное и коматозное состояние, нарушение координации движения и гидростатического равновесия, конвульсии, истощение, развитие анемии.

Для диагностики нарушений в репродуктивной системе рыб была использована классификация, предложенная Н.В. Акимовой и Г.И. Рубан (1996).

Результаты и их обсуждение

Гистопатологическое исследование внутренних органов сельди-черноспинки показало наличие в них изменений различной степени проявления.

Печень быстрее других органов реагирует на изменение условий внешней среды (Хлопова, Кульбачный, 2011; Федорова и др., 2015). При микроскопическом анализе печени сельди-черноспинки было выявлено, что балочная структура этого органа была нарушена. На срезе регистрировались участки ткани, подверженные некрозу, мелкие кровоизлияния, участки отложения гемосидерина. Было отмечено утолщение стенок сосудов печени за счет избыточной пролиферации соединительной ткани вокруг кровеносных сосудов. У всех особей обнаружена крупнокапельная жировая дистрофия гепатоцитов (рис. 1). У отдельных особей для 20 % гепатоцитов на срезе был характерен



кариорексис ядер, при этом они имели неправильную форму. У части особей регистрировалось разрыхление (диссоциация) ядрышек.

Рис. 1. Фрагмент печени (ОК 10 ОБ 40): 1 — скопление гранул гемосидерина; 2 — расширенный полнокровный сосуд

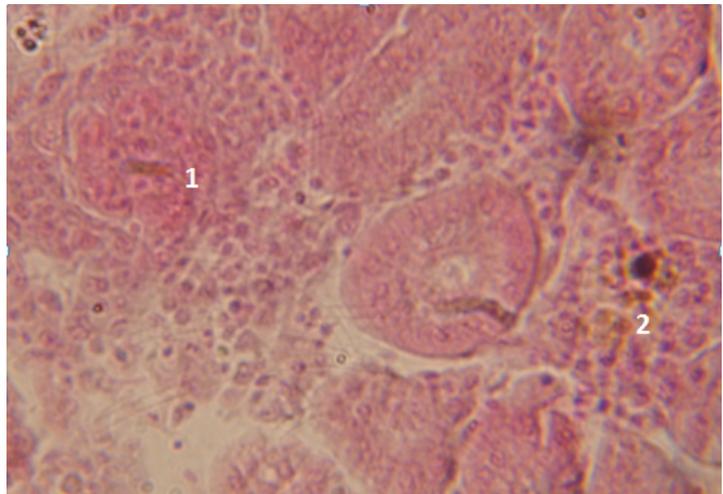
Fig. 1. Fragment of liver (OK 10 OB 40): 1 — accumulation of hemosiderin granules; 2 — advanced blooded vessel

На гистологических препаратах по частоте встречаемости патологий в структурных элементах печени преобладали изменения, связанные с кровоизлиянием, гемосидерозом и разрушением балочной структуры — по 90 %, пролиферацией соединительной ткани — 80 %, жировой дистрофией — 70 %. Согласно пятибалльной шкале гистопатологической оценки состояния органа для печени степень повреждения составляла 3–4 балла (Аршаница, Стекольников, 2011).

Почки выполняют несколько разных функций: регулируют водный обмен, количество и состав электролитов, поддерживают кислотно-щелочное, солевое равновесие в крови и тканевой жидкости (Brown et al., 2001). Общей чертой патологических нарушений в почках для исследованных особей сельди-черноспинки было наличие отека, некрозов, кровоизлияний, дистрофических изменений. Отмечено, что мелкие и крупные сосуды органа были значительно расширены и переполнены форменными элементами крови. Почечные тельца характеризовались отсутствием мочевого пространства из-за гиперцеллюлярности капилляров клубочков. Эпителий извитых канальцев почек был подвержен изменениям. Чаще всего на срезе встречались канальца, их эпителий характеризовался мутным набуханием. Вследствие этого границы клеток и их ядер четко не определялись (рис. 2). Часть эпителиальных пластов отслаивалась от базальных мембран, в некоторых случаях, кроме некроза эпителия, наблюдалось разрушение базальных мембран и участков соединительной ткани под ними.

Рис. 2. Фрагмент почки (ОК 10 ОБ 40): 1 — гиперцеллюлярность капилляров клубочков; 2 — скопление гранул гемосидерина

Fig. 2. Fragment of kidney (OK 10 OB 40): 1 — hypercellularity of glomerular capillaries; 2 — accumulation of hemosiderin granules



Из морфологических изменений в почках по частоте встречаемости у исследованных особей сельди на первом месте находился некроз (100 %), на втором — отёк (85 %), на третьем — кровоизлияния (70 %). Степень проявления патологий в почке составляла 3 балла.

Строма селезенки рыб не имела четкого разделения на корковое и мозговое вещество. Снаружи орган был покрыт тонкой соединительнотканной капсулой. Белая и красная пульпы четко не визуализировались. Строма органа была пронизана соединительнотканнными трабекулами. Сосуды органа переполнены форменными элементами крови. У части особей трабекулы были значительно утолщены. У этих же особей отмечено утолщение стенок крупных кровеносных сосудов, вследствие чего их просвет был сужен, иногда вообще отсутствовал. Среди клеток ретикулярной ткани находились элементы крови всех рядов на разных стадиях развития. На срезах отмечены участки скопления гемосидерина (рис. 3). У части особей на периферии органа обнаружено большое количество мелких кровоизлияний.

Характерными патологическими изменениями селезенки являлись нарушения кровообращения, которые проявлялись в виде многочисленных стазов сосудов, у части особей трабекулы были значительно утолщены за счет чрезмерной пролиферации соединительной ткани (рис. 3).

В итоге, среди морфологических особенностей структурных элементов селезенки, указывающих на протекание патологических процессов в организме исследуемых

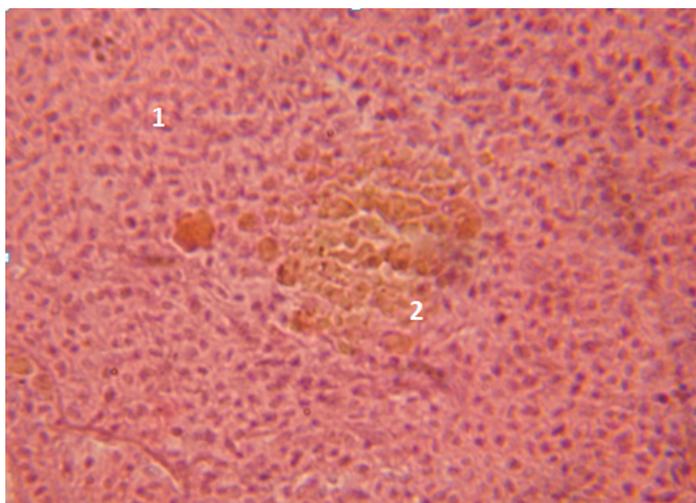


Рис. 3. Фрагмент селезенки (ОК 10 ОБ 40): 1 — строма селезенки; 2 — скопление гранул гемосидерина
 Fig. 3. Fragment of spleen (OK 10 OB 40): 1 — stroma; 2 — accumulation of hemosiderin granules

рыб, обнаружены следующие изменения: кровоизлияние и гемосидероз — 80 %, пролиферация соединительной ткани — 70 %, стаз сосудов — 60 %. Степень проявления патологий в селезенке соответствовала 2 баллам.

Изучение отделов пищеварительной системы показало, что изменения в основном связаны с нарушением микроциркуляции крови, при этом капилляры стромы кишечных ворсинок были расширены и заполнены форменными элементами крови. Кровеносные сосуды собственной пластинки значительно утолщены. В ней у всех особей регистрировались участки разрастания соединительной ткани — фиброз. Обнаружены признаки воспалительных процессов, проявившиеся в интенсивной инфильтрации оболочки лимфоцитами. Эпителиальная выстилка кишечных ворсинок имела участки, подверженные некротическим изменениям (рис. 4).

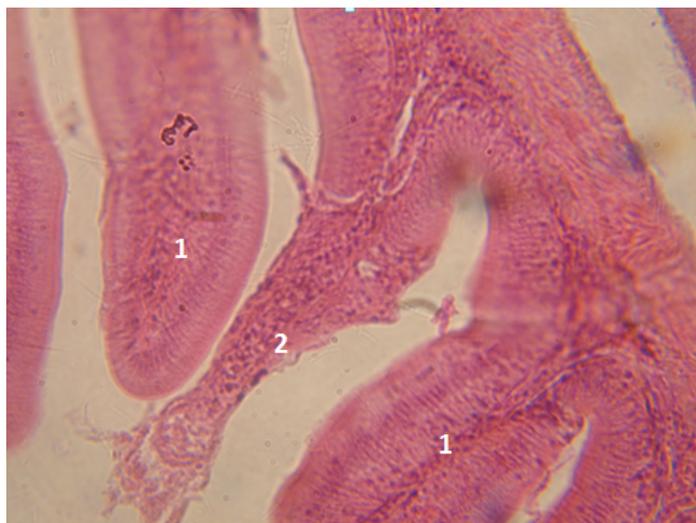


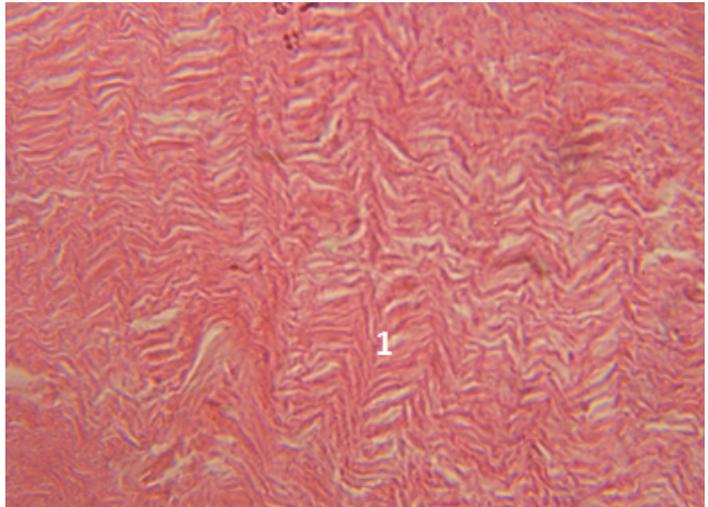
Рис. 4. Фрагмент кишечника (ОК 10 ОБ 40): 1 — кишечные ворсинки; 2 — десквамация эпителия ворсинки
 Fig. 4. Fragment of intestines (OK 10 OB 40): 1 — intestinal villi; 2 — desquamation of villus epithelium

Выявленные патологии на гистологических препаратах кишечника сельди-черноспинки имели следующую статистику морфологических изменений: фиброз — 100 %, воспаление и некроз — по 65 %. Согласно пятибалльной шкале оценки гистопатологических изменений для кишечника степень их проявления соответствовала 3 баллам.

Изменения в скелетной поперечно-полосатой мышечной ткани могут являться свидетельством нарушения регуляции метаболических процессов (Rao, 2000; Гулямов и др., 2015). Отмечено, что расстояния между мышечными волокнами значительно увеличены, регистрировались волокна, у которых поперечно-полосатая исчерченность едва проявлялась. Выявлены деформация и разрыхление мышечного волокна (рис. 5).

Рис. 5. Фрагмент поперечно-полосатой мышечной ткани (ОК 10 ОБ 40): 1 — деформация мышечных волокон

Fig. 5. Fragment of cross-striated muscle tissue (OC 10 OF 40): 1 — deformation of muscle fibers

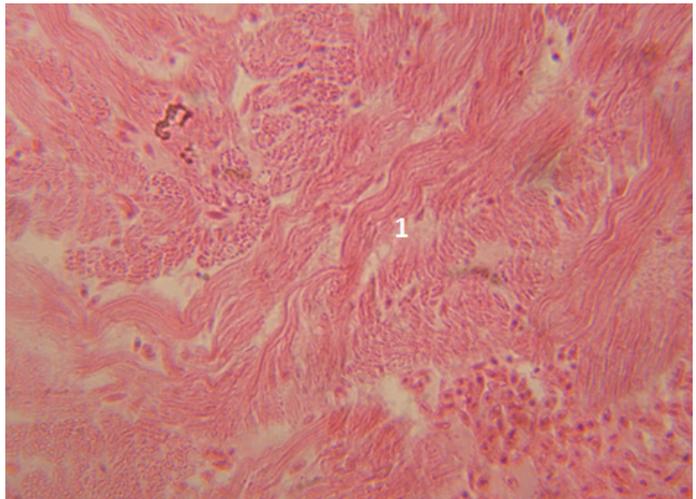


Протекающие патологические процессы в мышечной ткани исследуемых особей стали причиной следующих отклонений от нормы на гистологических препаратах: разрыхление мышечных волокон — 50 %, некроз и нарушения структуры мышечного волокна — 10 %.

При исследовании сердца были выявлены признаки отека миокарда, что проявлялось в виде увеличения расстояния между кардиомиоцитами и капиллярами. Также были отмечены небольшие участки кардиомиоцитов с исчезающей поперечной исчерченностью и очаговыми некробиотическими повреждениями клеток (рис. 6).

Рис. 6. Фрагмент сердца (ОК 10 ОБ 40): 1 — деформация кардиомиоцитов

Fig. 6. Fragment of heart (OC 10 OF 40): 1 — deformation of cardiomyocytes



Выяснилось, что на гистологических препаратах по частоте встречаемости наибольший показатель приходился на нарушения, связанные с отеком миокарда — 35 %, на втором месте была деформация волокон — 20 %, на третьем — нарушение поперечной исчерченности — 15 %. Все эти проявления ведут к ухудшению снабжения кардиомиоцитов кислородом (Повзун, 1994). Степень проявления патологий в поперечно-полосатой скелетной и сердечной мышечной ткани составляла по 2 балла.

Жабры очень быстро и чутко реагируют на изменения состояния окружающей среды, поскольку напрямую контактируют с водой. Исследование состояния жабр сельди показало, что у отдельных особей респираторный многослойный неороговевающий эпителий был сильно разросшимся, что особенно интенсивно проявлялось на концевых участках филламентов (рис. 7). Здесь были выявлены сплошные пласты эпителия и не просматривались жаберные ламеллы, форма и длина их были сильно видоизменены и варьировали. Ламеллы имели сильно вытянутую, изогнутую форму, а их окончания в результате разрастания респираторного эпителия приобретали вид

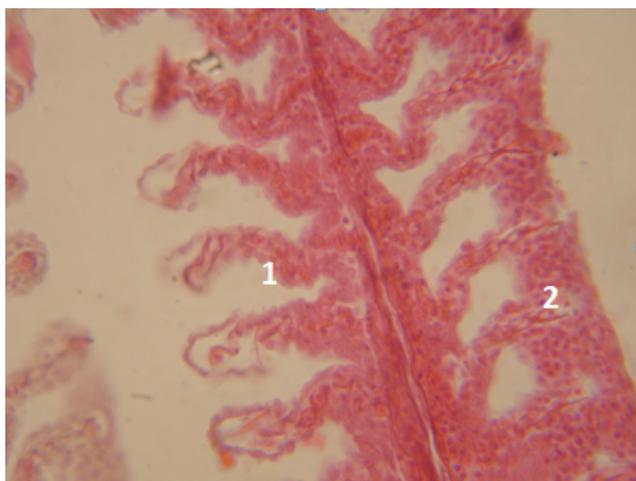


Рис. 7. Фрагмент жабр (ОК 10 ОБ 40): 1 — жаберные ламеллы; 2 — разрастание респираторного эпителия

Fig. 7. Fragment of gills (OK 10 OB 40): 1 — gill lamellae; 2 — expansion of respiratory epithelium

утолщений на барабанных палочках. Регистрировались участки, где респираторный эпителий, пролиферируя, заполнял межламеллярное пространство.

Капилляры ламелл у всех исследованных рыб были значительно расширены и заполнены форменными элементами крови. У части рыб в области респираторных ламелл был отмечен экссудат крови, при этом ламеллы сближены, респираторный эпителий на этих участках полностью разрушен. У отдельных особей на жаберных ламеллах регистрировались паразиты.

Выявленные патологические изменения жаберного аппарата сельдей могут являться следствием реакции организма на состояние окружающей среды, поскольку жаберный аппарат, возможно, находился в состоянии высокого функционального напряжения, вызванного загрязнением.

Результаты наших исследований показали, что по частоте встречаемости патологий в структурных элементах жабр наибольший показатель был характерен для пролифераций респираторного эпителия — 100 %, а наименьший — для кровоизлияний — 45 %. Оценка состояния органа свидетельствует, что степень повреждения соответствовала 4 баллам.

При анализе функционального состояния репродуктивной системы рыб большое значение придается выявлению отклонений от нормы. Нарушения в репродуктивных органах ведут к изменениям в процессе созревания половых продуктов, годичного полового цикла и нерестового поведения.

Особенностью строения семенников исследуемых рыб являлась неравномерность их развития. Выявлялись ацинусы, для которых была характерна III стадия зрелости. В сперматогенном эпителии выявлялись крупные клетки Сертоли неправильной формы, делящиеся сперматогонии, сперматоциты 1- и 2-го порядков, сперматиды и зрелые сперматозоиды, которые были видны в просвете канальцев. В ацинусах на IV стадии зрелости регистрировались сперматогонии и сперматозоиды, для ацинусов на V стадии зрелости было характерно наличие сперматозоидов. При этом основную часть органа составляли ацинусы, находящиеся на IV и V стадиях зрелости. Кроме этого, кровеносные сосуды органа были заметно расширены и заполнены форменными элементами крови, регистрировались участки скопления жировых клеток между семенными канальцами (рис. 8).

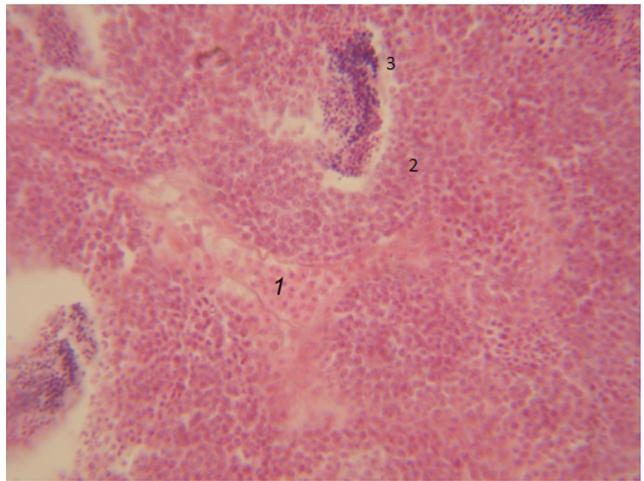
Изменения в морфологии гистологической структуры гонад, вызванные патологическими процессами в организме исследованных рыб, распределились по частоте встречаемости следующим образом: неравномерность развития органа — 90 %, стаз сосудов — 70 %, отложение жировой ткани — 20 %. Степень проявления патологий органа соответствовала 2 баллам.

Заключение

Таким образом, исследование внутренних органов сельди-черноспинки показало наличие патологий на тканевом и органном уровне, характеризующихся общими при-

Рис. 8. Фрагмент гонад (ОК 10 ОБ 40): 1 — кровеносные сосуды расширенные; 2 — ацинус семенника; 3 — зрелые сперматозоиды

Fig. 8. Fragment of gonad (OK 10 OB 40): 1 — expanded blood vessels; 2 — testicle acinus; 3 — mature spermatozoa



знаками, но разной степенью проявления у всех исследованных рыб. Это были отеки, кровоизлияния, некрозы, симптомы воспаления, фиброз, пролиферативные изменения эпителия. Наиболее высокая степень проявления патологий характерна для органа, непосредственно контактирующего с окружающей средой, — жабр (4 балла). На втором месте оказалась печень (3–4 балла), почки и кишечник имели меньшую степень проявления патологий (по 3 балла).

Список литературы

- Акимова Н.В., Рубан Г.И.** Систематизация нарушений воспроизводства осетровых (Acipenseridae) при антропогенном воздействии // *Вопр. ихтиол.* — 1996. — Т. 36, № 1. — С. 65–80.
- Аршаница Н.М., Стекольников А.А.** Диагностика токсикозов рыб и оценка среды их обитания // *Расшир. мат-лы 3-й междунар. конф.* — М.: РГАУ — МСХА им. К.А. Тимирязева, 2011. — С. 269–274.
- Волкова О.В., Елецкий Ю.К.** Основы гистологии с гистологической техникой: моногр. 20-е изд. — М.: Медицина, 1982. — 304 с.
- Гулямов С.С., Ибрагимов У.К., Золотова Н.Н., Ганиев А.К.** Морфологические изменения в мышечной ткани при различной степени контрактуры // *Вестн. Новосибир. гос. педагог. ун-та.* — 2015. — № 1(23). — С. 64–71.
- Мельникова М.С.** Гистопатологические методы в оценке состояния здоровья рыб при искусственном выращивании // *Проблемы патологии и охраны здоровья рыб и других гидробионтов: расшир. мат-лы 4-й междунар. конф.* — Ярославль: Филигрань, 2015. — С. 331–337.
- Повзун С.А.** Патологическая анатомия и патогенез инфекционно-воспалительного эндотоксикоза: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. — СПб., 1994. — 41 с.
- Руднева И.И.** Окислительный стресс и патологии рыб // *Проблемы патологии и охраны здоровья рыб и других гидробионтов: расшир. мат-лы 4-й междунар. конф.* — Ярославль: Филигрань, 2015. — С. 112–120.
- Федорова Н.Н., Беляков А.А., Грушко М.П., Каниева Н.А.** Изменения тканей и органов шемаи, выращиваемой в искусственных условиях // *Рыб. хоз-во.* — 2015. — № 1. — С. 97–100.
- Хлопова А.В., Кульбачный С.Е.** Оценка состояния внутренних органов некоторых видов чистиковых рыб из бассейнов рр. Амур и Тугур при помощи гистологического метода // *Биоиндикация в мониторинге пресноводных экосистем: сб. тез. докл. 2-й междунар. конф.* — СПб., 2011. — С. 182.
- Чернышова Н.Б.** Обоснование использования патогистологии в ихтиопатологии // *Проблемы ихтиопатологии в начале XXI века.* — СПб., 2009. — С. 214–218.
- Brown S.A., Brown C.A., Jacobs G. et al.** Effects of the angiotensin converting enzyme inhibitor benazepril in cats with induced renal insufficiency // *Am. J. Vet. Res.* — 2001. — Vol. 62, № 3. — P. 375–383.
- Rao G.N.** Oxidant Stress Stimulates Phosphorylation of eIF4E without an Effect on Global Protein Synthesis in Smooth Muscle Cells // *Journ. Biol. Chem.* — 2000. — № 275(22). — P. 16993–16999.

Поступила в редакцию 28.09.16 г.

Принята в печать 27.01.17 г.