

УДК 597.556.331.1–111

Д.Р. Светашева, М.П. Грушко*

Астраханский государственный технический университет,
414056, г. Астрахань, ул. Татищева, 16**ФОРМИРОВАНИЕ НЕКОТОРЫХ ОРГАНОВ КРОВЕТВОРЕНИЯ
ПРЕДЛИЧИНОК, ЛИЧИНОК И МАЛЬКОВ ЛЕЩА
ОБЫКНОВЕННОГО (*ABRAMIS BRAMA L.*)**

К числу органов кроветворения рыб относят селезенку, слизистую оболочку кишечника и печень. Установлено, что селезенка, печень и слизистая оболочка кишечника леща формируются с первых дней после вылупления из икринки. В селезенке признаки кроветворения в виде разрозненных молодых развивающихся кровяных элементов обнаруживаются на 1-е сутки после вылупления. В слизистой оболочке кишечника первые очаги кроветворения появляются на 19-е сутки жизненного цикла личинки. Полностью сформированные органы регистрируются к концу личиночного развития, на это же время приходится и наиболее интенсивный уровень кроветворения. При этом в этих органах происходит формирование клеток крови всех рядов кроветворения. Таким образом, селезенка и слизистая оболочка кишечника являются универсальными органами кроветворения. Печень леща обыкновенного закладывается на ранних стадиях развития, однако признаков активного гемопоэза не обнаруживает на всем протяжении личиночного и малькового периодов развития.

Ключевые слова: кроветворение, эритроциты, гранулоциты, агранулоциты, селезенка, печень, слизистая оболочка кишечника.

DOI: 10.26428/1606-9919-2019-199-122-128.

Svetasheva D.R., Grushko M.P. Forming of some organs of hematopoiesis in pre-larvae, larvae and fry of common bream (*Abramis brama L.*) // *Izv. TINRO.* — 2019. — Vol. 199. — P. 122–128.

Ability for hematopoiesis of spleen, intestinal mucosa, and liver is investigated for early ontogenesis of common bream *Abramis brama L.*, a species of bony fish widespread in the Russian waters, including Astrakhan region. The samples (24 ind.) were collected in the fish farm in Kamyzyaksky district of the region in middle May 2018, after hatching. Histological analysis was made by conventional methods. Both spleen, liver, and intestinal mucosa were formed in the first days after hatching. In the spleen, such signs of hematopoiesis as dispersed new developing blood particles were found just in the first day. In the intestinal mucosa, the first foci of hematopoiesis appeared in the nineteenth day. These organs were formed completely by the end of larval development, and the most intense level of hematopoiesis was observed in that time, with forming of blood cells of all rows of hematopoiesis. On the contrary, no signs of hematopoiesis were found in the liver throughout the larval and juvenile periods.

Key words: hematopoiesis, erythrocyte, granulocyte, agranulocyte, spleen, liver, intestinal mucosa.

* Светашева Диана Рафаиловна, соискатель, e-mail: svetashevadr@yandex.ru; Грушко Мария Павловна, доктор биологических наук, профессор, e-mail: mgrushko@mail.ru.

Svetasheva Diana R., post-graduate student, Astrakhan State Technical University, 16 Tatishcheva Str., Astrakhan, 414056, Russia, e-mail: svetashevadr@yandex.ru; Grushko Maria P., D.Biol., professor, Astrakhan State Technical University, 16 Tatishcheva Str., Astrakhan, 414056, Russia, e-mail: mgrushko@mail.ru.

Введение

Для рыб характерно наличие множества взаимозаменяемых органов кроветворения. К их числу относятся селезенка, слизистая кишечника и печень. Установлено, что гемопоэз у разных видов рыб имеет ряд особенностей [Грушко, 2010]. Кроветворение, как и целый ряд тканевых систем организма рыбы, реагирует на изменение внешних и внутренних факторов, к тому же тесно связано с обменом веществ. По литературным данным в эмбриональном, личиночном, мальковом периодах развития у всех костистых рыб изменения в кроветворении могут совпадать со сменой типа питания [Грушко, Федорова, 2008].

Развитие рыб от предличинки до малька представляет собой весьма сложный процесс. Известно, что у представителей класса рыб органы, выполняющие во взрослом организме функции пищеварения, также осуществляют функции кроветворения. Такими органами являются кишечник и печень. Однако печень в зависимости от принадлежности организма к тому или иному виду может оставаться органом, выполняющим множество функций, связанных с обменом веществ, но не связанных с кроветворением.

При развитии организма селезенка осуществляет множество жизненно важных функций, поэтому и гистогенез этого органа представляется весьма сложным. Известно, что в селезенке наиболее выражены кроветворные функции, но помимо формирования гематоцитов есть функции фагоцитоза и резорбции [Волкова, Елецкий, 1982].

Цель работы — описать формирование и функционирование органов, осуществляющих кроветворную, пищеварительную и другие функции в раннем онтогенезе на примере личинок и мальков леща обыкновенного, поэтапно изученных на разных стадиях развития.

Материалы и методы

Объектом исследования послужили личинки леща обыкновенного (*Abramis brama* L.) — вида костистых рыб, широко распространенного в водоемах России и довольно многочисленного в Астраханской области. Образцы для исследований были отобраны из нерестово-выростного хозяйства Камызякского района Астраханской области. В 2018 г. выклев мальков произошел в середине мая. Анализу были подвергнуты 24 особи, отобранные на различных стадиях развития после вылупления из икринки. Гистологический анализ проводили общепринятыми методиками [Волкова, Елецкий, 1982].

Результаты и их обсуждение

Проклюнувшиеся из икринки особи, не имеющие ротового отверстия и первое время питающиеся за счет желточного мешка, носят название предличинок. С переходом на активное питание в организме предличинок происходят заметные метаморфозы и они превращаются в личинок. Приход личинок в мальков происходит с формированием чешуйного покрова [Макеева, 1992].

У предличинок леща селезенка обнаруживается на ранних стадиях развития. На 1-е сутки после вылупления организма из икринки селезенка расположена позади пронефроса в каудальном направлении в петлях кишечника под зачатком мезонефроса. Формирующийся орган представляет собой небольшое овальное образование, состоящее из плотно расположенных мезенхимных клеток. На этой стадии среди мезенхимных клеток были отмечены единичные эритробласты.

На 19-е сутки развития, после перехода предличинки на активное питание, селезенка личинки значительно увеличивается в размерах. Снаружи орган покрыт тонкой соединительнотканной капсулой. Среди ретикулярных клеток присутствуют бластные клетки эритропоэтического ряда (53,4 %): эритробласты (35,4 %), пронормобласты (18,0 %); а также молодые гранулоциты, представленные миелобластами (36,2 %), появляются единичные клетки лимфоцитопоэтического (агранулопоэтического) ряда — лимфобласты (10,4 %) (табл. 1).

Таблица 1

Доля рядов кроветворения в селезенке на разных этапах развития предличинок, личинок и мальков леща (*Abramis brama* L.), %

Table 1

Relative performance of hematopoiesis in spleen at different stages of development for pre-larvae, larvae and fry of bream *Abramis brama* L., %

Ряд кроветворения	Возраст, сут						
	1	19	21	23	25	27	29
Эритроцитопоз	99,8 ± 0,2	53,4 ± 0,8	52,1 ± 0,5	52,2 ± 0,9	51,5 ± 0,6	48,0 ± 0,7	50,7 ± 0,9
Гранулоцитопоз		36,2 ± 0,4	35,8 ± 0,2	35,2 ± 0,6	40,2 ± 0,4	42,2 ± 0,6	40,0 ± 0,3
Агранулоцитопоз		10,4 ± 0,2	12,1 ± 0,7	12,6 ± 0,5	8,3 ± 0,5	9,8 ± 0,4	9,3 ± 0,3

На 21-й день развития леща обыкновенного в селезенке была заметна разветвленная сеть щелей, что можно считать «прообразом» формирующейся сосудистой системы органа [Волкова, Елецкий, 1982]. Мезенхимный ретикулум к этому возрасту заполнен дифференцирующимися гемопоэтическими и ретикулярными клетками. Строгой упорядоченности локализации формирующихся клеток не отмечено. В этот период выявлено эритроидное (52,1 %) и гранулоцитопозитическое кроветворение (35,8 %). Намного реже встречались клетки лимфоидного ряда (12,1 %). Среди формирующихся эритроцитов 9,7 % составляли эритробласты, 6,9 % пронормобласты, остальное количество приходилось на созревающие и зрелые клетки, среди которых наибольшее число полихроматофильных (14,4 %), базофильных (11,3 %) и оксифильных нормобластов (6,0 %), появлялись зрелые эритроциты (3,8 %). Среди лейкоцитов основная масса клеток приходилась на миелобласты (9,8 %), промиелоциты (6,0 %), миелоциты (9,0 %) и их производные в примерно одинаковом соотношении (3,8 %; 3,6 %). Из лимфоидных клеток были отмечены монобласты (6,8 %), лимфобласты (5,3 %). Наличие клеток лимфоидного ряда на ранних стадиях развития личинки указывает на формирование защитных функций формирующихся личинок, которые тесно контактируют с окружающей средой. На данном этапе развития наблюдается интенсивный карิโอпикноз эритроцитов [Zamzami, Kroemer, 1999] (табл. 1).

На 23-и сутки после вылупления леща селезенка продолжает расти пропорционально увеличению размера организма. Возрастает и разнообразие кровяных элементов, которые не образуют однородной картины и не имеют определенной локализации в органе. На данном этапе развития идет интенсивное кроветворение, увеличивается количество всех элементов крови (рис. 1, 2). Доминирующее положение занимает эритропоз (52,2 %), увеличивается число гранулоцитов (35,2 %), количество агранулоцитов практически не изменяется (12,6 %). При этом среди формирующихся красных клеток крови увеличивается количество всех генераций клеток: эритробласты составляют 11,0 %, проэритробласты — 7,0, базофильные нормобласты — 8,0, полихроматофильные нормобласты — 12,0, оксифильные нормобласты — 4,0 %, по сравнению с предыдущим этапом значительно увеличивается число зрелых эритроцитов — до 10,2 %. Доминирующее положение по-прежнему занимают полихроматофильные нормобласты. Среди гранулоцитов также наибольшее количество клеток представлено молодыми бластными клетками — миелобластами (16,6 %). На этой стадии появляются палочко- и сегментоядерные миелоциты в равном соотношении — по 1 %. Селезенка приобретает слабовыраженную дифференцировку на белую и красную пульпу, при этом участки белой и красной пульпы не имеют четкой границы. Участки белой пульпы занимают до 30 % селезенки личинки, красной — до 70 %. Выявлено, что клетки белой крови встречаются в красной пульпе, клетки красной крови — в белой, но количество их незначительно. Обнаружено большое количество клеток на разных стадиях митоза (рис. 2).

Стенки сосудов у личинки леща на 25-й день после вылупления сформированы в большей степени, т.е. четко прослеживается выстилающий сосуды эндотелий. Полость сосудов заполнена кроветворными элементами. По-прежнему четкой локализации формирующихся элементов крови не отмечено. Среди формирующихся клеток доминирует эритропоэтический ряд (51,5 %). Доля миелопоэза возросла до 40,2 %. Среди

Рис. 1. Фрагменты личинки леща (*Abramis brama* L.) на 23-е сутки после вылупления (ОК 10 ОБ 10): 1 — селезенка; 2 — кишечник; 3 — печень

Fig. 1. Fragments of bream *Abramis brama* L. larvae in 23rd day after hatching (OK 10 OB 10): 1 — spleen; 2 — intestine; 3 — liver

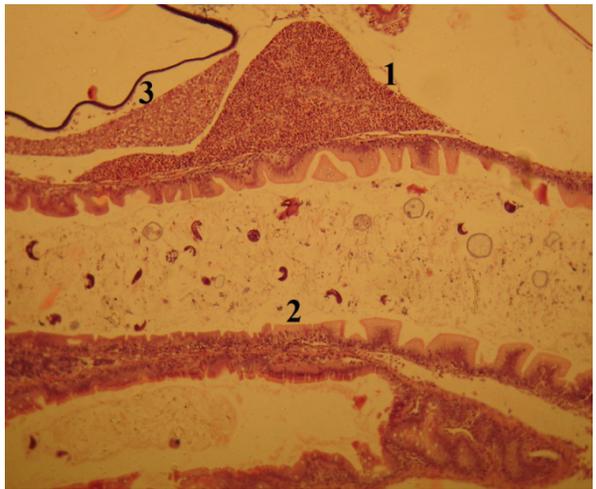
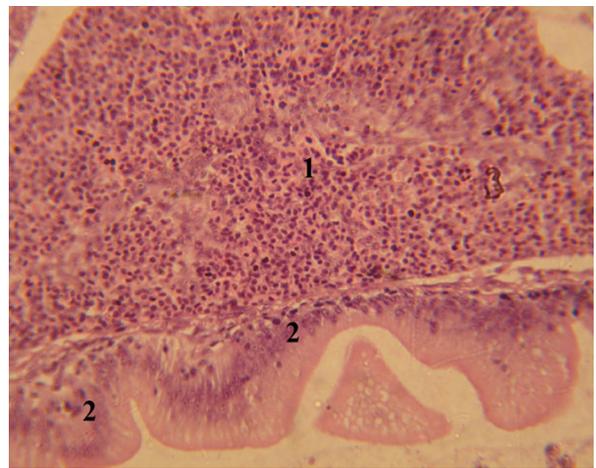


Рис. 2. Фрагменты личинки леща (*Abramis brama* L.) на 23-е сутки после вылупления (ОК 10 ОБ 40): 1 — эритропоэтические элементы селезенки; 2 — кроветворные узелки кишечника

Fig. 2. Fragments of bream *Abramis brama* L. larvae in 23rd day after hatching (OK 10 OB 40): 1 — erythropoietic elements of spleen; 2 — intestinal hematopoietic nodules



гранулоцитов основная масса клеток приходится на созревающие клетки: промиелоциты (12,0 %), миелоциты (11,0 %) и метамиелоциты (9,1 %), палочкоядерные (1,2 %) и сегментоядерные миелоциты (0,9 %). Основная масса клеток этого ряда относится к нейтрофилам — до 96 %, эозинофилы и базофильные гранулоциты встречаются крайне редко. Доля формирующихся лимфоидных клеток снизилась по сравнению с другими рядами кроветворения до 8,3 %. В состав клеток агранулоцитопоэтического ряда входят монобласты (4,0 %) и лимфобласты (4,3 %), зрелых форм белой крови не обнаружено. Состав клеток эритропоэтического ряда незначительно изменился по сравнению с предыдущей стадией развития за счет увеличения содержания зрелых эритроцитов (табл. 1).

Развиваясь и увеличиваясь в размерах, селезенка к 27-му дню несколько перемещается в каудальном направлении. Сформировавшийся орган имеет неправильную вытянутую форму, плотно прилегает к печени и кишечнику. На гистологическом срезе органа выявляется разветвленная сеть сосудов, белая и красная пульпа прослеживается нечетко. Соотношение белой и красной пульпы: белая пульпа — 70 ± 10 %; красная пульпа — 30 ± 10 %. На более поздней стадии развития на срезах регистрируются гемопоэтические островки, которые располагаются хаотично в строме органа. Эритропоэз составляет 48,0 %, гранулоцитопоз — 42,2, агранулоцитопоз — 9,8 %. Лимфоидные клетки располагаются мелкими, диффузно распределенными группами. Монобласты составляют 4,9 %, лимфобласты — 3,9 %, на данной стадии появляются пролимфоциты — 1,0 %. Среди клеток гранулоцитопоэтического ряда обнаруживаются миелобласты — 10,8 %, промиелоциты — 13,4, миелоциты — 12,6, метамиелоциты — 3,7,

палочко- и сегментоядерные миелоциты — по 0,8 %. Эритробласты составляют 8,5 %, пронормобласты — до 2,4, базофильные нормобласты — 6,3, полихроматофильные нормобласты — 15,8, оксифильные нормобласты — 5,2, дефинитивные эритроциты — 9,8 %. Численное преобладание формирующихся клеток эритропоэтического ряда объясняется созреванием клеток в русле крови (табл. 1, рис. 1).

На 29-й день при переходе от личиночной стадии к мальку можно отметить, что селезенка — полностью сформированный орган. Прослеживаются более четкие границы между белой и красной пульпой, соотношение которых к этому этапу не меняется. Эритроцитопоз составляет 50,7 %, гранулоцитопоз — 40,0 %, агранулоцитопоз — 9,3 %. Четко выражена плотная структура селезенки, также встречаются кровеносные сосуды. Соотношение гемопоэтических элементов не меняется.

На 19-е сутки развития личинок леща в слабо развитой собственной пластинке слизистой оболочки кишечника регистрировались редкие гемопоэтические узелки, состоящие в основном из бластных клеток белой крови.

При этом наибольшее количество узелков располагалось в заднем нисходящем отделе кишечника. Гемопоэтические узелки были представлены немногочисленными клетками грануло-, агранулоцитопоэтических рядов, а также в меньшей степени здесь встречались клетки эритропоэтического ряда. Клетки крови были расположены диффузно. Выявлялись гемоцитобласты — унипотентные клетки (предшественники всех кроветворных элементов), которые составили до 4,8 %. Наиболее многочисленной группой клеток явились гранулоциты (62,4 %), их бластные формы составили 34,3 %. Производные миелобластов — промиелоциты — составили 17,7 %, миелоциты — 7,3, метамиелоциты — 3,1 %. Клетки агранулоцитопоэтического ряда (14,4 %) представлены только молодыми формами: лимфобласты — 12,5 %. Монобласты составили 1,6 %. Наблюдались клетки эритроцитопоэтического ряда: эритробласты составили до 8,3 %, пронормобласты — 5,2 %, базофильные нормобласты — 3,0 %, полихроматофильные нормобласты 2,2 % (табл. 2).

Таблица 2

Доля гемопоэтических элементов в кишечнике на разных этапах развития предличинки, личинок и мальков леща (*Abramis brama* L.), %

Table 2

Relative performance of hematopoiesis in intestine at different stages of development for pre-larvae, larvae and fry of bream *Abramis brama* L., %

Ряд кроветворения	Возраст, сут					
	19	21	23	25	27	29
Гемоцитобласты	4,80 ± 0,10	1,0 ± 0,20	0,10 ± 0,10	1,0 ± 0,20	1,0 ± 0,20	1,0 ± 0,20
Эритроцитопоз	18,70 ± 0,81	16,80 ± 0,66	14,70 ± 0,53	13,11 ± 0,53	12,90 ± 0,47	12,90 ± 0,89
Гранулоцитопоз	62,40 ± 0,72	50,0 ± 0,59	43,60 ± 0,61	37,70 ± 0,62	37,40 ± 0,58	37,40 ± 0,76
Агранулоцитопоз	14,10 ± 0,82	32,15 ± 0,53	41,40 ± 0,54	46,70 ± 0,67	47,50 ± 0,44	47,50 ± 0,81

На 21-й день после вылупления личинки в кишечнике по-прежнему наиболее активно гемопоэз происходит в нисходящей части кишечника. При этом состав узелков представлен теми же рядами клеток. Наиболее многочисленной группой клеток явились гранулоциты (50,0 %), клетки агранулоцитопоэтического ряда были менее многочисленны (32,15 %), клеток эритроцитопоэтического ряда насчитывалось до 16,80 %. Клетки гранулоцитопоэтического ряда были представлены миелобластами до 16,0 %, их производные — промиелоциты — составили 13,4 %, миелоциты — 10,7, метамиелоциты — 4,5 %. Появились палочкоядерные миелоциты, которые составляли до 5,4 %. В число клеток агранулоцитопоэтического ряда входили лимфобласты — 18,90 %, появились и их производные пролимфоциты, которые составляли 6,25 %. Монобласты составили 7 %. Наблюдались клетки эритроцитопоэтического ряда (16,8 %): эритробласты составили до 7,1 %, пронормобласты — 9,7 % (табл. 2).

На 23-й день после вылупления личинки в стенке кишечника заметно увеличивается количество гемопоэтических узелков, состав которых представлен в основном

дифференцирующимися элементами грануло- и агранулоцитопоэтического ряда (рис. 1, 2). На данной стадии развития наиболее многочисленными оказались клетки гранулоцитопоэтического ряда (43,6 %), агранулоциты составили вторую по численности группу клеток (41,4 %); удельная масса клеток эритроцитопоэтического ряда снизилась до 14,7 %. Клетки гранулоцитопоэтического ряда были представлены миелобластами — до 9,3 %, промиелоциты составили 12,5 %, миелоциты — 18,7, метамиелоциты — 2,1, палочкоядерные миелоциты — до 1,0 %. В число клеток агранулоцитопоэтического ряда входили лимфобласты — 24,8 % — и их производные пролимфоциты — 12,5 %. Монобласты составили 1 %. Наблюдались клетки эритроцитопоэтического ряда: эритробласты составили до 3,1 %, пронормобласты — 5,3, базофильные нормобласты — 2,2, полихроматофильные нормобласты — 3,4 %. Таким образом, на данной стадии развития увеличивается количество клеток агранулоцитопоэтического ряда (табл. 2).

По истечении 25 сут с момента вылупления кишечник личинки увеличивается в размерах. На данной стадии развития в гемопоэтических узелках кишечника продолжает уменьшаться количество клеток эритроцитопоэтического ряда — до 13,11 %. Количество клеток крови, отнесенных к гранулоцитопоэтическому ряду, — 37,7 %. Клетки агранулоцитопоэтического ряда составляют 46,7 %. В их число входят: лимфобласты — 15,3 %, их производные пролимфоциты — 12,7 %. Монобласты составляют 8,8 %, появляются более зрелые формы клеток — промоноциты — 9,9 %. Клетки гранулоцитопоэтического ряда представлены миелобластами — до 7,9 %, промиелоциты составляют 11,9 %, миелоциты — 9,6, метамиелоциты — 8,3, палочкоядерные миелоциты — до 4,2 %. Среди клеток эритроцитопоэтического ряда наблюдаются эритробласты — до 7,4 %, пронормобласты — 4,6 %, базофильные нормобласты составляют 1,4 %, полихроматофильные и оксифильные эритроциты — по 3,0 %, отмечены зрелые эритроциты — до 2,8 % (табл. 2).

На 27- и 29-е сутки после вылупления состав гемопоэтических узелков кишечника личинок мало изменяется по сравнению с предыдущей стадией развития. Возрастает количество клеток гранулоцитопоэтического ряда.

Печень у предличинки леща закладывается в первые сутки после вылупления. Однако признаков кроветворения в печени не обнаруживается на протяжении всего периода развития, включая предличиночную, личиночную и мальковую стадии. Отмечено наличие редких единичных кроветворных элементов, располагающихся хаотично.

Выводы

Несмотря на довольно раннее возникновение первых очагов кроветворения в селезенке, максимум ее активности, следовательно, и большее значение как органа кроветворения у личинки леща обыкновенного происходит на 25-е сутки. К концу личиночного периода развития рыб селезенка представляет собой универсальный орган кроветворения, где осуществляются эритропоэз, гранулоцитопоэз и лимфопоэз.

Гемопоэтическую функцию кишечник начинает выполнять на 19-е сутки после вылупления леща вместе с переходом на активное питание. Формирование кишечника личинки леща обыкновенного завершается к 25-м суткам после вылупления личинки. В этот период он является органом грануло-, агранулоцитопоэза и в меньшей степени эритроцитопоэза.

У личинок и мальков леща печень не выполняет интенсивной кроветворной функции.

Благодарности

Авторы выражают благодарность д-ру биол. наук профессору В.Н. Иванкову за ценные замечания, которые были учтены при подготовке настоящей рукописи к печати.

Соблюдение этических стандартов

Все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы ухода и использования животных были соблюдены.

Финансирование работы

Исследование не имело спонсорской поддержки.

Информация о вкладе авторов

Концепция исследования, написание статьи — М.П. Грушко; сбор, обработка материала, статистическая обработка полученных данных — Д.Р. Светашева; обсуждение полученных результатов и доработка статьи — оба автора.

Список литературы

Волкова О.В., Елецкий Ю.К. Основы гистологии с гистологической техникой : учеб. — М. : Медицина, 1982. — 304 с.

Грушко М.П. Морфофизиологические особенности кроветворения у костистых рыб (на примере воблы (*Rutilus rutilus Caspicus*)) // Вопр. рыб-ва. — 2010. — Т. 11, № 2(42). — С. 327–340.

Грушко М.П., Федорова Н.Н. Структурная и функциональная организация органов гемопоэза костистых рыб (на примере воблы) // Вестн. АГТУ. — 2008. — № 3(44). — С. 61–64.

Макеева А.П. Эмбриология рыб : моногр. — М. : МГУ, 1992. — 216 с.

Zamzami N., Kroemer G. Condensed matter in cell death // Nature. — 1999. — Vol. 401(6749). — P. 127–128. DOI: 10.1038/43591.

References

Volkova, O.V. and Eletskiy, Yu.K., Osnovy gistologii s gistologicheskoy tekhnikoy (Fundamentals of histology with histological techniques), Moscow: Meditsina, 1982.

Grushko, M.P., Morpho-physiological of feature hemopoietic at bony of fishes (on an example vobla (*Rutilus rutilus Caspicus*)), *Vopr. Rybolov.*, 2010, vol. 11, no. 2(42), pp. 327–340.

Grushko, M.P. and Fedorova, N.N., Structural and functional organization of some organs of hemopoiesis of bony fishes (by the example of vobla), *Vestnik Astrakh. Gos. Tekh. Univ.*, 2008, no. 3(44), pp. 61–64.

Makeeva, A.P., *Embriologiya ryb* (Fish Embryology), Moscow: Mosk. Gos. Univ., 1992.

Zamzami, N. and Kroemer, G., Condensed matter in cell death, *Nature*, 1999, vol. 401(6749), pp. 127–128. doi 10.1038/43591

Поступила в редакцию 2.07.2019 г.

После доработки 30.08.2019 г.

Принята к публикации 29.10.2019 г.