

УДК 599.745.3:591.8

В.В. Володина¹, М.П. Грушко², Н.Н. Федорова^{2*}¹ Каспийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства,
414056, г. Астрахань, ул. Савушкина, 1;² Астраханский государственный технический университет,
414056, г. Астрахань, ул. Татищева, 16

**ОЦЕНКА СТЕПЕНИ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ
ПАРЕНХИМАТОЗНЫХ ОРГАНОВ ЭМБРИОНОВ
КАСПИЙСКОГО ТЮЛЕНЯ (*PHOCA CASPICA*)
В СОВРЕМЕННЫХ УСЛОВИЯХ ЭКОСИСТЕМЫ КАСПИЯ**

Неблагоприятные изменения, происходящие в организме матери под влиянием болезни и вредных факторов извне, отражаются на здоровье плода. Для оценки качества среды обитания и физиологического состояния каспийского тюленя гистологическими методами были проанализированы паренхиматозные органы эмбрионов нерпы. Результаты исследования свидетельствуют о тенденции активного замещения ткани во всех исследованных органах соединительной тканью. Наиболее глубокие гистопатологические нарушения зарегистрированы в почках и печени эмбрионов. Выявленные патологические изменения в паренхиматозных органах обследованных плодов каспийского тюленя свидетельствуют о неудовлетворительном их состоянии вследствие патологических нарушений материнского организма, возникших в том числе под воздействием на него неблагоприятных условий среды обитания.

Ключевые слова: эмбрионы, каспийский тюлень, экосистема, паренхиматозные органы, патологические изменения, физиологическое состояние, негативное влияние.

Volodina V.V., Grushko M.P., Fedorova N.N. Evaluation of rate of pathological changes in parenchymal organs for embryo of caspian seal *Phoca caspica* in modern conditions of the ecosystem in the Caspian Sea // Izv. TINRO. — 2014. — Vol. 178. — P. 191–198.

Pathological changes of the caspian seal fetus caused by negative processes in the mother's organism under influence of disease and harmful environments are investigated. For that, parenchymal organs of the fetus are examined by histological methods. Active replacement of the fetus' tissues by conjunctive tissue is detected in all organs, the most profound abnormalities are registered in the kidney and liver.

Key words: embryo, caspian seal, ecosystem, parenchymatous organ, pathological change, physiological condition, negative environmental impact.

Введение

Материнский организм является для развивающегося организма внешней средой, от качества которой полностью зависит его здоровье. Неблагоприятные изменения,

* Володина Виктория Викторовна, научный сотрудник, e-mail: Vo-Vik5@yandex.ru; Грушко Мария Павловна, доктор биологических наук, профессор, e-mail: mgrushko@mail.ru; Федорова Надежда Николаевна, доктор медицинских наук, профессор, e-mail: mgrushko@mail.ru.

Volodina Victoria V., researcher, e-mail: Vo-Vik5@yandex.ru; Grushko Maria P., D.Sc., professor, e-mail: mgrushko@mail.ru; Fedorova Nadezhda N., D.Sc., professor, e-mail: mgrushko@mail.ru.

происходящие в организме матери под влиянием болезни и вредных факторов извне, отражаются на состоянии плода (Брисуловский, 1991). В связи с тем что мать и внутриутробный плод находятся в симбиотических отношениях, у плода можно ожидать возникновения различных реактивных отклонений в развитии внутренних органов в ответ на изменения в материнском организме (Барсукова, 2008). Нарушения, возникающие у плода, как правило, приводят к снижению качества потомства и, как следствие, к сокращению величины пополнения популяции (Шапкайтц, 2001). Информация о состоянии здоровья водных животных очень важна для оценки экологической ситуации в акваториях, подвергнутых техногенному воздействию (Лисицкая, 2003).

Цель нашей работы — изучение физиологического состояния эмбрионов каспийского тюленя на основе гистологического анализа его паренхиматозных органов.

Материалы и методы

Сбор биологического материала осуществляли во время проведения научно-исследовательских экспедиций на предзимние залежки зверя в конце октября — начале ноября 2011–2012 гг. Образцы тканей паренхиматозных органов (печени, почек, селезенки, желудка, тонкого и толстого кишечника, поджелудочной железы), а также кусочки ключицы (красного костного мозга) 15 экз. 7,5–8,0-месячных плодов фиксировали в растворе Буэна. Материал обрабатывался по общепринятым в гистологии методикам (Волкова, Елецкий, 1982; Инструкции по сбору ..., 2011*). Пробы заливали в парафин, срезы изготовляли на микротоме. Гистологические срезы окрашивали гематоксилин-эозином и по методу Маллори.

Диагностику и оценку степени патологических изменений в органах и тканях эмбрионов осуществляли в соответствии с методикой Л.А. Лесникова и И.Д. Чинаревой (1987).

Результаты и их обсуждение

Гистологическое исследование **печени** плодов тюленя показало, что дольчатая структура органа на 7–8-м месяце внутриутробного развития эмбриона не выявлялась. Отмечена очень густая внутриорганный сосудистая сеть, капсула органа была тонкой. Печеночные балки состояли из рядов гепатоцитов, размеры которых варьировали от $(18,44 \pm 1,84) \times (20,29 \pm 3,69)$ мкм до $(30,43 \pm 2,77) \times (38,73 \pm 5,53)$, в среднем составляя $(23,52 \pm 0,80) \times (30,44 \pm 1,60)$ мкм. Балки были отделены друг от друга синусоидными капиллярами, вокруг которых выявлялись небольшие скопления кроветворных клеток, что свидетельствует о том, что в этом возрасте у эмбриона идет интенсивный процесс кроветворения в печени.

Кроме этого, в строме органа выявлялись мелкие многочисленные кровоизлияния, частота встречаемости и размеры которых увеличивались от периферии органа к центру.

Гепатоциты характеризовались разноразмерностью ядер — от $(6,09 \pm 2,21) \times (8,12 \pm 1,76)$ до $(11,74 \pm 2,50) \times (21,40 \pm 5,94)$ мкм. Средний размер ядра гепатоцитов составлял $(9,32 \pm 0,59) \times (12,73 \pm 0,96)$ мкм. Цитоплазма 50 % клеток печени содержала крупную каплю жира, при этом свободная от жировой капли часть цитоплазмы клеток имела неравномерную структуру.

У части особей все гепатоциты были подвержены жировой дистрофии (в клетках были видны несколько жировых капель) (рис. 1).

Также выявлялись некротизированные гепатоциты. Сосуды были расширены и заполнены плазмой. У некоторых эмбрионов вокруг органа была отмечена мощная соединительнотканная оболочка, а также значительные разрастания соединительной ткани вокруг кровеносных сосудов.

В целом у всех исследованных эмбрионов были отмечены дистрофические повреждения гепатоцитов и структурные нарушения, связанные со склеротическими

* Инструкции по сбору и первичной обработке материалов водных биоресурсов Каспийского бассейна и среды их обитания. Астрахань: КаспНИРХ, 2011. 193 с.

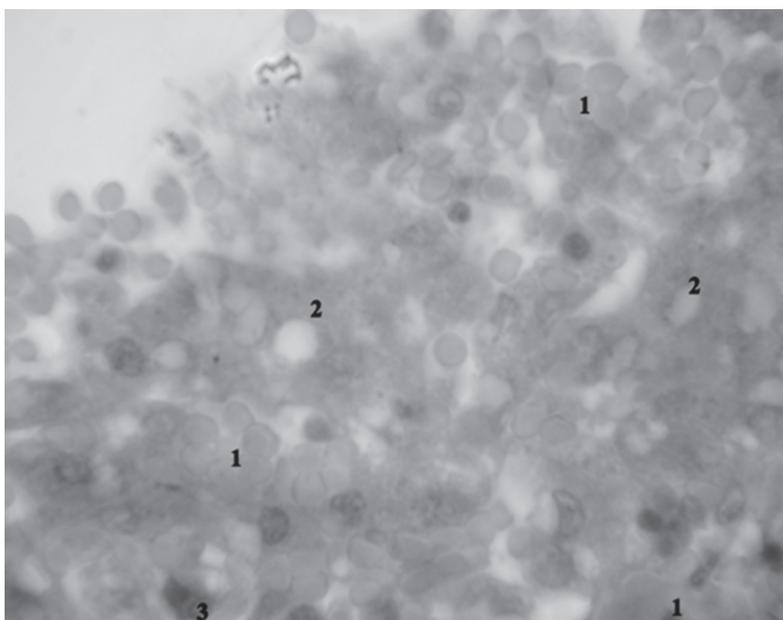


Рис. 1. Печень эмбрионов каспийского тюленя. ОК₁₀ ОБ₄₀ (гематоксилин-эозин): 1 — скопление эритроцитов; 2 — гепатоциты, подверженные жировой дистрофии

Fig. 1. Liver of the caspian seal embryo. ОК₁₀ ON₄₀ (hematoxylin-eosin): 1 — erythrocytes; 2 — hepatocytes subjected to fatty dystrophy

изменениями стенок сосудов. Патогистологическое состояние печени исследованных плодов каспийского тюленя соответствовало 4 баллам.

Выявленные изменения, как правило, обусловлены хроническим токсическим воздействием поллютантов, поступающих в организм извне (Володина и др., 2014).

Почка плодов тюленя имела дольчатое строение, каждая долька была отделена соединительнотканной капсулой. Внутри органа достаточно хорошо выражена соединительная ткань, особенно под капсулой и около кровеносных сосудов. Нефроны имели все составные элементы с типичными морфологическими характеристиками. В некоторых клубочках имелось пока еще небольшое количество капиллярных петель. Размер клубочков варьировал от $(71,24 \pm 6,81) \times (109,98 \pm 4,37)$ мкм до $(90,26 \pm 6,92) \times (129,34 \pm 7,39)$, в среднем составляя $(95,67 \pm 5,44) \times (107,23 \pm 4,33)$ мкм. Сразу под капсулой находились формирующиеся почечные тельца, количество которых уменьшалось вглубь органа. Эти клубочки состояли из недифференцированных эпителиальных клеток и кровеносных капилляров.

У плодов имелись канальца всех типов — проксимальные, дистальные и собирающие трубочки.

В строме органа зафиксированы мелкие кровоизлияния.

Отмечалась гиперемия капилляров клубочков, в связи с чем мочевое пространство было резко сужено. Наряду с почечными тельцами, у которых петли капилляров полностью заполняли мочевое пространство, были отмечены почечные тельца со спавшимися капиллярными петлями и расширенным мочевым пространством (рис. 2). Толщина мочевое пространства варьировала в среднем от $3,30 \pm 0,77$ до $18,85 \pm 3,66$ мкм.

Просветы почечных канальцев были сужены и заполнены белковым содержимым. Для цитоплазмы эпителиальных клеток канальцев была характерна дистрофия. Высота эпителиальных клеток канальцев варьировала в широких пределах — от $5,18 \pm 1,10$ до $10,20 \pm 1,59$ мкм. Ядра эпителиальных клеток канальцев характеризовались разноразмерностью.

Были отмечены канальца с некротизированными эпителиальными клетками и канальца, у которых наблюдалось отслоение эпителиального пласта от базальных мембран (десквамация).

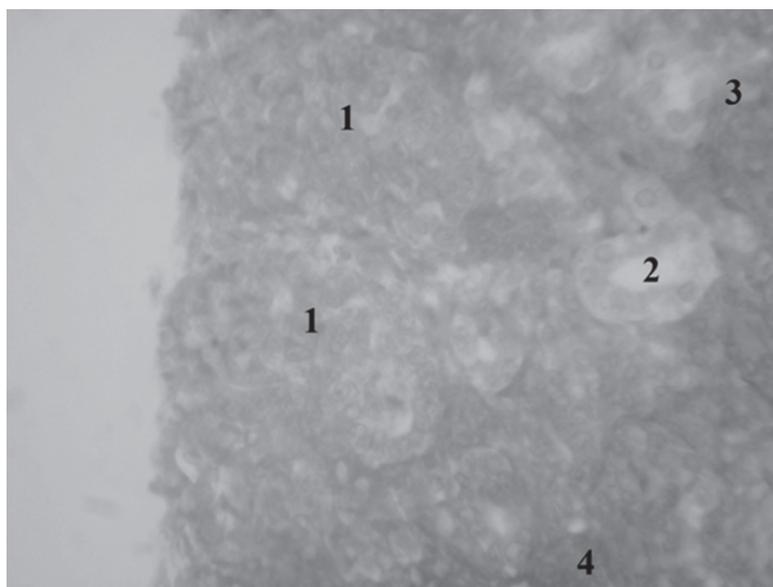


Рис. 2. Почка эмбриона каспийского тюленя. ОК₁₀ ОБ₄₀ (окраска по Маллори): 1 — почечные тельца без мочевого пространства; 2 — почечный каналец; 3 — некроз эпителия извитых канальцев; 4 — кровоизлияние

Fig. 2. Kidney of the caspian seal embryo. ОК₁₀ ON₄₀ (coloring by Malory): 1 — renal corpuscles without urine; 2 — renal tubule; 3 — epithelium necrosis of convoluted tubules; 4 — hemorrhage

В целом у проанализированных эмбрионов каспийского тюленя в почке были выявлены повреждения, проявлявшиеся в виде нарушений микроциркуляции крови, гломерулярного и тубулярного аппарата, что согласно шкале оценки патогистологического материала позволило оценить состояние этого органа у всех особей в 3 балла.

Патологические изменения в почках млекопитающих обычно обусловлены процессами напряжения метаболизма, физиологической отягощенностью при лактации, воздействием токсикантов (Ежкова, 2006).

У исследованных плодов тюленя в **желудке** четко выявлялись все оболочки. Стенка желудка эмбрионов была представлена всеми 4 оболочками: слизистой, подслизистой основой, мышечной и наружной серозной. Слизистая оболочка была покрыта однослойным цилиндрическим эпителием, который вдавался на разную глубину в собственную пластинку слизистой оболочки, образуя желудочные ямки. Желудочные валики напоминали кишечные ворсинки.

Эпителий, выстилающий желудочные ямки, — однослойный столбчатый. На всем своем протяжении поверхность покровного эпителия была покрыта слизистым экссудатом, железистые клетки были гипертрофированы и плохо дифференцировались. Выявлялись участки с разрушенным поверхностным эпителием. Эпителиальные клетки желудочных ямок характеризовались разноразмерностью. В них часто встречались митозы. На некоторых небольших участках эпителиального пласта было заметно отслоение железистых клеток от базальных мембран (рис. 3).

В собственной пластинке слизистой оболочки выявлены лимфоидные узелки. Между собственной пластинкой слизистой оболочки и подслизистой основой расположена очень тонкая мышечная пластинка слизистой оболочки — это продольно и поперечно расположенные слои гладкомышечных клеток. Снаружи желудок покрывала тонкая серозная оболочка. Были отмечены кровоизлияния в подслизистой основе, мелкие кровоизлияния в собственной пластинке слизистой оболочки.

Таким образом, в желудке обследованных эмбрионов каспийского тюленя зарегистрированы следующие патологические изменения: гипертрофия железистых клеток, разрушение поверхностного эпителия, кровоизлияния в подслизистой основе и в собственной пластинке слизистой оболочки. Выявленные морфофункциональные



Рис. 3. Слизистая оболочка желудка эмбриона каспийского тюленя. ОК₁₀ ОБ₄₀ (окраска по Маллори): 1 — клетки эпителия; 2 — слизистые клетки; 3 — отслоение эпителия желез от базальной мембраны

Fig. 3. Stomach mucosa of the caspian seal embryo, ОК₁₀ ON₄₀ (coloring by Mallory): 1 — skin cells; 2 — mucosal cells; 3 — gland epithelium peeling from basal membrane

нарушения в желудке обследованных особей позволили оценить патогистологическое состояние этого органа в 2,5 балла.

Исследование **тонкого кишечника** показало, что на верхушках эпителиальных клеток кишечных ворсинок было отмечено отсутствие каемки, выявлена гиперплазия бокаловидных клеток, регистрировались мелкие эрозии и кровоизлияния. Кишечные ворсинки имели разную длину, толщину и форму. Концевые отделы кишечных ворсинок имели измененную форму.

Сосуды подслизистой основы были расширены, заполнены плазмой и форменными элементами крови.

В целом исследование тонкого кишечника плодов каспийской нерпы указало на следующие гистопатологические нарушения: гиперплазия бокаловидных клеток, эрозии и кровоизлияния, разноразмерность и изменение формы кишечных ворсинок, геморагии в подслизистой основе, что позволяет оценить морфопатологическое состояние обследованного органа в 3 балла.

В **толстом** кишечнике плодов тюленя кишечные железы были короткими, в их стенках имелось значительное количество гипертрофированных бокаловидных клеток. Часть цилиндрических каемчатых клеток была некротизирована. Поверхность эпителия была покрыта слоем слизи. Отмечена дистрофия цитоплазмы эпителиоцитов кишки, которая сочеталась с десквамацией и гиперсекрецией желез (рис. 4). На поверхности слизистой оболочки были видны скопления слизистого экссудата. Отмечены участки отслоения эпителия желез от базальной мембраны.

Артериолы кишечных желез были расширены, выявлялись мелкие кровоизлияния. Выявлены кровоизлияния в собственной пластинке кишечных крипт с выходом форменных элементов крови на поверхность эпителия. Сосуды подслизистой основы также были расширены и заполнены плазмой крови. В подслизистой основе выявлялись незначительного размера лимфоидные узелки.

Гипертрофия бокаловидных клеток, некроз и дистрофия эпителия, десквамация и гиперсекреция желез, мелкие кровоизлияния в собственной пластинке кишечных крипт свидетельствуют об отклонении в гистопатологическом развитии толстого кишечника, степень нарушения соответствовала 3 баллам.

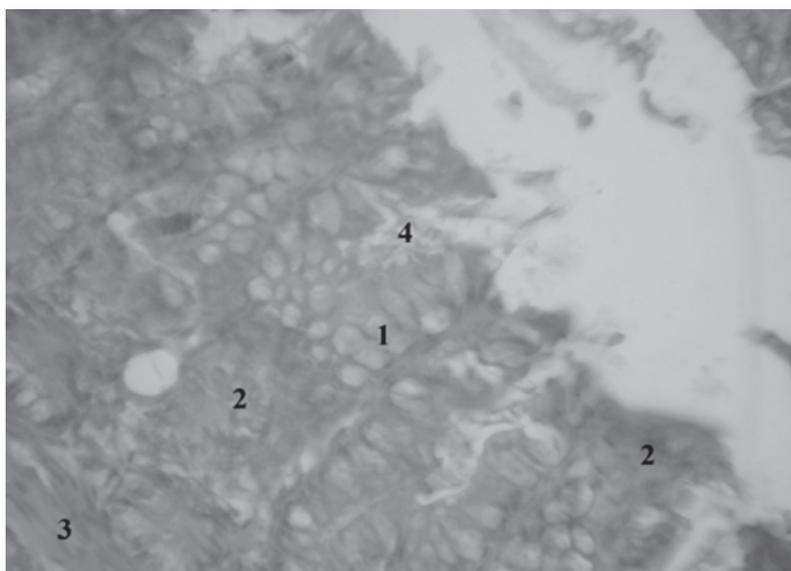


Рис. 4. Толстый кишечник эмбриона каспийского тюленя. ОК₁₀ ОБ₄₀ (гематоксилин-эозин): 1 — эпителий; 2 — некроз эпителия кишечных крипт; 3 — мышечная пластинка; 4 — слизистый экссудат

Fig. 4. Large intestine of the caspian seal embryo, ОК₁₀ ОБ₄₀ (hematoxylin-eosin): 1 — epithelium; 2 — epithelium necrosis of intestinal crypts; 3 — muscle lamina; 4 — mucous exudate

Общая тенденция пищеварительной системы эмбрионов такова: недостаточно развиты складки слизистой, ворсинки, мышечная оболочка и лимфоидный аппарат.

В селезенке плода тюленя конца 7-го — начала 8-го месяца развития стали различимы красная и белая пульпа. Довольно крупные лимфоидные скопления (белая пульпа) были как округлой, так и неправильной формы. Отмечены участки красной пульпы с признаками воспаления, которые в основном были сосредоточены на периферии органа. Трабекулы представлены мощными соединительнотканными разрастаниями, они образовывали «скелет» органа (рис. 5). В трабекулах имелись редкие гладкомышечные клетки, располагающиеся между соединительнотканными волокнами. Клетки лимфоидного ряда группировались вокруг артериол. Скопления локализовались в основном на периферии органа. Центры размножения не определялись, артериолы располагались эксцентрично. Вблизи от венозных синусов находились кроветворные элементы эритроидного, гранулопоэтического и тромбоцитопоэтического рядов.

Именно в белой пульпе выявлялись небольшие некротизированные участки. Кроме этого, стенки многих внутриорганных сосудов были утолщены за счет разрастания соединительной ткани, в связи с чем их просвет был или сильно сужен, или вовсе не прослеживался.

Таким образом, в селезенке исследованных эмбрионов тюленя выявлено: нарушение кровоснабжения, снижение площади белой пульпы, разрушение эритроцитов, пролиферация соединительной ткани, что позволяет оценить гистопатологическое состояние этого органа в 3 балла.

Следует отметить, что лимфоцитарное истощение селезенки, сопровождающееся пролиферацией ретикулоэндотелиальных клеток и увеличением эритрофагии, а в некоторых случаях и некрозом клеток, наблюдается при воздействии токсикантов, даже в небольших концентрациях (Федорова и др., 2005).

У эмбрионов 7 месяцев четко проявлялось дольчатое строение **поджелудочной железы**. Дольки были разделены тонкими прослойками соединительной ткани. В структуре железы четко выявлялись как экзокринные, так и эндокринные компоненты. Ацинарные клетки имели пирамидальную форму. Их цитоплазма была эозинофильной, имелось четкое зональное подразделение: в базальной части клеток располагалось ядро,

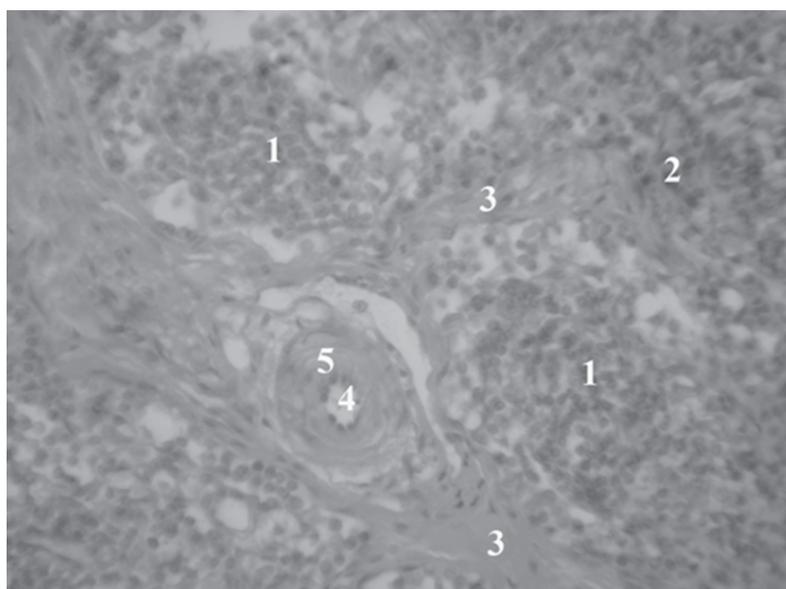


Рис. 5. Селезенка эмбриона каспийского тюленя. ОК₁₀ ОБ₄₀ (гематоксилин-эозин): 1 — белая пульпа; 2 — кровоизлияние; 3 — соединительнотканые трабекулы; 4 — полость сосуда; 5 — утолщенная соединительнотканная стенка сосуда

Fig. 5. Spleen of the Caspian seal embryo, ОК₁₀ ON₄₀ (hematoxylin-eosin): 1 — white pulp; 2 — hemorrhage; 3 — trabeculae of conjunctive tissue; 4 — cavity of vessel; 5 — thickened wall of the vessel formed by conjunctive tissue

в апикальной — находились ацидофильные гранулы. Внутриорганные протоки были выстланы однослойным кубическим эпителием. Островковый аппарат поджелудочной железы был представлен достаточно большим количеством островков. Встречались островки как довольно значительных размеров $((58,10 \pm 9,41) \times (202,66 \pm 46,90)$ мкм), так и небольшие неправильной формы. У отдельных эмбрионов островки Лангерганса регистрировались редко, были очень мелкими $((34,58 \pm 7,38) \times (158,05 \pm 44,49)$ мкм) и неправильной формы. В среднем размер островков Соболева-Лангерганса у обследованных эмбрионов каспийской нерпы — $(80,79 \pm 18,19) \times (115,33 \pm 20,16)$ мкм.

Сосуды органа были расширены и заполнены плазмой. У отдельных особей были отмечены мелкие кровоизлияния как в межацинарном пространстве, так и в островках. В целом основная масса изменений была связана с расстройством кровообращения этого органа, проявляющимся в виде геморрагий как в эндокринной, так и в экзокринной части органа, средний балл патогистологического состояния поджелудочной железы соответствовал 2 баллам.

Гистологическое исследование красного костного мозга тюленя в эмбриональный период показало, что в полости ключицы, которая с внутренней стороны состояла еще из хрящевых клеток, выявлялась кроветворная ткань. В отличие от взрослых особей желтый костный мозг не регистрировался. В густой сети ретикулярных клеток были обнаружены развивающиеся форменные элементы крови всех рядов. Соотношение гранулоцитов и эритроцитов составляло 1 : 2, лимфоцитов, эритроцитов и гранулоцитов — 15 : 40 : 20.

Таким образом, исследование красного костного мозга эмбрионов тюленей указало на нарушение функциональной деятельности этого органа.

Заключение

Результаты гистопатологических исследований 7–8-месячных эмбрионов каспийского тюленя выявили неудовлетворительное состояние их паренхиматозных органов. У всех обследованных особей отмечена тенденция активного замещения тканей исследованных органов соединительной тканью. Наиболее глубокие патологические

изменения зарегистрированы в почках и печени (по 4 балла), выполняющих в этот период у эмбрионов определенную функциональную нагрузку. Известно, что система плацентарного барьера не способна противостоять вредным токсинам, поступающим в организм плода от матери, по-видимому, выявленные нарушения обусловлены действием загрязняющих веществ, негативно влияющих на организм самок каспийской нерпы. Таким образом, выявленные патологические изменения в паренхиматозных органах обследованных плодов каспийского тюленя свидетельствуют о неблагоприятном их состоянии вследствие патологических изменений материнского организма различной этиологии, в том числе в результате неблагоприятных воздействий среды обитания на беременных самок *P. caspica*.

Список литературы

- Барсукова Н.И.** Морфологическая характеристика эпителиальных клеток печени эмбрионов и плодов человека в норме и при воздействии на материнский организм факторов шинного производства : автореф. дис. ... канд. мед. наук. — Барнаул, 2008. — 19 с.
- Брисуловский А.И.** Жизнь до рождения : монография. — М. : Знание, 1991. 224 с.
- Волкова О.В., Елецкий Ю.К.** Основы гистологической техники : монография. — М. : Медицина, 1982. — 304 с.
- Володина В.В., Грушко М.П., Федорова Н.Н.** Анализ гистологического строения паренхиматозных органов каспийского тюленя // Актуальные вопросы ветеринарной биологии. — 2014. — № 1(21). — С. 74–81.
- Ежкова А.М.** Биогеоценоз системы «почва-растение-животное» в различных техногенных зонах Республики Татарстан и корреляция ее местными бентонитами : автореф. дис. ... д-ра биол. наук. — Казань, 2006. — 50 с.
- Лесников Л.А., Чинарева И.Д.** Патогистологический анализ состояния рыб при полевых и экспериментальных токсикологических исследованиях // Тез. докл. 1-го Всесоюз. симпоз. по методам ихтиотоксикологических исследований. — Л., 1987. — С. 81–82.
- Лисицкая И.А.** Бактериальные сообщества воды и рыбы дельты Волги и шельфа Северного Каспия : автореф. дис. ... канд. биол. наук. — Астрахань, 2003. — 23 с.
- Федорова Н.Н., Ложниченко О.В., Коляда М.Н. и др.** Влияние соединений олова и тетрафенилпорфирина на морфологию селезенки крыс // Вестн. АГТУ. — 2005. — № 3(26). — С. 222–227.
- Шапкайтц В.А.** Медико-социальные, клинические и организационные проблемы формирования здоровья детей в перинатальном периоде жизни : автореф. дис. ... д-ра мед. наук. — СПб., 2001. — 44 с.

Поступила в редакцию 29.05.14 г.