

DOI: 10.24143/2073-5529-2017-3-113-121
УДК 597.554.4-143.6/.146.1:597-18

А. В. Пирог, О. В. Ложниченко

РАЗВИТИЕ КРОВИ КАК ТКАНИ В РАННЕМ ОНТОГЕНЕЗЕ КЛАРИЕВЫХ СОМОВ (*CLARIAS GARIEPIUS*)

Исследовалось развитие клеток крови и органов кроветворения клариевых сомов (*Clarias gariepius*), выращенных в установках замкнутого водоснабжения на базе ООО «РЭНТОП-Агро-5» в Краснодарском крае. Материал для исследования (предличинки и личинки в возрасте 5, 10, 15 и 25 суток активного питания) был отобран в весенне-летний период 2013–2014 гг. У предличинок в мезенхиме формирующегося мезонефроса, который начинает развиваться после выклева, между формирующимися везикулами имелись родоначальные клетки-предшественницы и бластные клетки крови. Происходила дифференцировка клеток эритропоэтического ряда – имелись эритробласты, пронормобласты и базофильные нормобласты. Накопление гемоглобина в эритроцитах указывает на то, что с первого дня выклева кровь начинает выполнять транспортную функцию – перенос кислорода. Зачаток тимуса был отмечен у личинок в возрасте 10 суток. В этом органе происходило развитие клеток лимфоцитопозитического ряда. Центральный кроветворный орган – селезенка – впервые отмечается в виде мезенхимного зачатка в возрасте 10 суток. У личинок клариевых сомов развитие стромы органа еще не закончено. Активно происходят процессы развития ретикулярной ткани. Отдельные лимфоидные скопления в структуре селезенки отмечены не были. Меланомacroфагальные центры также остаются несформированными. Качественный анализ кроветворения показал, что в селезенке происходит развитие всех клеточных рядов – эритропоэза, гранулопоэза и агранулопоэза.

Ключевые слова: предличинки, пронормобласты, базофильные нормобласты, бластные клетки, эритропоэтический ряд, тимус.

Введение

В последние годы в Краснодарском крае африканский клариевый сом (*Clarias gariepius*), благодаря своим биологическим особенностям, становится все более популярным и перспективным объектом аквакультуры [1, 2]. В связи с этим актуальны и исследования раннего онтогенеза этого вида в условиях аквакультуры, что объясняется низкой устойчивостью организма в этот период. В настоящее время вопросы морфо- и гистогенеза органов кроветворной системы остаются малоизученными, хотя именно в раннем онтогенезе от своевременной дифференцировки развивающихся клеток крови, качественного состава крови, закономерностей гистогенеза кроветворных органов зависит становление иммунитета в целом. Кровь вместе с лимфой и межклеточной жидкостью составляют внутреннюю среду организма, в которой функционируют клетки, ткани и органы, выполняющие определенные функции [3]. Кроветворение у рыб специфично. В связи с отсутствием красного костного мозга функцию гемопоэза выполняют почки, сердце, жабры, селезенка, скопления лимфоидной ткани [4, 5]. В ходе эмбрионального гемопоэза происходит развитие основных клеток крови [6].

Целью работы являлось исследование развития форменных элементов крови и особенностей становления кроветворной системы клариевого сома в целом в ранние периоды жизни.

Материалы и методы исследования

Объектами исследования служили предличинки и личинки в возрасте 5–25 суток активного питания. Материал, отобранный в весенне-летний период 2013–2014 гг. на базе ООО «РЭНТОП-Агро-5» в Краснодарском крае, обрабатывался методами классической гистологии [7]. Для изучения строения органов и тканей парафиновые блоки нарезали на стандартном микротоме сагиттально. Серии срезов толщиной 4–5 микрон окрашивали гематоксилин-эозином. Просмотр и фотографирование срезов осуществляли при помощи микроскопа Микмед-6 с цифровой камерой для визуализации и компьютерного анализа.

Обсуждение результатов исследования

Изучение процесса кроветворения показало, что после выклева у предличинок в мезенхиме формирующегося мезонефроса имелись родоначальные клетки крови: гемогистобласты – 7,4 %, гемоцитобласты – 5,3 % (рис. 1).

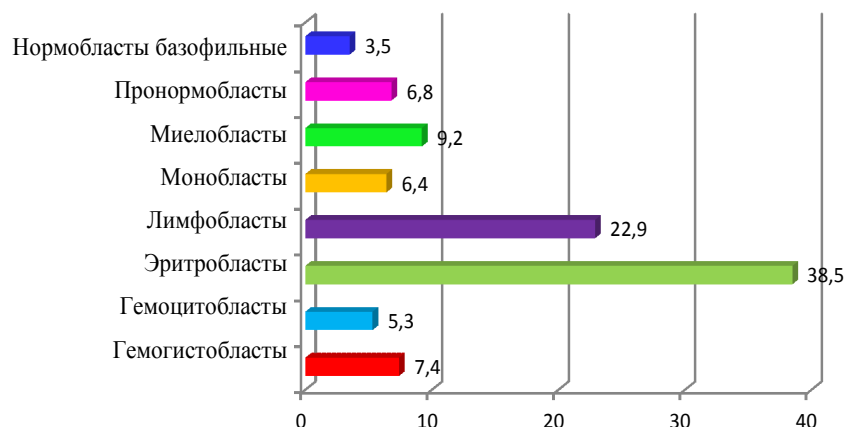


Рис. 1. Качественный состав клеток в мезонефросе предличинок клариевого сома после выклева, %

Среди развивающихся форменных элементов основу составляли клетки эритропоэтического ряда: эритробласты – 38,5 %, пронормобласты – 6,8 %, базофильные нормобласты – 3,5 %. Несколько меньше было бластных клеток лейкоцитов: лимфобласты – 22,9 %, миелобласты – 9,2 %, монобласты – 6,4 %.

В возрасте 5 суток на внутренней стороне жаберной крышки был выявлен мезенхимный зачаток тимуса. Однако формирующийся мезонефрос оставался единственным органом, где происходили процессы кроветворения. Качественный анализ межканальцевой ткани почек показал, что количество полустволовых и унипотентных клеток с возрастом осталось неизменным: гемогистобластов было 6,3 %, гемоцитобластов – 5,7 % (рис. 2).

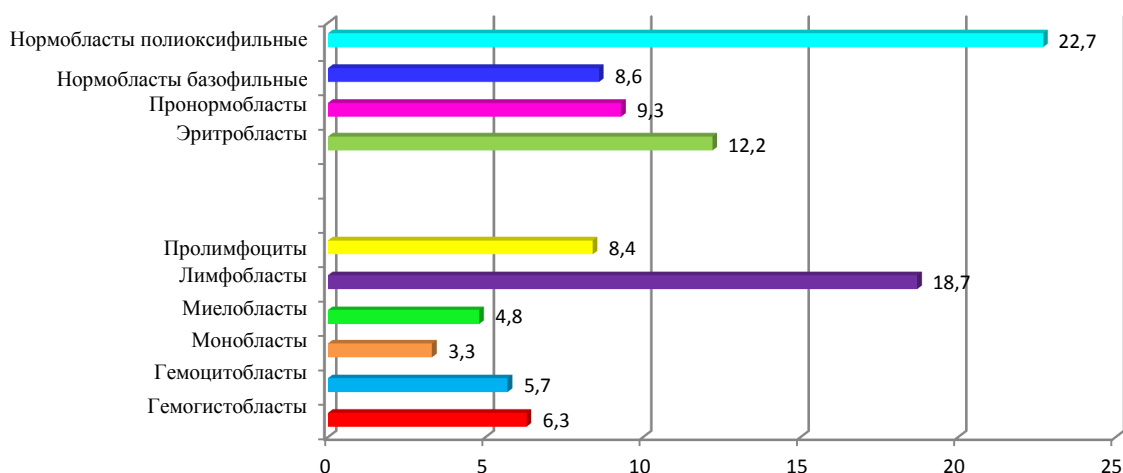


Рис. 2. Качественный состав клеток крови в мезонефросе предличинок клариевого сома, %: 5 суток после выклева

В IV классе бластных клеток в 3 раза снизилась доля эритробластов – 12,2 %, в 2 раза сократилось число миелобластов – 4,8 % и монобластов – 3,3 %, количество лимфоцитов снизилось незначительно – 18,7 %. В V созревающем классе клетки эритропоэтического ряда продолжили развиваться: были отмечены нормобласты полихроматофильные – 22,7 %, количество

нормобластов базофильных возросло в 2 раза и составило 8,6 %, доля пронормобластов увеличилась незначительно – 9,3 %. Продолжили созревать клетки лимфоцитопоэтического ряда, встречались пролимфоциты в количестве 8,4 %.

В возрасте 10 суток после выклева в мезонефросе личинок клариевого сома активно происходили процессы кроветворения. Полустволовые и унипотентные клетки встречались крайне редко – 1,5 и 2,2 % соответственно (рис. 3).

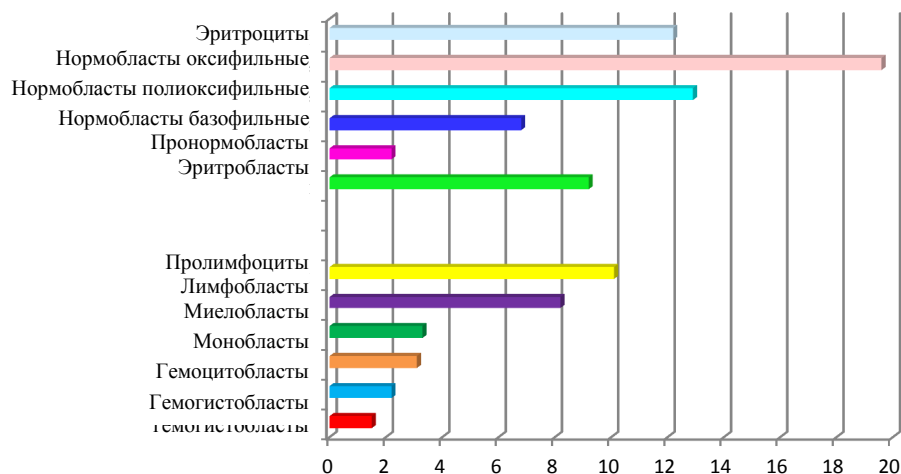


Рис. 3. Качественный состав клеток крови в мезонефросе предличинки клариевого сома, %: 10 суток после выклева

Доля бластных клеток сократилась в 2 раза: эритробласты составили 9,2 %, лимфобласты – 8,2 %, монобласты и миелобласты – 3,1 и 3,3 % соответственно. В классе созревающих клеток продолжилось развитие гранулоцитов – 5,2 % составили эозинофильные миелоциты. Доля клеток эритропоэтического ряда по-прежнему доминировала: пронормобласты – 2,2 %, базофильные нормобласты – 6,8 %, полихроматофильные нормобласты – 12,9 %, оксифильные нормобласты – 19,6 %. Из класса зрелых клеток 12,2 % составили эритроциты, 3,5 % – лимфоциты.

В головной части мезонефроса в возрасте 10 суток наблюдалась тенденция к уменьшению количества почечных канальцев, почечных телец в головной части почки не обнаружено (рис. 4). Возможно, это связано с активным ростом вентральной части мезонефроса клариевых сомов за счет увеличения объема кроветворной ткани.

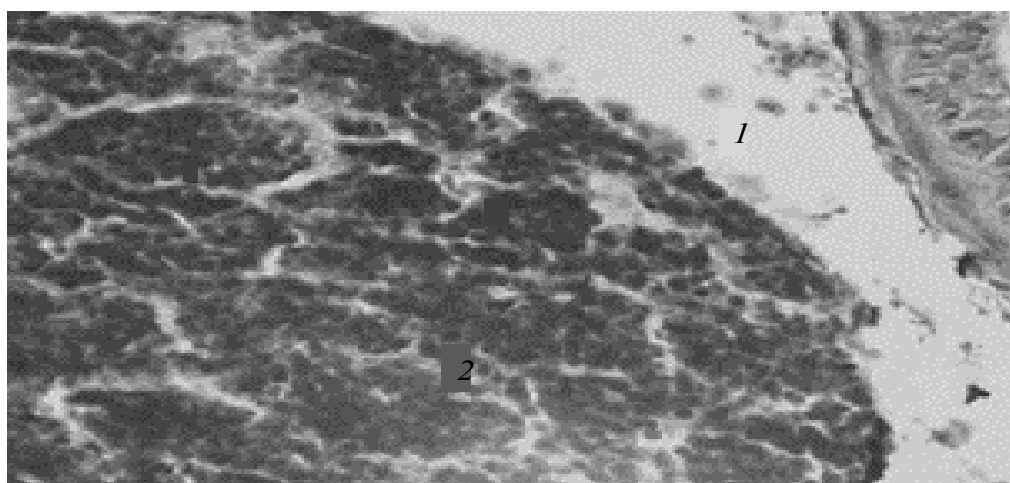


Рис. 4. Головной отдел почки личинки клариевого сома на 10 сутки после выклева. ОК. 10, ОБ. 40. Гематоксилин-эозин: 1 – клетки крови; 2 – ретикулярные клетки

Тимус представлял собой узкую короткую полоску на медиальной стороне жаберной крышки из ретикулярной ткани. Намечается формирование эпителиальных клеток коркового вещества, которые в дальнейшем образуют будущие дольки тимуса, но деления органа на дольки еще не произошло. Признаков мозгового вещества в ткани вилочковой железы не обнаружено. Внешне тимус личинок довольно рыхлый, окруженный тонкой соединительнотканной капсулой (рис. 5). В ходе качественного анализа клеток в формирующемся тимусе не было обнаружено полустволовых и унипотентных клеток-предшественниц, из развивающихся клеток крови были обнаружены только клетки лимфоцитопозитического ряда: лимфобласты – 5,5 %, пролимфоциты – 18,7 %, лимфоциты – 75,8 %. Микроокружением этих клеток были ретикулярные клетки.

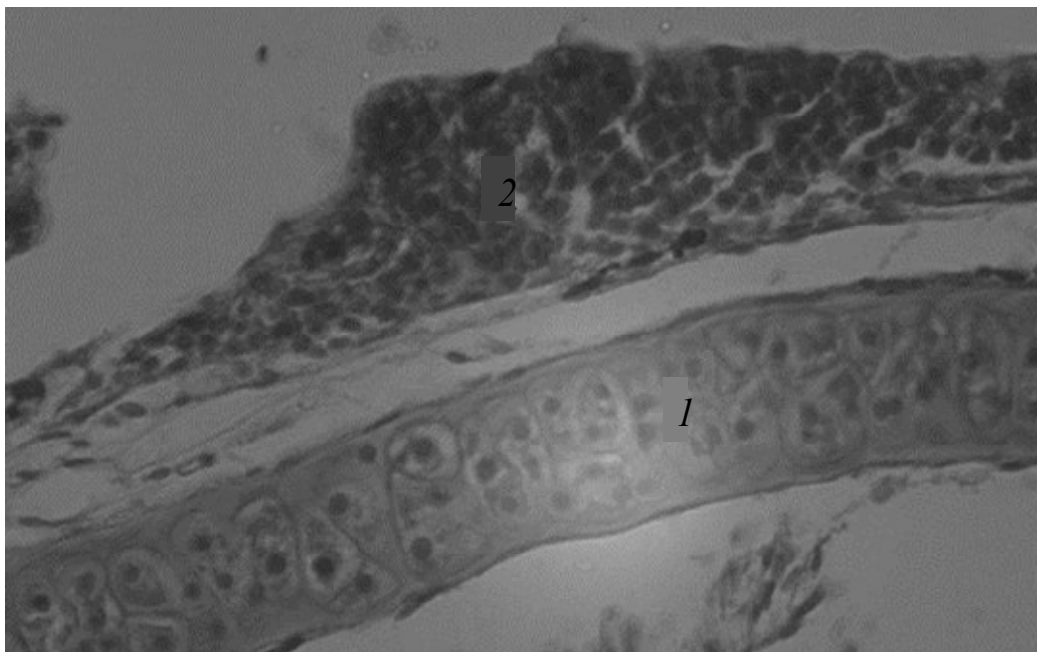


Рис. 5. Тимус личинки клариевого сома на 10 сутки после выклева.
ОК. 10, ОБ. 40. Гематоксилин-эозин: 1 – гиалиновый хрящ; 2 – ретикулярные клетки

В возрасте 10 суток появляется и зачаток селезенки, который представляет собой небольшое плотное образование из клеток молодой соединительной ткани, расположенное в небольшом щелевидном промежутке между желудком, промежуточной кишкой и печенью.

В возрасте 20 суток количество полустволовых, унипотентных и бластных клеток практически не изменилось. В классе созревающих клеток активно стали происходить процессы дифференцировки гранулоцитов. В составе ретикулярной ткани имелись нейтрофильные миелоциты (2,1 %) и эозинофильные миелоциты (4,1 %), при этом число агранулоцитов уменьшилось в 2 раза и составило 5,5 %. Класс зрелых клеток был представлен эритроцитами – 18,7 % и лимфоцитами – 10,5 % (рис. 6).

Тимус личинок клариевого сома в возрасте 20 суток был небольшим, продолговатым и состоял из ретикулярных клеток и развивающихся лимфоцитов. Деления стромы органа на корковое и мозговое вещество нет, дольковая структура не прослеживается (рис. 7). Исследование формирующихся клеток крови в тимусе показало, что полустволовые гемопоэтические клетки и унипотентные клетки отсутствовали. Из клеток крови отмечены только клетки лимфоцитопозитического ряда. Следует отметить, что в этом возрасте лимфоциты преобладали над остальными развивающимися клетками и составили 78,3 %, пролимфоцитов было 16,2 %, лимфобластов – 5,5 %.

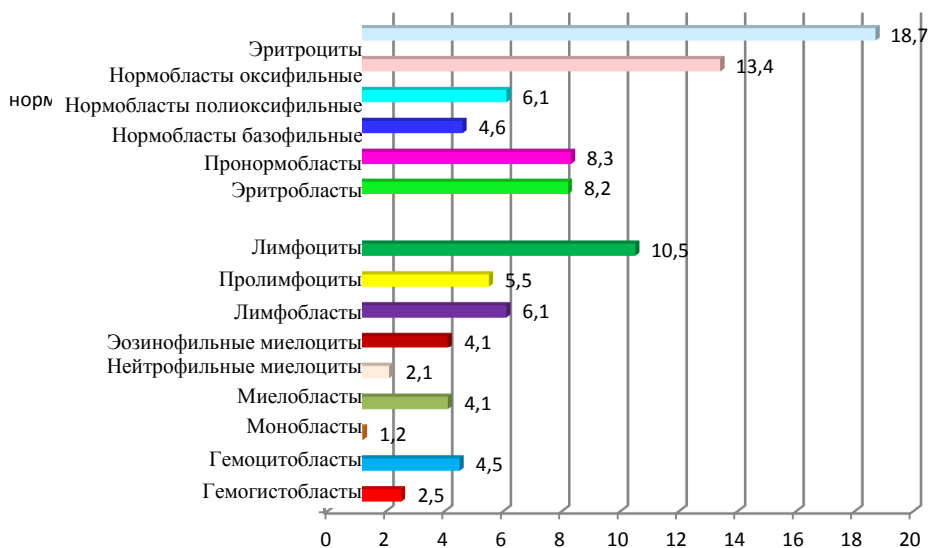


Рис. 6. Качественный состав клеток крови в мезонефресе личинок клариевого сома, %: 20 суток после выклева

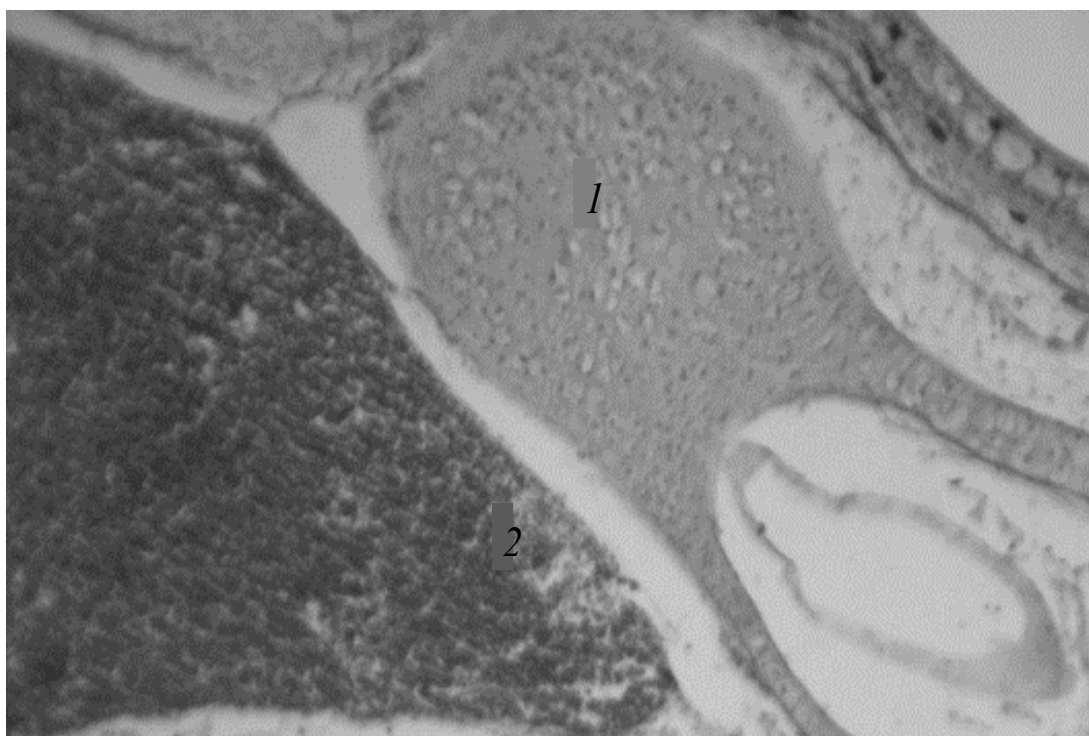


Рис. 7. Тимус личинки клариевого сома на 20 сутки после выклева. ОК. 10, ОБ. 20. Гематоксилин-эозин: 1 – гиалиновый хрящ; 2 – строма органа

В возрасте 20 суток у личинок клариевых сомов селезенка представляет собой небольшой компактный орган, окруженный тонкой соединительнотканной капсулой, расположенный между стенкой желудка и средней кишкой. Строма органа состоит из ретикулярных клеток и родоначальных развивающихся клеток крови, но в паренхиме органа еще присутствуют в незначительном количестве мезенхимные клетки. Четкого разделения на белую и красную пульпу нет. Качественный анализ паренхимы селезенки показал, что количество родоначальных клеток было достаточно значительным: гемогистобластов – 28,5 %, гемоцитобластов – 15,6 %. Среди бластных клеток доминировали эритробласты – 23,3 %, лимфобластов отмечалось в 3 раза

меньше – 8,8 %, миелобласты и монобласты составили незначительные количества – по 4,1 и 1,3 % соответственно. В этом же возрасте началась дифференцировка клеток эритропоэтического ряда: пронормобласты – 1,8 %, базофильные нормобласты – 2,2 %, полихроматофильные нормобласты – 3,3 % и лимфоцитопоэтического ряда – пролимфоциты – 12,1 % (рис. 8).

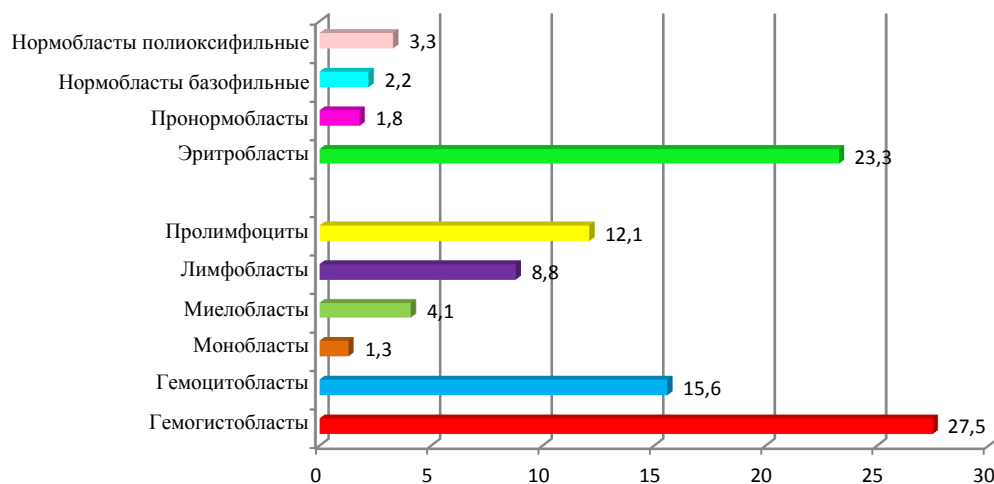


Рис. 8. Качественный состав клеток крови в селезенке личинок клариевого сома, %: 20 суток после выклева

Необходимо отметить, что в этом возрасте единичные мезенхимные островки появились в формирующихся оболочках средней кишки и желудка.

Качественный анализ межканальцевой ткани мезонефроса личинок **в возрасте 25 дней** показал, что доля родоначальных клеток не изменилась: гемогистобластов было 2,5 %, гемоцитобластов – 4,5 %. Бластные формы клеток по убыванию расположились следующим образом: эритробласты – 8,1 %, лимфобласты – 6,1 %, миелобласты – 3,6 %, монобласты – 3,5 %. В классе созревающих клеток доля лейкоцитов осталась прежней: пролимфоцитов было 5,5 %, эозинофильных миелоцитов – 4,1 %, нейтрофильных миелоцитов – 2,1 %. Клетки эритропоэтического ряда были представлены пронормобластами – 4,7 %, базофильными нормобластами – 4,8 %, полихроматофильными нормобластами – 6,4 % и оксифильными нормобластами – 13,0 %. Класс зрелых клеток состоял из эритроцитов – 18,7 % и лимфоцитов – 10,5 % (рис. 9).

Таким образом, можно заключить, что в личиночный период развития основным кроветворным органом является мезонефрос, в котором активно происходит развитие клеток эритропоэтического и лимфоцитопоэтического рядов. Скорость развития гранулоцитов меньше. К возрасту 10 суток начинают дифференцироваться клетки миелоцитопоэтического ряда – впервые отмечаются эозинофильные миелоциты и в возрасте 20 суток – нейтрофильные миелоциты. Клетки моноцитопоэтического ряда, возможно, начнут дифференцироваться в мальковый период развития.

На 25 сутки после выклева у личинок клариевых сомов значительных изменений в строении тимуса не произошло. Основу стромы составляли развивающиеся ретикулярные клетки, формирующиеся клетки лимфоцитопоэтического ряда, среди клеток которого 87,2 % составляли зрелые лимфоциты, пролимфоцитов было 11,1 %, лимфобласты встречались в незначительном количестве – 1,7 %. Таким образом, тимус у личинок был представлен как компактный функционирующий кроветворный орган, в котором активно происходит только лимфоцитопоз. Не завершено развитие его стромы – нет четкого деления на дольки, не развито мозговое и корковое вещество. Кроме того, еще не сформированы тельца Гассалья, т. е. тимус в личиночный период развития не функционирует как орган эндокринной системы и выполняет только кроветворную функцию.

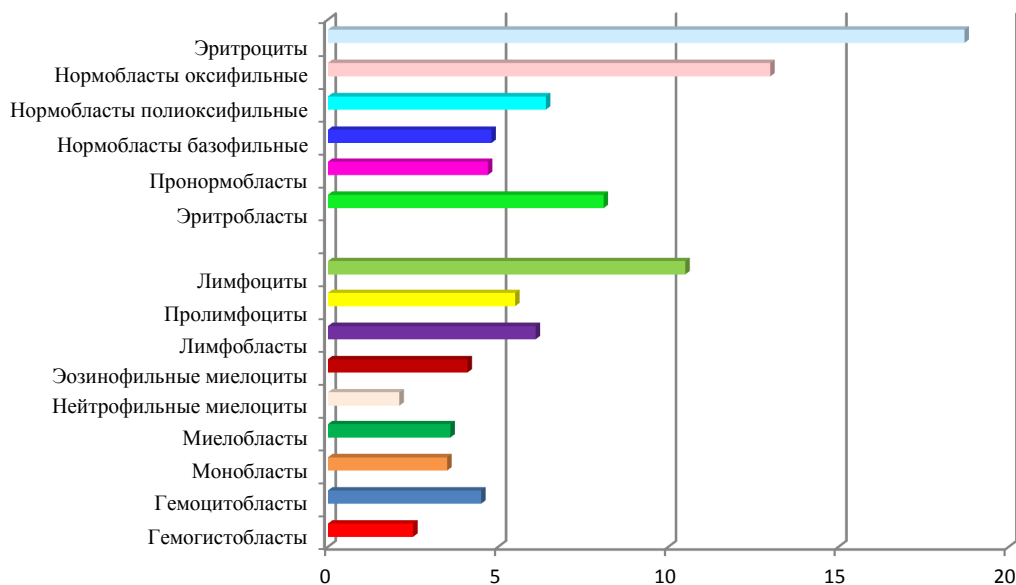


Рис. 9. Качественный состав клеток крови мезонефроса личинок клариевого сома, %: 25 суток после выклева

У личинок клариевых сомов в возрасте 25 суток селезенка располагалась в петлях кишечника – это небольшой компактный орган, окруженный соединительнотканной капсулой. Строма органа четкого деления на красную и белую пульпу не имела и была представлена ретикулярными клетками и развивающимися клетками крови. Качественный анализ клеток паренхимы селезенки показал, что она состоит из ретикулярных клеток и развивающихся форменных элементов крови. Полустволовые и унипотентные клетки-предшественницы крови составили 39,2 % от числа всех клеток крови (рис. 10).

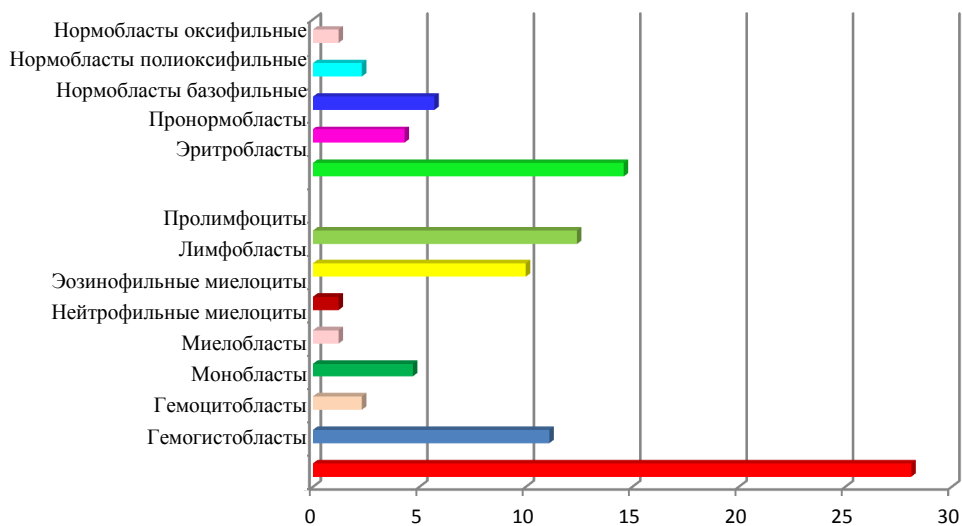


Рис. 10. Качественный состав клеток крови в селезенке личинок клариевого сома, % : 25 суток после выклева

Из класса бластных клеток доминировали эритробласты – 14,6 % и лимфобласты – 10,0 %. Миелобласты и монобласты составили незначительное количество – 3,5 и 3,5 % соответственно. Кроме того, у личинок в это время в селезенке были отмечены эозинофильные и нейтрофильные миелоциты в равных количествах – 1,2 %, пролимфоциты составили 12,4 %, незначительное

количество было пронормобластов – 4,3 %, базофильных нормобластов – 5,7 %, полиоксифильных нормобластов – 2,3 %, оксифильные нормобласты составили 2,1 %.

Таким образом, центральный кроветворный орган – селезенка впервые отмечается в виде мезенхимного зачатка в возрасте 10 суток. К возрасту 25 суток у личинок клариевых сомов развитие стромы органа еще не закончено. Активно происходят процессы развития ретикулярной ткани. Отдельные лимфоидные скопления в структуре селезенки не отмечались. Кроме того, меланомакрофагальные центры оставались также несформированными. Возможно, окончательное формирование стромы селезенки произойдет в мальковый период развития. Качественный анализ кроветворения показал, что в селезенке происходит развитие всех клеточных рядов – эритропоэтического, гранулопоэтического и агранулопоэтического, т. е. селезенка является универсальным органом кроветворения.

Заключение

В ходе исследования установлено, что в личиночный период развития основным кроветворным органом является мезонефрос, в котором активно происходит развитие клеток эритропоэтического и лимфоцитопоэтического рядов, тогда как скорость развития гранулоцитов меньше. К возрасту 10 суток начинают дифференцироваться клетки миелоцитопоэтического ряда – впервые отмечаются эозинофильные миелоциты и, в возрасте 20 суток, – нейтрофильные миелоциты. Клетки моноцитопоэтического ряда, возможно, начнут дифференцироваться в мальковый период развития.

Центральный кроветворный орган – селезенка впервые отмечается в виде мезенхимного зачатка в возрасте 10 суток. К возрасту 25 суток у личинок клариевых сомов развитие стромы органа еще не закончено. Активно происходят процессы развития ретикулярной ткани. Отдельные лимфоидные скопления в структуре селезенки не отмечались. Кроме того, меланомакрофагальные центры остаются также несформированными. Возможно, окончательное формирование стромы селезенки произойдет в мальковый период развития. Качественный анализ кроветворения показал, что в селезенке происходит развитие всех клеточных рядов – эритропоэтического, гранулопоэтического и агранулопоэтического, т. е. селезенка является универсальным органом кроветворения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Лабенец А. В., Севрюков В. Н. Клариевый сом: удачный выбор для индустриального выращивания // Современное состояние и перспективы развития аквакультуры: материалы Междунар. науч.-практ. конф. Горки, 1999. С. 32–33.
2. Мельченков Е. А., Приз В. В., Чертихина Е. А., Канидьева Т. А. Африканский сом – перспективный объект аквакультуры в средней полосе России // Рыбное хозяйство. 2008. № 6. С. 72–77.
3. Яржомбек А. А. Физиология рыб. М.: Колос, 2007. 153 с.
4. Иванов А. А. Физиология рыб. М.: Мир, 2003. 279 с.
5. Яржомбек А. А., Лиманский В. В., Лысенко П. В., Щербина Т. В., Бекина Е. Н. Справочник по физиологии рыб. М.: Колос, 1996. 192 с.
6. Абдурахманов Г. М., Зайцев В. Ф., Ложниченко О. В., Федорова Н. Н., Тихонова Э. Ю., Лепилина И. Н. Развитие жизненно важных органов осетровых в раннем онтогенезе. М.: Наука, 2006. 220 с.
7. Волкова О. В., Елецкий Ю. К. Основы гистологической техники. М.: Медицина, 1982. 304 с.

Статья поступила в редакцию 14.04.2017

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Пирог Анна Викторовна – Россия, 414056, Астрахань; Астраханский государственный технический университет; аспирант кафедры гидробиологии и общей экологии; sofiiichka.pirog@yandex.ru.

Ложниченко Ольга Владимировна – Россия, 414056, Астрахань; Астраханский государственный технический университет; г-р биол. наук, доцент; профессор кафедры гидробиологии и общей экологии; lojnichenko@ Rambler.ru.



A. V. Pirog, O. V. Lozhnichenko

EMBRYONIC HAEMOPOIESIS IN EARLY ONTOGENY OF AFRICAN CATFISH (*CLARIAS GARIEPIUS*)

Abstract. The study of the growth of blood cells and hemopoietic organs of claravia catfish (*Clarias gariepius*) grown in the closed loop water systems on the basis of "RANTOP AGRO-5" LLC in the Krasnodar region. Test materials (prolarvae and larvae aged 5, 10, 15, 20 and 25 days of active feeding) were selected in the spring-summer period of 2013-2014. Prolarvae in mesenchyma of forming mesonephros which begins to develop after hatching had primordial precursor cell and blast blood cells between forming vesicles. There took place differentiation of erythropoietic cells: erythroblasts, pronormoblasts and basophilic normoblasts. Accumulation of hemoglobin in erythrocytes indicates that since the first day of hatching, the blood starts to perform transport function - transportation of oxygen. The rudiment of thymus was observed in larvae aged 10 days. This organ generated lymphocytepoietic cells. The central hemopoietic organ – spleen – was originally registered as a mesenchymal rudiment at the age of 10 days. At the age of 25 days, development of the organ stroma is not finished in clarid catfish larvae. Reticular tissues develop actively. Separate lymphoid clumps in the spleen structure have not been found. Melano-macrophagic centres are also unformed. Qualitative analysis of haemopoiesis showed that in spleen there take place development of all types of blood cells: erythropoiesis, granulopoiesis and agranulopoiesis.

Key words: prolarvae, pronormoblasts, basophilic normoblasts, blast cells, erythropoietic series, thymus.

REFERENCES

1. Labenets A. V., Sevriukov V. N. Klarievyy som: udachnyi vybor dlia industrial'nogo vyrashchivaniia [Clarid catfish: a good choice for commercial breeding]. *Sovremennoe sostoianie i perspektivy razvitiia akvakul'tury: materialy Mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii*. Gorki, 1999. P. 32-33.
2. Mel'chenkov E. A., Priz V. V., Chertikhina E. A., Kanid'eva T. A. Afrikanskii som – perspektivnyi ob'ekt akvakul'tury v srednei polose Rossii [African fish as a promising project of aquaculture in the Central Russia]. *Rybnoe khoziaistvo*, 2008, no. 6, pp. 72-77.
3. Iarzhombek A. A. *Fiziologiya ryb* [Fish physiology]. Moscow, Kolos Publ., 2007. 153 p.
4. Ivanov A. A. *Fiziologiya ryb* [Fish physiology]. Moscow, Mir Publ., 2003. 279 p.
5. Iarzhombek A.A., Limanskii V. V., Lysenko P. V., Shcherbina T. V., Bekina E. N. *Spravochnik po fiziologii ryb* [A handbook on fish physiology]. Moscow, Kolos Publ., 1996. 192 p.
6. Abdurakhmanov G. M., Zaitsev V. F., Lozhnichenko O. V., Fedorova N. N., Tikhonova E. Iu., Lepilina I. N. *Razvitie zhiznenno vazhnykh organov osetrovyykh v rannem ontogeneze* [Development of vitally important organs in sturgeons in early ontogenesis]. Moscow, Nauka Publ., 2006. 220 p.
7. Volkova O. V., Eletskii Iu. K. *Osnovy gistologicheskoi tekhniki* [Essentials of histological techniques]. Moscow, Meditsina Publ., 1982. 304 p.

The article submitted to the editors 14.04.2017

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Pirog Anna Viktorovna – Russia, 414056, Astrakhan; Astrakhan State Technical University; Postgraduate Student of the Department of Hydrobiology and General Ecology; sofiichka.pirog@yandex.ru.

Lozhnichenko Olga Vladimirovna – Russia, 414056, Astrakhan; Astrakhan State Technical University; Doctor of Biology, Assistant Professor; Professor of the Department of Hydrobiology and General Ecology; lozhnichenko@rambler.ru.

