

УДК 597-111:597.442
ББК 28.693.324:28.663.7

A. V. Ampleeva, O. V. Lozhnichenko

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ КРОВЕТВОРНЫХ ОРГАНОВ И КЛЕТОК КРОВИ У СЕГОЛЕТОК БЕЛОРЫБИЦЫ

A. V. Ampleeva, O. V. Lozhnichenko

MORPHO-FUNCTIONAL FEATURES OF BLOOD-FORMING ORGANS AND BLOOD CELLS OF STENODUS LEUCICHTHYS UNDERYEARLINGS

Показано, что мезонефрос является универсальным органом кроветворения, в котором происходит формирование всех клеточных рядов: эритроцитов, гранулоцитов, агранулоцитов. Селезенка – центральный орган кроветворения у низших позвоночных – вносит огромный вклад в процесс кроветворения уже в мальковом периоде развития. Жаберный аппарат белорыбицы, являясь пограничным органом, наряду с дыхательной и другими функциями выполняет и функцию кроветворения. Кроветворная ткань сосредоточена в области жаберных дужек, у основания жаберных лепестков. Вклад в гемопоэз желудочно-кишечного тракта у сеголеток белорыбицы незначителен. В кроветворных скоплениях активно происходило развитие лейкоцитов – лимфоцитов и эозинофилов. Тимус активно участвует в лимфоцитопоэзе – происходит развитие лимфоцитов. Тельца Гассалья указывают на то, что тимус начинает выполнять и эндокринные функции.

Ключевые слова: мезонефрос, гемопоэз, селезенка, жаберный аппарат, желудочно-кишечный тракт.

It is shown that mesonephros is a universal hemopoietic organ in which the formation of all cellular numbers: erythrocytes, granulocytes, agranulocytes takes place. A spleen is a central hemopoietic organ of the low vertebrates that contributes to the blood-forming process in young period of development. The gills of *Stenodus leucichthys*, being a boundary organ, along with respiratory and other functions performs also blood-forming function. The hematopoietic tissue is concentrated in the field of branchial arches at the basis of branchial petals. The contribution in hematopoiesis of gastrointestinal canal of white salmon underyearlings is rather small. In hemopoietic congestions there was an active development of leukocytes – lymphocytes and eosinofils. Thymus actively participates in limfocitopoes – there takes place a development of lymphocytes. Hassal's corpuscles specify that thymus starts carrying out endocrine function.

Key words: mesonephros, hematopoiesis, spleen, gills, gastrointestinal canal.

Введение

Многие российские и зарубежные исследователи занимались изучением кроветворения у рыб [1, 2]. Чаще всего исследования проводились на естественной популяции половозрелых рыб. Менее изучены вопросы морфо- и гистогенеза органов кроветворной системы у лососевых рыб в эмбриональный и постэмбриональный периоды. Указываются кроветворные органы: почка, селезенка, тимус, жабры, гемопоэтические скопления в желудочно-кишечном тракте, но не приводится качественный и количественный состав этих органов. Противоречивы также данные о том, какие клеточные ряды развиваются в органах кроветворения.

Материал и методы исследований

Работа выполнена в Астраханском государственном техническом университете на кафедре гидробиологии и общей экологии. Объектом исследования служили сеголетки белорыбицы *Stenodus leucichthys leucichthys*. Сбор материала проводили из выростных прудов Александровского рыбозавода в Астраханской области. Материал обрабатывали методами классической гистологии [3]. Окрашивали препараты гематоксилин-эозином. Изучение гематологических показателей крови проводили гистологическими методами [4].

Результаты исследования и их обсуждение

У сеголеток белорыбицы *мезонефрос* имел форму параллельных тяжей и состоял из мезонефральных телец, почечных канальцев, окруженных гемопозитической тканью. Мезонефральные тельца состояли из почечных капсул и сосудистых клубочков, окруженных мочевым пространством, которое занимало основной объем капсулы и отграничивалось от стромы органа однослойным плоским париетальным эпителием. Почечные тельца были вытянутой или шарообразной формы. Мочевое пространство зачастую было небольшим [5]. В расположении телец закономерностей не было выявлено: они могли образовывать группы по 3–5 телец, соприкасаясь друг с другом полюсами, стенками капсул, встречались и одиночные мезонефральные тельца. Иногда среди нормальной формы почечных телец в мезонефросе были отмечены тельца с атипичной формой или имелись гипертрофированные клубочки капилляров. Гипертрофия почечных клубочков сопровождалась набуханием клеток, гиперклеточностью и отложением фибрина в капиллярных петлях. Некоторые мочевые полости были заполнены пенистыми массами, предположительно белком. Измененные почечные тельца составили 15 % всех почечных телец.

Канальцевая часть мезонефронов сеголеток белорыбицы была представлена отходящими от почечных телец канальцами 1 типа, которые продолжались в канальцы 2 типа, далее в канальцы 3 типа, и в вольфов проток открывался каналец 4 типа.

Основная площадь канальцев приходилась на кубический эпителий, на долю просветов – менее 20 %. Канальца 2 типа у всех исследованных рыб были выстланы однослойным призматическим эпителием, в просветах имелись белковые массы. Некоторые канальцы (около 30 %) имели чистые просветы. Безъядерные эпителиоциты встречались редко – в 9 % канальцев, при этом некоторые клетки были увеличены в размерах. Канальцы 2 типа, совершая изгиб, продолжались в канальцы 3 типа. Дистальные канальцы в почках сеголеток были уже, чем проксимальные канальцы. Их стенка была образована однослойным кубическим эпителием. Анализ межканальцевой ткани сеголеток показал, что среди ретикулярных клеток преобладали активные ретикулярные клетки, максимальное количество которых составляло 96,1 %. Доля молодых ретикулярных клеток была невысокой, но среди них количество малоактивных ретикулярных клеток оказалось больше, чем переходных и покоящихся ретикулярных клеток – 2,2 %. Переходные ретикулярные клетки составили 1,0 %, покоящиеся ретикулярные клетки – 0,8 %.

Количество полустволовых и унипотентных клеток-предшественниц было незначительным – 2,6 %. Микроокружением полустволовых клеток были активные ретикулярные клетки. Доля клеток IV класса сократилась: количество лимфобластов, миелобластов, эритробластов было 2,0; 3,2 и 2,0 % соответственно. Монобласты составили не более 1,0 %.

Среди клеток созревающего класса доминировали клетки белой крови – гранулоциты – они составили одну четвертую всех развивающихся клеток крови, причем численно эозинофильные клетки преобладали над нейтрофильными. Следует отметить, что среди гранулоцитов были идентифицированы сегментоядерные эозинофилы – 1,6 % и палочкоядерные нейтрофилы – 1,0 %. Среди зрелых клеток лимфоцитов было больше всего – 20,7 %. Необходимо также указать, что в мезонефросе сеголеток белорыбицы отмечена дальнейшая дифференциация лимфоцитов – были выявлены плазматические клетки.

Селезенка у белорыбицы располагалась в складке брюшины и представляла собой довольно значительный по объему орган. Снаружи ее окружала тонкая соединительнотканная оболочка. Трабекулы в этом возрасте имелись. В строме органа имелось довольно значительное количество кровеносных сосудов, часто заполненных форменными элементами крови. У всех анализируемых сеголеток паренхима органа была разделена на белую и красную пульпу, которые занимали практически равные площади.

Красная пульпа селезенки состояла из ретикулярных клеток, ортохромных эритроцитов и довольно значительного количества гибнущих эритроцитов. Нередко среди клеток красной пульпы встречались макрофаги.

Белая пульпа была более интенсивно окрашена, располагалась компактно в виде разрастаний неправильной формы. В белой пульпе встречались ретикулярные клетки, стромальные клетки, макрофаги, лимфоциты, плазматические клетки. Лимфоциты отчетливо разделялись на малые, средние и большие. Следует отметить, что между красной и белой пульпой имелись четкие границы, кроме того, в селезенке белорыбицы нечетко прослеживалось деление гемопозитических участков на периартериальную, центральную и маргинальную зоны.

Большая часть клеток ретикулярной ткани была представлена активными ретикулярными клетками, которые составили 96,7 % всех ретикулярных клеток. Доля малоактивных ретикулярных клеток была наибольшей – 1,8 %. Количество переходных ретикулярных клеток – 1,0%. Наименьший удельный вес имели покоящиеся ретикулярные клетки – 0,5 %.

Анализ качественного состава кроветворной ткани селезенки показал, что количество полустволовых и унипотентных клеток-предшественниц уменьшилось более чем в два раза по сравнению с их количеством у личинок. Гемогистобласты составили 9,4 %, гемоцитобласты – 7,3 %. Количество клеток бластного класса снизилось, но по-прежнему доминировали миелобласты – 5,2 %, лимфобласты составили 3,2 %, количество эритробластов несколько им уступало – 2,9 %, монобласты составили 2,0 %. В классе созревающих клеток доминировали гранулоциты, их доля оказалась равной 21,2 %, почти столько же было клеток эритропоэтического ряда – 20,1 %. Гранулоциты составили 17,1 %, доля развивающихся эритроцитов была меньше – 16,3 %. В VI классе зрелых клеток доля ортохромных эритроцитов во много раз превышала количество лимфоцитов – 29,4 % против 11,4 %. В качестве микроокружения у сеголеток были активные ретикулярные клетки. Кроме того, среди ретикулярных клеток селезенки были найдены крупные мегакариоциты – родоначальники тромбоцитопоэза. Встречались также и тромбоциты, которые образовывали группы по 5–7 клеток.

Тимус у сеголеток белорыбицы имел дефинитивные черты. Строма тимуса имела дольчатое строение. Всего насчитывалось 9 крупных долек, диаметром $2,1 \pm 0,1$ мм, и 6 мелких, диаметром $0,6 \pm 0,04$ мм. Дольки были четко разделены на корковое и мозговое вещество, со стороны жаберной полости тимус окружала тонкая соединительнотканная капсула. В мозговом веществе долек у всех сеголеток были отмечены шарообразной формы тельца Гассалья в количестве 47, диаметром $31,0 \pm 1,30$ мкм. Корковое и мозговое вещество имели различный качественный состав. Корковое вещество состояло из активных ретикулярных клеток и лимфоцитов, в мозговом веществе располагались лимфоцитопоэтические и миелоцитопоэтические островки и их микроокружение.

Ретикулярная ткань была представлена активными ретикулярными клетками, которых было больше, чем менее зрелых ретикулярных клеток – 96,8 %. Основная масса этих клеток была сосредоточена в корковом веществе, в мозговом веществе количество этих клеток было невелико. Кроме того, в мозговом веществе были отмечены покоящиеся – 1,0 % и переходные – 1,6 % ретикулярные клетки, образующие небольшие группы по 3–4 клетки, и малоактивные ретикулярные клетки – 2,1 %.

Анализ качественного состава развивающихся клеток крови сеголеток показал следующее. Родоначальные клетки крови в составе кроветворной ткани идентифицированы не были. В тимусе в составе гемопоэтической ткани имелись клетки лимфоцитопоэтического и миелоцитопоэтического рядов. Доля клеток миелоцитопоэтического ряда была минимальной – 0,9 %, из них миелобластов было 0,4 %, эозинофильных миелоцитов и эозинофильных метомиелоцитов – 0,2 и 0,3 % соответственно; 90,7 % составляли клетки лимфоцитопоэтического ряда: 1,9 % – лимфобласты, 8,1 % – пролимфоциты и 80,7 % – лимфоциты.

Активное участие в кроветворении у сеголеток принимали *жабры*. Жаберные лепестки имеют вид довольно высоких пластинок, отходящих с дорсальной и вентральной поверхностей жаберных лепестков под углом примерно 45° к продольной оси. Основу строения жаберных лепесточков составляет капилляр, образованный одним слоем эндотелиальных клеток. Снаружи лепесточки покрыты кубическим эпителием. Вблизи основания лепесточка эти клетки становятся высокими, постепенно переходят в плоский многослойный эпителий, одевающий лепесток. Сами жаберные лепестки имеют соединительнотканную основу, а в этой соединительной ткани встречаются скопления артерий. Вдоль внутреннего края каждого лепестка, т. е. со стороны, обращенной к соседнему лепестку той же жаберной дужки, проходит жаберный луч, построенный из гиалинового хряща. К наружи от хрящевого луча проходит лепестковая артерия, тогда как вдоль противоположного ребра лепестка опускается лепестковая вена. Лепестки с боков между основаниями покрыты многослойным плоским эпителием. По внутреннему краю каждого лепестка отмечается значительное количество бокаловидных клеток. Основа жаберной дуги – хрящевая. Каудально от них проходит жаберная вена. Затем залегают хрящевые основы лепестковых лучей, между которыми проходит жаберная артерия и находятся лепестковые мышцы.

Эти мышцы состоят из поперечно-полосатых мышечных волокон. Начинаясь на одной стороне лепестка, они постепенно переходят на противоположную сторону, благодаря чему на месте раздвоения лепестков мышцы правой и левой стороны перекрещиваются. Жаберные дуги покрыты многослойным плоским эпителием с редкими слизистыми клетками. Очаги гемопоэза были отмечены как в основании жаберных лепестков между филаментами, так и между жаберными ламеллами. Между филаментами были более крупные конгломераты, чем в основании ламелл, но качественных отличий между топографически отдельно расположенными очагами не выявлено. В составе микроокружения доминировали активные ретикулярные клетки – 96,7 %. Количество малоактивных переходных и покоящихся ретикулярных клеток было незначительным. Так, удельный вес малоактивных ретикулярных клеток составил 1,8 %, покоящихся ретикулярных клеток – 0,5 %.

Качественный состав анализируемых гемопоэтических участков был следующим: клетки бластного класса составили не более 10 % всех клеток крови, причем доминировали лимфобласты – 3,4 % и миелобласты – 3,3 %. Монобластов оказалось незначительное количество – 1,2 %. Доля эритробластов составила 1,9 %. Чуть больше – 50 % – составили клетки созревающего класса, причем формирующихся эритроцитов было 29,0 %. Среди созревающих гранулоцитов эозинофилы превалировали над молодыми нейтрофилами: 13,2 % – ранние эозинофилы и 5,0 % – нейтрофилы, тогда как агранулоцитов было всего 6,9 %. Класс зрелых клеток состоял из отрохромных эритроцитов – 10,4 % и лимфоцитов 31,3 %.

Слизистая оболочка желудка сеголеток образовывала как высокие языкоподобные, так и низкие плоские складки, покрытые призматическим эпителием, с ядрами, расположенными в базальной части клеток. Желудочные ямки покрывал тот же призматический эпителий. На гистологических препаратах в слизистой оболочке стенки желудка встречались скопления ретикулярной ткани, которые были хаотично разбросаны в толще слизистой оболочки. Массивные гемопоэтические участки всегда плотно примыкали к мышечной оболочке. Топографическое расположение кроветворных образований было следующим: 41,1 % располагался в медиальной части желудочной стенки, 20,7 % – в латеральной ее части, 22,6 % приходилось на дорсальную часть и 15,6 % – на вентральную. Кроме того, 95,4 % кровяных островков отмечены в нижней 1/3 желудочной стенки, 3,2 % – в средней и 1,4 % – в ее верхней части.

Исследование качественного состава ретикулярной ткани показало, что доминировали активные ретикулярные клетки. Доля малоактивных, переходных и покоящихся ретикулярных клеток была не более 1/10 всех клеток ретикулярной ткани, что характерно для взрослых особей.

Анализ качественного состава кроветворных очагов показал, что родоначальные клетки крови отсутствовали. Среди развивающихся клеток крови были отмечены только формирующиеся лейкоциты, клетки эритропоэтического ряда не встречались. Так, бластные клетки были представлены равными количествами миелобластов и лимфобластов и незначительным числом монобластов. Из числа клеток созревающего класса превалировали агранулоциты, из гранулоцитов – эозинофильные формы, которые доминировали над нейтрофильными. Соотношение клеток в кроветворной ткани соответствовало таковому у взрослых рыб. Класс зрелых клеток состоял из лимфоцитов и плазматических клеток. Зависимости в расположении кровяных островков выявлено не было. Таким образом, к началу зимовки в желудке белорыбицы имелись сформированные, функционирующие гемопоэтические участки, по своему качественному составу аналогичные таковым у взрослых особей, с происходящим лимфоцитопозом, гранулоцитопозом, моноцитопозом и иммуноцитопозом.

Интенсивность гемопоэза в средней кишке была выше, чем в желудке. Ретикулярная ткань в основании кишечных ворсин в собственной пластинке слизистой оболочки была в виде массивных разрастаний и встречалась довольно часто. Интересно, что соединительнотканной оболочки кроветворные образования не имели и плотно примыкали к мышечному слою. Вблизи некоторых кроветворных очагов были кровеносные сосуды с форменными клетками крови. Кишечные ворсинки отличались не только вариативностью длины – на гистопрепаратах встречались как невысокие широкие – $0,3 \pm 0,04$ мм, так и высокие – $0,9 \pm 0,12$ мм, покрытые вторичной складчатостью ворсинки, которые по своей длине неоднократно срастались и образовывали многочисленные кольца. Эпителий, покрывающий кишечные ворсинки, был каемчатый, толщина слизистой оболочки зависела от наличия или отсутствия ретикулярной ткани в ее составе:

если ретикулярная ткань присутствовала, то ширина была более чем в два раза больше, чем в местах, где скопления отсутствовали. Мышечный слой был массивным, толщина серозной оболочки увеличилась в полтора раза.

Качественный состав гемопоэтических участков изменился коренным образом по сравнению с таковым у молоди. Во-первых, в составе развивающихся клеток крови не были отмечены клетки эритропоэтического ряда – имелись только формирующиеся лейкоциты, причем преобладали клетки лимфоцитопоэтического ряда: лимфобласты – 3,1 %, количество пролимфоцитов снизилось до 19,4 %, количество дефинитивных лимфоцитов составило 60,7 %. Кроме того, продолжилась их дальнейшая дифференциация – удельный вес плазматических клеток был равен 6,6 %. Единично присутствовали монобласты, но их дальнейшая дифференциация происходила предположительно в кровеносном русле. Гранулоциты составляли незначительную часть: в три раза снизилось число миелобластов – 2,7 %, нейтрофильные миелоциты – 1,0 %, эозинофильные миелоциты – 2,1 %, эозинофильные метомиелоциты – 3,9 %.

Развитие лейкоцитов происходило в кровяных островках, которые располагались в кроветворной ткани хаотично. Закономерности в расположении дефинитивных клеток и их микроокружения не выявлены.

Периферическая кровь сеголеток имела дефинитивные черты. Эритрограмма белорыбицы состояла в основном из ортохромных эритроцитов – 73,6 %. Удельный вес эритробластов пронормобластов и базофильных нормобластов сократился в три раза и составил 2,2; 1,6 и 2,0 %. Доля полиоксифильных нормобластов и оксифильных нормобластов была соответственно 8,4 и 16,7 %.

В составе лейкограммы произошли следующие изменения: больше всего было бластных клеток, среди них доминировали лимфобласты – 4,1 %, миелобласты составили 3,2 %, монобласты – 1,6 %. Следует отметить, что у сеголеток доминировали агранулоциты, причем среди лимфоцитов наблюдалось деление на малые средние и большие лимфоциты. Из этих групп наибольшее количество было малых лимфоцитов – 47,9 %. Удельный вес больших и средних лимфоцитов был незначительным. Кроме того, в периферическом русле были найдены дефинитивные моноциты в количестве 1,4 %. Доля гранулоцитов составила 39,7 %. Клеточные ряды гранулоцитов были полностью сформированы – имелись сегментоядерные эозинофилы и нейтрофилы. Среди гранулоцитов наблюдался сдвиг вправо, преобладали сегментоядерные и палочкоядерные формы.

Следует указать на то, что среди клеток крови были отмечены дегенеративные формы: полихромазия – показатель неполной зрелости клеток – 2,3 %; пойкилоцитоз – симптом анемии (при тяжелом ее течении изменяется обычно форма эритроцитов и появляются пойкилоциты) – 0,9 %; агглютинация – снижение электрического заряда и изменение физических свойств поверхности эритроцитов, сопровождаемое их склеиванием – 7,4 %, тени ядер – 2,4 %, клетки с ядрами, смещенными к периферии, – 2,3 %. Считаем, что у исследуемых сеголеток имелись признаки гемолитической анемии, или анемии вследствие усиленного кроверазрушения.

Заключение

Полученные нами данные не во всем подтвердили литературные данные. Так, мнение исследователей касательно участия почки в процессе кроветворения неоднозначно – ряд авторов считают почку местом лимфоцитопоэза, другие отводят этому органу центральное место в гемопоэзе. Результаты нашего исследования доказывают, что мезонефрос является универсальным органом кроветворения, в котором происходит формирование всех клеточных рядов: эритроцитов, гранулоцитов, агранулоцитов. Селезенка – центральный орган кроветворения у низших позвоночных. Во взрослом организме и при его развитии селезенка выполняет целый ряд разнообразных и важных функций благодаря взаимодействию ее органических структур. В связи с этим гистогенез этого органа представляется весьма сложным. Результаты нашего исследования позволяют считать, что селезенка вносит свой огромный вклад в процесс кроветворения в мальковом периоде развития. Жаберный аппарат белорыбицы, являясь пограничным органом, наряду с дыхательной и другими функциями выполняет и функцию кроветворения [1, 6]. Кроветворная ткань сосредоточена в области жаберных дужек, у основания жаберных лепестков. Исследование кроветворения в жабрах показало, что в кроветворных островках жабр активно происходят процессы развития клеток лимфоцитопоэтического, эритропоэтического, миелоцитопоэти-

ческого и моноцитарного рядов. Показано также, что желудочно-кишечный тракт у сеголеток белорыбицы вносит в гемопоэз небольшой вклад. В кроветворных скоплениях активно происходило развитие лейкоцитов – лимфоцитов и эозинофилов. Кроме того, в этом органе завершается развитие лимфоцитов – имеются плазматические клетки. Тимус активно участвует в лимфоцитопоэзе – происходит развитие лимфоцитов, по литературным источникам это Т-лимфоциты [7]. У сеголеток белорыбицы в составе тимуса отмечены плазматические клетки – до 12,1 %. Обнаружены тельца Гассала, указывающие на то, что тимус начинает выполнять и эндокринные функции. Исследование периферической крови у сеголеток показало, что перед зимовкой все клеточные ряды сформированы и лейкограмма близка к таковой у взрослых рыб.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Иванова Н. Т.* Атлас клеток крови рыб. Сравнительная морфология и классификация форменных элементов крови рыб. – М.: Легкая и пищ. пром-сть, 1983. – 184 с.
2. *Житенева Л. Д.* Экологические закономерности ихтиогематологии. – Ростов н/Д: АзНИИРХ, 2000. – 56 с.
3. *Волкова О. В., Елецкий Ю. К.* Основы гистологии с гистологической техникой. – М.: Медицина. – 1989. – 234 с.
4. *Житенева Л. Д., Полтавцева Т. Г., Рудницкая О. А.* Атлас нормальных и патологически измененных клеток крови рыб. – Ростов н/Д: Ростов. кн. изд-во, 1989. – 109 с.
5. *Кучкова А. В., Ложниченко О. В.* Особенности развития клеток крови в мезонефросе мальков белорыбицы // Вестн. Астрахан. гос. техн. ун-та. – 2009. – № 1. – С. 134–137.
6. *Заварзин А. А.* Очерки по эволюционной гистологии крови и соединительной ткани // Избр. тр. – М.: Изд-во АН СССР, 1953. – Т. 4. – 717 с.
7. *Кондратьева И. А., Киташова А. А., Ланге М. А.* Современные представления об иммунной системе рыб // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 16. Биология. – 2001. – № 4. – С. 11–20.

Статья поступила в редакцию 24.02.2012

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Амплеева Анастасия Владимировна – Астраханский государственный технический университет; аспирант кафедры «Гидробиология и общая экология»; Delovaya_86@mail.ru.

Ampleeva Anastasiya Vladimirovna – Astrakhan State Technical University; Postgraduate Student of the Department "Hydrobiology and General Ecology"; Delovaya_86@mail.ru.

Ложниченко Ольга Владимировна – Институт береговой охраны, Анапа; д-р биол. наук, профессор; lojnichenko@rambler.ru.

Lozhnichenko Olga Vladimirovna – Institute of the Coast Guard, Anapa; Doctor of Biological Sciences, Professor; Professor; lojnichenko@rambler.ru.