

МОРФОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ СЕЛЕЗІНКИ ПОЙКІЛОТЕРМНИХ ТВАРИН

О. Дунаєвська

*Житомирський національний агроекологічний університет
Старий бульвар, 7, Житомир 10008, Україна
e-mail: Oksana_Fd@ukr.net*

Для інтегральної оцінки екологічного стану довкілля успішно використовується метод біоіндикації. Біоіндикаторами слугують представники різних класів пойкилотермних амніотів. Імунна система цих тварин лабільна. Селезінка, що належить до органів кровотворення та імунного захисту, чутлива до дії різноманітних чинників. Як біомаркери виступають морфологічні показники, зокрема, відносна маса селезінки та морфометричні дані основних структурних одиниць. Вивчали макро- й мікроскопічні особливості паренхіми, опорно-скоротливого апарату, лімфоїдних вузликів селезінки статевозрілих пойкилотермних хребетних тварин сома звичайного, жаби озерної, ящірки зеленої умовно чистої від антропогенного забруднення зони Житомирського району. Обчислювали відносну масу селезінки, відносні площі її складових і співвідношення між ними. Встановлено, що відносна маса селезінки становила $0,086 \pm 0,0006$ % у риби, $0,1170 \pm 0,0215$ % у жаб та $0,099 \pm 0,021$ % у ящірки. Мікроскопічна будова селезінки характеризується чітко сформованою червоною, білою пульпами й опорно-скоротливим апаратом. Опорно-скоротливий апарат формують капсула і трабекули. Відносна площа його становила $7,04 \pm 0,65$ % у риби, $5,39 \pm 0,07$ % у жаби та $5,21 \pm 1,47$ % у ящірки. У риби більшого розвитку набуває трабекулярний апарат, відносна частка якого становила 53,78 %. У жаби та ящірки, навпаки, відносна частка капсули була більша і дорівнювала 68,83 % та 85,61 % відповідно. У риби відмічали поодинокі капсулярні трабекули, у жаби і ящірки їх немає. У всіх досліджуваних тварин найкраще були розвинені судинні трабекули. У складі білої пульпи виділяють лімфоїдні вузлики і періартеріальні лімфоїдні піхви. У вузликах світлого центру немає, виокремлюється періартеріальна зона. Відносна площа білої пульпи становила $22,14 \pm 6,61$ % у риби, $15,36 \pm 5,71$ % у жаби, $13,36 \pm 1,80$ % у ящірки. Значну площу селезінки займає червона пульпа: $70,82 \pm 10,76$ % у риби, $80,67 \pm 6,53$ % у жаби, $81,43 \pm 7,05$ % у ящірки. Співвідношення білої пульпи до червоної становило 1:3,2 (риба), 1:5,25 (жаба), 1:5,99 (ящірка), співвідношення стромы до пульпи – 1:13,2; 1:24,19; 1:18,19 відповідно. Для даних тварин характерна наявність пігментних клітин, які у пульпі селезінки риби утворюють меланомакрофагальні центри, у жаб – меланомакрофагальні скупчення. На території з антропогенним навантаженням зазнають змін основні морфометричні показники селезінки: відносна маса, відносні площі білої, червоної пульпи, опорно-скоротливого апарату. Встановлені морфологічні особливості селезінки є основними тест-критеріями органа в нормі, зміни яких будуть маркерами впливу чинників різного генезу. Визначені параметри доцільно також враховувати для оцінки фізіологічного стану риби і створення оптимальних умов для гідробіонтів у період їх формування.

Ключові слова: селезінка, морфологія, біомаркер, пойкилотермні тварини

Селезінка пойкилотермних тварин належить до периферичних органів імуногенезу та кровотворення [4, 5, 9, 14]. З функціонально-морфологічними особливостями селезінки пов'язано різноманіття її структурних змін під впливом біотичних і абіотичних чинників природного середовища [6].

Важливими є дослідження впливу середовища [16], екологічної оцінки якості довкілля, що одночасно дають змогу виявити ступінь та інтенсивність впливу забруднювачів, простежити динаміку деградації екосистем у часі та просторі, створити загальну теорію функціонування екологічних систем, приймати практичні рішення з охорони і раціонального використання [14]. Для такої інтегральної оцінки успішно використовується метод біоіндикації. Як біоіндикатори використовують жабу озерну (*Rana ridibunda* P.) та ящірку зелену (*Lacerta viridis* L.) [8, 9, 11, 12]. Біомаркерами виступають морфологічні показники, зокрема, відносна маса (ВМ) селезінки. Результати наукових досліджень свідчать про достовірне зниження ВМ селезінки статевозрілих особин *R. ridibunda* P., які мешкають у водотоках, забруднених важкими металами [14]. При дії чинників газопереробного виробництва, навпаки, ВМ селезінки збільшується [2]. Зміни розмірів селезінки необхідно враховувати для оцінки фізіологічного стану та створення оптимальних умов для гідробіонтів у період їх формування [13]. Загалом, біологічний моніторинг – основний напрям контролю водного середовища і отримання об'єктивних даних, який не втратить своєї актуальності у найближчі сто років [7].

Беручи до уваги діагностичні можливості морфологічних методів, **метою дослідження** було провести гістоморфометричну оцінку селезінки представників пойкилотермних тварин Житомирської обл., які будуть використовуватись у біомоніторингу як тест-критерій змін у екосистемі.

Матеріали та методи

Об'єктом дослідження була селезінка статевозрілих пойкилотермних хребетних тварин обох статей у співвідношенні 1:1 у фазі морфофункціональної зрілості органа: сомів європейських звичайних (*Siluris glanis* L.) (вік 2 роки), жаб озерних (вік 23–26 місяців), ящірок зелених (вік 23–25 місяців). Кількість відібраних зразків селезінки одного виду становила 24–32. Тварини були вилучені з природного середовища Житомирського р-ну Житомирської обл. без антропогенного навантаження. Додатково було відібрано селезінку сома зі ставу Коростенького р-ну, територія якого належить до зони радіоактивного забруднення зі щільністю забруднення ґрунтів 5–15 Кі/км² за ¹³⁷Cs. Селезінку жаби озерної досліджувалась зі ставу Ружинського р-ну, що постійно зазнає забруднення побутовими стічними водами і відходами. Ящірок відбирали з промислової зони м. Житомира. Дослідження проводили впродовж 2015–2017 років.

Виконана робота є частиною наукової тематики кафедри анатомії і гістології Житомирського національного агроєкологічного університету «Розвиток, морфологія та гістохімія органів тварин у нормі та при патології», державний реєстраційний № 0113V000900.

Для гістологічного дослідження шматочки матеріалу фіксували у 10–12 %-ному водному розчині нейтрального формаліну і рідині Карнуа. Парафінові зрізи фарбували гематоксиліном та еозином і за методом Ван-Гізона [3]. Морфометричні дослідження й обробку цифрових даних здійснювали варіаційно-статистичними методами на персональному комп'ютері з використанням програми "Microsoft Excel" згідно з рекомендаціями [3]. Обчислювали відносну масу селезінки, яка дорівнює відношенню маси селезінки (г) до маси тварини (г), виражену у відсотках.

Вся експериментальна частина дослідження була проведена згідно з вимогами міжнародних принципів «Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, які використовуються в експерименті та інших наукових цілях» (Страсбург, 1986) та відповідного Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (№ 3446-IV від 21.02.2006, Київ).

Результати і їхнє обговорення

Селезінка тварин містилась у черевній порожнині, була темно-червоного кольору. Відношення ширини до довжини у сома становило 0,77, тому форму визначали як овально-видовжену. У жаби співвідношення ширини до довжини становило 1:0,63, тому форму визначали як округлу. У ящірки форму визначали як видовжену, оскільки співвідношення ширини до довжини дорівнювало 1:2,7. Анатомічні й топографічні особливості селезінки сома звичайного, жаби озерної та ящірки зеленої збігаються з дослідженнями інших авторів [4, 5].

Згідно з проведеними дослідженнями, відносна маса селезінки найменша у риб і найбільша у жаб (табл. 1). Отримані дані не суперечать результатам досліджень Г.И. Прониной (2002) [10].

Селезінка дослідних тварин сформована строною та паренхімою. Строма утворена капсулою і трабекулами, які разом формують опорно-скоротливий апарат (ОСА) селезінки. Найбільшого розвитку він отримав у риб (див. таблицю та рис. 1). Частка капсули у риб становила 46,22 %, у жаб 68,83 % та у ящірки 85,61 %. Середнє значення товщини капсули селезінки становить $21,85 \pm 7,44$ мкм у риби, $19,37 \pm 4,45$ мкм у жаби, $11,04 \pm 3,30$ мкм у ящірки. Чітко сформована капсула трабекул не утворювала. Лише у сома траплялися поодинокі капсулярні трабекули. Чітко виявлялися тільки пульпарні трабекули, які були представлені судинними і сполучними видами. Судинні трабекули виявлено переважно в пульпі та в ділянці воріт і менше – в підкапсулярній зоні. Капсула і трабекули були утворені щільною сполучною та гладкою м'язовою тканиною. У сполучній тканині ОСА переважну частину становили еластичні волокна. У всіх трабекулах, окрім сполучної тканини, виявляли слабо розвинені пучки міоцитів. Про відсутність капсулярних трабекул у жаб зазначала Е.Н. Горышина (1985) [4].

Основою пульпи селезінки є ретикулярна строма, яка складається з фіброblastів, макрофагів, колагенових і еластичних волокон. Колагенові волокна розташовуються навколо судин і майже відсутні в пульпі, еластичні трапляються переважно в капсулі та стінках великих судин. Пульпа поділяється на червону (ЧП) і білу (БП). Проте чіткої межі між ними немає.

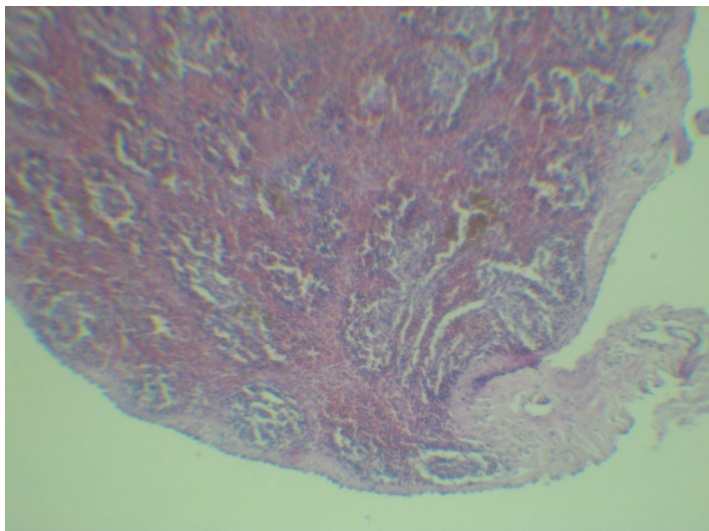


Рис. 1 . Фрагмент мікроскопічної будови селезінки сома звичайного. Гематоксилін та еозин. $\times 56$

Таблиця

Вид тварини	Відносна маса	Відносна площа		
		Відносна площа		
		опорно-скоротливого апарату	білої пульпи	червоної пульпи
Риба	0,086±0,0006	7,04±0,65	22,14±6,61	70,82±10,76
Жаба	0,1170±0,0215	5,39±0,07	15,36±5,71	80,67±6,53
Ящірка	0,099±0,021	5,21±1,47	13,36±1,80	81,43±7,05

ЧП – це міжтрабекулярна та міжвузликівка тканина, заповнена еритроцитами. Еритроцити на різних етапах розвитку (дозріваючі, зрілі, зруйновані) зумовлювали її червоне забарвлення. У ретикулярній тканині містилися вільні клітинні елементи: клітини крові, плазматичні клітини, макрофаги. Клітини в ЧП розташовувалися дифузно і пухкше, ніж у БП. У ЧП, крім клітинних елементів, розміщувалися численні артеріоли, капіляри, своєрідні венозні синуси, в порожнинах яких депонувалися клітинні елементи (рис. 2). Відносна площа ЧП найбільша у ящірки та найменша у риб (див. таблицю). Ділянки БП відрізнялися щільнішим розташуванням клітин, які концентрувались навколо артеріол і утворювали періартеріальні лімфоїдні піхви (ПАЛП) у вигляді тяжів навколо судин. Лімфоїдні вузлики (ЛВ) виділялись у вигляді скупчення клітин округлої форми, світлого центру не було. Диференціювалася періартеріальна зона ЛВ. Кожен ЛВ складався з комплексу клітин лімфоїдної тканини: лімфоцити (малі, середні, великі), лімфобласти, макрофаги, дендритні клітини, плазматичні клітини. Траплялися лейкоцити, переважно еозинофільні. Основними формуючими клітинами селезінки ящірки були клітини агранулоцитопоетичного ряду. Лімфоцити становили близько 70 % формуючих клітин білої пульпи і майже 10 % із них – плазматичні клітини. Основні клітини розташовувались хаотично. Серед лімфоцитів диференціювались лімфобласти, пролімфоцити і зрілі лімфоцити до 50 % поля зору. Лімфобласти розташовувались невеликими групами по 3–6 клітин, найвищу концентрацію їх відмічали в перехідній зоні між БП і ЧП. Відсутність у структурі ЛВ селезінки жаби озерної світлих центрів збігається з дослідженнями М. П. Грушко (2010) [5]. Згідно з нашими морфометричними дослідженнями, БП займала від 13,36±1,80 % у ящірки до 22,14±6,61 % у риб відносно площі селезінки (див. таблицю). Проте згідно з даними Е. Н. Горышин (1985), відносна площа БП жаби селезінки зазначається як 22 % [4], за нашими даними – 15,36 %, що пов'язано з породними і віковими відмінностями тварин; у працях М. П. Грушко (2010) частка БП становить 18 %, що можна пояснити різними умовами середовища онтогенезу. Встановлений нами клітинний склад паренхіми селезінки збігається з результатами досліджень Н.М. Акуленко (1998) та М.П. Грушко (2010) [1, 5], хоча є невеликі розбіжності у кількісних показниках, що пояснюється сезонними коливаннями та регіональними особливостями. Співвідношення БП:ЧП становило 1:3,2 (риба), 1:5,25 (жаба), 1:5,99 (ящірка), співвідношення ОСА до пульпи – 1:13,2; 1:24,19; 1:18,19 відповідно. Для пульпи селезінки пойкилотермних тварин характерною ознакою є наявність пігментних клітин. Вони у пульпі селезінки риб утворювали меланомacroфагальні центри, у жаб – меланомacroфагальні скупчення (рис. 3), у ящірки розташовувалися поодинокі. Їхня кількість збільшувалася в літній період, і тоді вони утворювали групи з 2–5 клітин. Визначені відмінності в отриманих нами показниках і літературних джерелах спонукали до аналогічних досліджень на територіях із різним антропогенним навантаженням. У сома під впливом радіонуклідів встановлено зменшення абсолютної маси селезінки на 6,5 %, відносної маси на 0,006 %, відносної площі білої пульпи на 4,11 % та збільшення відносної

площі опорно-скоротливого апарату на 1,39 %, відповідно відносна площа червоної пульпи збільшилась на 2,71 %; співвідношення білої пульпи до червоної становило 1:4,1, опорно-скоротливого апарату до паренхіми – 1:10,9. Під впливом побутових забруднювачів абсолютна маса селезінки жаби збільшується на 3,7 %, відносна – на 0,0024 %, відносна площа білої пульпи – на 6,39 %, відносна площа ОСА практично не зазнала змін, відповідно, відносна площа червоної пульпи зменшилась на 5,93 %. Найбільш виражені зміни зафіксовано у збільшенні відносної площі білої пульпи у ящірки зеленої (під впливом викидів в атмосферне повітря стаціонарними та пересувними джерелами; скидами стічних і зворотних вод; забруднення земельних ділянок відходами) на 14,7 %.

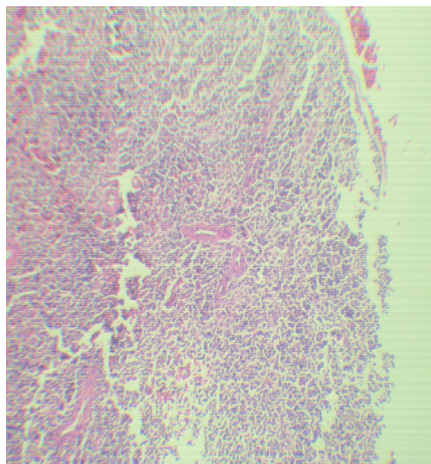


Рис. 2. Судини селезінки ящірки зеленої. Гематоксилін та еозин. $\times 56$

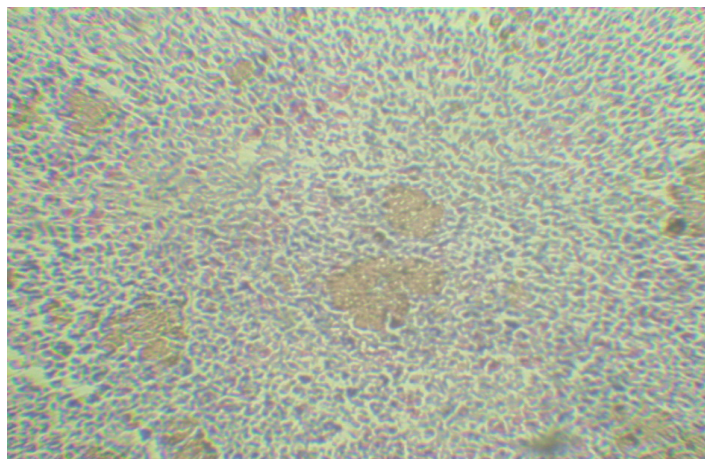


Рис. 3. Меланомакрофагальні скупчення в пульпі селезінки жаби озерної. Гематоксилін та еозин. $\times 80$

Таким чином, розглянуто особливість морфологічної будови селезінки пойкилотермних тварин (сом звичайний, жаба озерна, ящірка зелена). Встановлено, що відносна маса селезінки дорівнювала $0,086 \pm 0,0006$ % у сома, $0,1170 \pm 0,0215$ % у жаби та $0,099 \pm 0,021$ % у ящірки. Відносна площа опорно-скоротливого апарату становила $7,04 \pm 0,65$ %, $5,39 \pm 0,07$ %, $5,21 \pm 1,47$ % відповідно. Біла пульпа займала від $13,36 \pm 1,80$ % у ящірки до $22,14 \pm 6,61$ % у риб відносної площі селезінки. Співвідношення білої пульпи до червоної становило 1:3,2

(риба), 1:5,25 (жаба), 1:5,99 (ящірка). Дані значення доцільно використовувати як біомаркери у системі біомоніторингу довкілля та створенні оптимальних умов для гідробіонтів, оскільки під впливом антропогенного навантаження вони зазнають змін.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. *Акуленко Н. М.* Пігментні клітини як характерний елемент гемопоетичної системи наземних пойкилотермних хребетних: автореф. дис. ... канд. біол. наук: 03.00.08. К., 1998. 25 с.
2. *Боков Д. А.* Параметры функциональной морфологии селезёнки мелких млекопитающих и оценка условий перестройки системы крови и иммунитета при действии факторов газоперерабатывающего производства // Изв. Самар. науч. центра РАН. 2015. Т. 17. № 5(2). С. 327–332.
3. *Горальський Л. П., Хомич В. Т., Кононський О. І.* Основи гістологічної техніки і морфофункціональні методи досліджень у нормі та при патології: навч. посіб. Житомир: Полісся, 2005. 288 с.
4. *Горьшина Е. Н.* Кинетика обновления клеток крови и её сезонные изменения у травяной лягушки: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.00.11. Л., 1985. 27 с.
5. *Грушко М. П.* Клеточный состав кроветворных органов половозрелых самок представителей класса рыб, земноводных и пресмыкающихся: автореф. дис. ... д-ра биол. наук: 03.03.04. Астрахань, 2010. 44 с.
6. *Дунаєвська О. Ф.* Морфологічні зміни селезінки під впливом різноманітних чинників // Вісн. Харків. ун-ту. Сер. біол. 2016. Вип. 27. С. 106–124.
7. *Катаев С. В.* Мониторинг бентоса предгорной зоны реки Терек в условиях антропогенного воздействия: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.02.14. Владикавказ, 2013. 22 с.
8. *Мананникова М. Н.* Морфофункциональная характеристика прыткой ящерицы (*Lacerta agilis* L., 1758) южного Приуралья (Оренбургская область) // Уч. зап. Казан. ун-та. Естеств. науки. 2015. Т. 157. Кн. 1. С. 103–113.
9. *Николаев В. Ю.* Иммуногематологические характеристики амфибий и рептилий верхнего и среднего Поволжья в аутэкологическом аспекте: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.02.08. Нижний Новгород, 2016. 18 с.
10. *Пронина Г. И.* Физиолого-иммунологическая оценка культивируемых гидробионтов: карпа, сома обыкновенного, речных раков: автореф. дис. ... д-ра биол. наук: 03.03.01. М., 2002. 39 с.
11. *Романова Е. Б., Николаев В. Ю.* Иммунофизиологические характеристики популяций зелёных лягушек урбанизированной территории // Изв. Самар. науч. центра РАН. 2014. Т. 16. № 5(1). С. 616–622.
12. *Стирина Е. В.* Амфибии как биоиндикационная тест-система для экологической оценки водной среды обитания: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.00.16. Ульяновск, 2007. 28 с.
13. *Фунг Н. Д., Распопов В. М., Сергеева Ю. В.* Морфобиологическая характеристика заводской молоди осетра для формирования запасов // Вестн. АГТУ. Сер. Рыб. хоз-во. 2013. № 2. С. 191–196.
14. *Шейна Т. А.* Состав крови и содержание тяжёлых металлов в органах и тканях у трёх видов рыб в бассейне реки Кама : автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.02.08. Пермь, 2014. 20 с.
15. *Цепелева М. Л.* Сообщества донных беспозвоночных малых рек Вятка в условиях хозяйственной деятельности: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.02.08. Сыктывкар, 2013. 19 с.

16. Huang Y., Chain F. J. J., Panchal M. et al. Transcriptome profiling of immune tissues reveals habitat-specific gene expression between lake and river sticklebacks // *Mol. Ecol.* 2016. Vol. 25. P. 943–958. doi: 10.1111/mec.13520.

Стаття: надійшла до редакції 01.11.16

доопрацьована 29.05.17

прийнята до друку 20.09.17

THE MORPHOLOGICAL FEATURES OF THE SPLEEN IN POIKILOTERMIC ANIMALS

O. Dunaievskia

*Zhytomyr National Agroecological University
7, Old Boulevard, Zhytomyr 10008, Ukraine
e-mail: Oksana_Fd@ukr.net*

The bioindication method successfully used for integrated assessment of the ecological state of the environmental. Bioindicators are representatives of different classes of poikilothermic amniotes. The immune system of these animals is labile. The spleen which belongs the sanguification and the formation of the immune system is sensitive to various factors. The biomarkers are the morphological parameters, including the relative weight of the spleen and morphometric data the basic structural units. The macro- and microscopic features of the parenchyma, support-contractile apparatus, and lymphoid nodules are characterized in mature spleen poikilothermic vertebrates: wels catfish, marsh frog, green lizards of relatively clean from human contamination zone of Zhytomyr region. The relative weight of the spleen, the relative area of its components and the ratio between them are estimated. Relative spleen weight was $0,086 \pm 0,0006$ % in fish, $0,1170 \pm 0,0215$ % in frogs and $0,099 \pm 0,021$ % in lizards. Microscopic structure of the spleen characterized by clearly formed the red, white pulp and support-contractile apparatus. The support-contractile apparatus form the capsule and trabeculae. It is relative area was $7,04 \pm 0,65$ % of the fish, $5,39 \pm 0,07$ % in frogs and $5,21 \pm 1,47$ % in lizards. The trabecular apparatus is more development in fish, the relative proportion of which was 53,78 %. In frogs and lizards, by contrast, the relative proportion of the capsule was larger and amounted to 68,83 % and 85,61 % respectively. The fish have noted few capsular trabeculae; they are absent in frogs and lizards. The vascular trabeculae were best developed in all studied animals. In the white pulp allocate the lymphoid nodules and lymphoid sheath near the vessels. In nodules the light center is absent and singled out the zone near the vessels. The relative area of the white pulp was $22,14 \pm 6,61$ % in fish, $15,36 \pm 5,71$ % in frogs, $13,36 \pm 1,80$ % in lizards. The red pulp takes large areas of spleen: $70,82 \pm 10,76$ % in fish, $80,67 \pm 6,53$ % in frogs, $81,43 \pm 7,05$ % in lizards. The ratio of the white pulp to red was 1:3,2 (fish), 1:5,25 (frog), 1:5,99 (lizard); the ratio of the stroma to pulp – 1:13,2; 1:24,19; 1:18,19 respectively. The splenic pigment cells have formed the clusters in frogs and constituted centers in fish. The basic morphometric parameters of the spleen: relative weight, the relative area of white and red pulps, the contractile apparatus are change in areas with anthropogenic pressures. The morphological characteristics of the spleen are established as the main test criteria of the organ in normal; their changes will reflect the impact of the factors of different genesis. The parameters should consider for assessing the physiological state of fish and creating optimal conditions for the aquatic during their formation.

Keywords: spleen, morphology, biomarker, poikilothermic animals