

УДК 616.155.1

**НАРУШЕНИЯ МОРФОЛОГИИ ЭРИТРОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ
ОЗЁРНОЙ ЛЯГУШКИ *RANA RIDIBUNDA PALLAS, 1771***

© 2010 г.

О.В. Мунеева, А.К. Мунеев

Институт экологии Волжского бассейна РАН, г. Тольятти

ksukala@mail.ru

Поступила в редакцию 19.01.2010

Проанализированы морфологические изменения структуры клеток красной крови озёрной лягушки (*Rana ridibunda* Pallas, 1771) Саратовского водохранилища. Обнаружено 15 видов патологий эритроцитов, приводится их описание и показатели встречаемости у животных разного пола.

Ключевые слова: озёрная лягушка, патологии эритроцитов, Саратовское водохранилище.

Введение

Многообразие функций крови – одной из дифференцированных реактивных тканей – ставит её в ряд ценных индикаторов состояния особи. Любые физиологические реакции, определяющие способность организма реагировать и адаптироваться к раздражителям окружающей среды, осуществляются благодаря зрелым функционально активным клеткам лимфо- и гемопозеза [1]. Различные нарушения морфологической структуры клеток крови могут служить показателем неблагоприятного состояния среды обитания животных.

В системе комплексного биологического мониторинга водных экосистем всё чаще используются земноводные [1–6]. Большинство исследователей в качестве показателя степени загрязнённости водоёмов используют изменение лейкоцитарной формулы (лейкограммы) периферической крови амфибий. Вместе с тем эритроциты земноводных также весьма чувствительны к воздействию неблагоприятных факторов окружающей среды, в том числе к загрязнению.

Цель работы – изучение патологических изменений эритроцитов периферической крови озёрной лягушки Саратовского водохранилища.

Материал и методы

Отлов амфибий осуществляли в акватории Мордовинской поймы Саратовского водохранилища в период с апреля по октябрь 2008 г. Препараты крови фиксировали этанолом, затем окрашивали по методу Романовского – Гимза. Всего изготовлено 68 препаратов периферической крови озёрной лягушки, на каждом из которых

проводили подсчёт 400 эритроцитов. Статистическая обработка данных осуществлялась общепринятыми методами [7].

Результаты и их обсуждение

Воды Саратовского водохранилища постоянно содержат различного рода загрязнители. Характерными загрязняющими веществами являются соединения меди, фенолы, а также химическое потребление кислорода (ХПК). Вода оценивается как «очень загрязнённая» класса качества 3б [8]. Акватория Мордовинской поймы Саратовского водохранилища испытывает непосредственное влияние вод р. Чапаевка. Вода водохранилища в месте впадения этой реки оценивается как «загрязнённая» класса качества 3а. Характерными загрязняющими веществами являются соединения меди и марганца, ХПК и биологическое потребление кислорода (БПК₅). Несмотря на то, что в последние годы наблюдается некоторое снижение средних концентраций поллютантов в воде (соединений марганца до 6 ПДК, соединений меди до 3 ПДК, азота нитритного до 2 ПДК, фенолов до 2 ПДК, азота аммонийного и сульфатов до 1.2 ПДК), уровень загрязнения воды Саратовского водохранилища в исследованном районе остаётся высоким [8].

В литературе [5, 9] отмечается, что даже кратковременное пребывание амфибий в загрязнённой воде приводит к уменьшению количества гемоглобина и эритроцитов, а также изменению формы и размеров эритроцитов. С увеличением дозы токсикантов возрастают количество патологических изменений клеток крови и процент животных, у которых они наблюдаются.

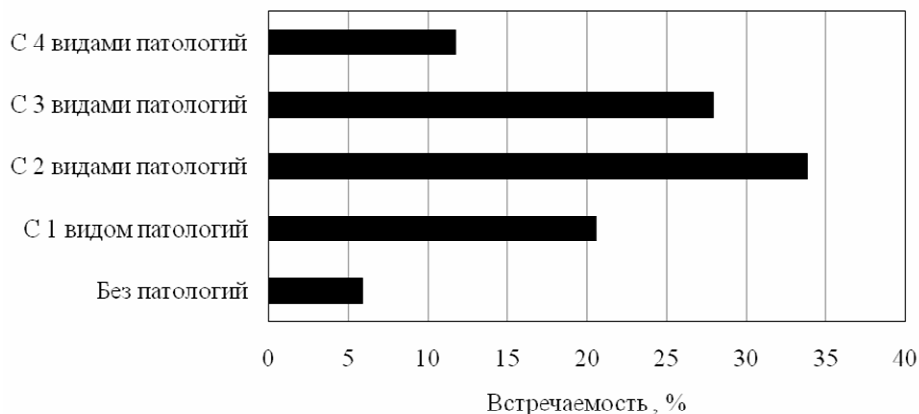


Рис. Встречаемость озёрных лягушек с патологиями эритроцитов

Наши исследования показали, что в условиях Саратовского водохранилища лишь у 5.88% озёрных лягушек эритроциты не имели патологий (рисунок). У 20.59% амфибий обнаружены эритроциты с каким-либо одним видом патологии. В крови 33.82% животных наблюдали эритроциты с 2-мя различными видами нарушений морфологии. Клетки красной крови с 3-мя видами патологий отмечены у 27.94% озёрных лягушек, а 11.76% амфибий имели эритроциты с 4-мя различными видами патологий. Такие значительные отклонения в морфологии клеток эритроидного ряда свидетельствуют о высоком уровне влияния неблагоприятных факторов (в том числе и загрязняющих веществ) на организм амфибий.

Гематологические исследования рыб, проведённые в этом же районе, показали сходные результаты [10]. Обследование рыб шести видов (карповые, окунь, головешка-ротан, бычок-кругляк) выявило, что лишь 8.53% особей не имели эритроцитов с патологиями, один вид патологий отмечен в крови 48.84% рыб, у 42.64% рыб зарегистрировано два и более вида нарушений клеток красной крови.

Нами обнаружены следующие нарушения морфологии эритроцитов периферической крови озёрной лягушки Саратовского водохранилища (описание патологий №№ 2–4, 8, 10, 12–14 даны по [11, 12]):

1. Деформация клетки. Вместо нормальной эллипсоидной эритроцит имеет неправильную форму при размерах, соответствующих норме.

2. Кариолизис. Растворение части ядра при сохранении нормальной структуры оставшейся части. Контуры ядра нечёткие, размытые.

3. Пристеночное ядро. Ядро располагается не в центре, как в нормальной клетке, а смещено к краю цитоплазмы, иногда ядро соприкасается с оболочкой.

4. Вакуолизация. Во время наших исследований обнаружена только вакуолизация цитоплазмы. Вакуоли, как правило, единичны, их размер варьирует.

5. Деформация ядра. Ядро имеет неправильную форму при сохранении нормальных размеров. Структура хроматина ядра и размеры самой клетки также соответствуют норме.

6. Два ядра. Внутри нормальной по размерам клетки находится 2 ядра. Размеры и форма ядер не соответствуют норме, тогда как структура хроматина визуально обнаруживаемых отклонений не имеет.

7. Каплевидная деформация. Эритроцит имеет форму капли, вытянутой и заострённой с одного полюса и нормальной округлой с другого. Ядро имеет нормальную форму и структуру.

8. Сморщивание клетки. Клетка уменьшается в размерах, что сопровождается образованием глубоких складок в оболочке.

9. Веретеновидная деформация клетки. Клетка имеет заострённую форму с противоположных полюсов, при этом ширина её уменьшена, в результате чего клетка по форме напоминает веретено.

10. Вздутие клетки. Клетка сильно увеличена в размере. Часто между цитоплазмой и оболочкой виден просвет. Вздутие клеток может сопровождаться вакуолизацией.

11. Раздвоение ядра. Ядро эритроцита находится в стадии деления, что не характерно для состояния нормы. Хроматин исходного ядра разделен на 2 части и соединён перемычкой различной степени выраженности.

12. Шистоцитоз (цитоллиз, лизис). Распад клетки. Ядро теряет свою обычную структуру, контуры его расплывчатые. Цитоплазма часто отсутствует. Оболочка клетки сморщена и с разрывами.

Таблица 1

Встречаемость амфибий с различными патологиями клеток крови

Вид клеточной патологии	Встречаемость, %
Деформация клетки	70.59±5.57
Кариолизис	35.29±5.84
Пристеночное ядро	25.00±5.29
Вакуолизация	23.53±5.18
Деформация ядра	19.12±4.80
2 ядра	8.82±3.46
Каплевидная деформация	8.82±3.46
Сморщивание клетки	7.35±3.19
Веретеновидная деформация	5.88±2.87
Вздутие клетки	4.41±2.51
Раздвоение ядра	2.94±2.06
Шистоцитоз	2.94±2.06
Пикноз	1.47±1.47
Кариорексис	1.47±1.47
Фестончатые края	1.47±1.47

Таблица 2

Встречаемость патологий эритроцитов у самцов и самок озёрной лягушки

Вид клеточной патологии	Самцы, n = 32	Самки, n = 36
Деформация клетки	81.25±7.01	61.11±8.24
Кариолизис	40.63±8.82	30.56±7.79
Пристеночное ядро	25.00±7.78	25.00±7.32
Вакуолизация	21.88±7.43	25.00±7.32
Деформация ядра	15.63±6.52	22.22±7.03
2 ядра	6.25±4.35	11.11±5.31
Каплевидная деформация	3.13±3.13	13.89±5.85
Сморщивание клетки	9.38±5.24	5.56±3.87
Веретеновидная деформация	3.13±3.13	8.33±4.67
Вздутие клетки	–	8.33±4.67
Раздвоение ядра	3.13±3.13	2.78±2.78
Шистоцитоз	6.25±4.35	–
Пикноз	3.13±3.13	–
Кариорексис	–	2.78±2.78
Фестончатые края	–	2.78±2.78
Всего видов патологий	12	13

13. Пикноз. Уплотнение базихроматина ядра. Ядро при этом становится тёмным, бесструктурным. Размер клетки уменьшается.

14. Кариорексис. При сохранении ядерной оболочки происходит распад ядра на отдельные части различной величины. При этом формируются не связанные между собой округлые, бесструктурные образования.

15. Фестончатые края. Оболочка клетки имеет ряд округлых выпячиваний и впадин при нормальных размерах эритроцита и его ядра. Данную патологию следует отличать от сморщивания клетки.

В табл. 1 приведены данные по встречаемости отдельных видов нарушений морфологии эритроцитов крови озёрной лягушки Саратов-

ского водохранилища. Чаще всего обнаруживаются такие патологии, как деформация клетки и кариолизис. Довольно часто встречаются деформация ядра, пристеночное ядро и вакуолизация цитоплазмы эритроцитов. Такие патологии клеток красной крови, как шистоцитоз, раздвоение ядра, два ядра, вздутие клетки, сморщивание клетки, а также веретеновидная и каплевидная деформации регистрируются редко. Пикноз, кариорексис и фестончатые края оболочки эритроцитов обнаружены единично.

Для эритроцитов периферической крови рыб Саратовского водохранилища также описано 15 различных видов нарушений морфологии [10]. 12 видов патологий клеток красной крови являются общими для рыб и амфибий.

Нами изучена встречаемость нарушений морфологии эритроцитов у особей озёрной лягушки разного пола (табл. 2). Такие патологии, как вздутые клетки, кариорексис и фестончатые края оболочки клетки обнаружены только у самок, а шистоцитоз и пикноз – только у самцов амфибий. Однако данное отличие зарегистрировано за счёт нарушений, фиксируемых редко или единично (табл. 1).

10 видов патологий эритроцитов найдены у животных обоего пола. Только для одного вида нарушений (деформация клетки) обнаружены статистически достоверные различия в показателе встречаемости у самцов и самок лягушек. Встречаемость остальных видов патологических изменений эритроцитов не зависит от пола амфибий (табл. 2).

Заключение

Обнаруженные морфологические нарушения эритроцитов периферической крови озёрной лягушки обусловлены, по всей видимости, гемотоксичным действием основных загрязнителей вод Саратовского водохранилища. Высокая встречаемость патологий эритроцитов может свидетельствовать о степени загрязнённости водоёма.

Мы считаем, что подобные нарушения морфологии клеток крови амфибий весьма перспективно использовать в качестве одного из элементов в системе комплексного биологического мониторинга водных экосистем, надёжного критерия степени токсичности или нетоксичности водной среды.

Список литературы

1. Романова Е.Б. Гематологические аспекты механизмов адаптации природных популяций зелёных

лягушек в условиях антропогенного средового стресса // Актуальные проблемы герпетологии и токсикологии: Сб. науч. трудов. Тольятти, 2005. Вып. 8. С. 169–176.

2. Чернышова Э.В., Старостин В.И. Периферическая кровь лягушек рода *Rana* – тест-система для оценки окружающей среды // Изв. РАН. Сер. биол. 1994. № 4. С. 656–660.

3. Леонтьева О.А., Семёнов Д.В. Земноводные как биоиндикаторы антропогенных изменений среды // Успехи совр. биол. 1997. Т. 117. № 6. С. 726–736.

4. Жукова Т.И., Пескова Т.Ю. Реакции крови бесхвостых амфибий на пестицидное загрязнение // Экология. 1999. № 4. С. 288–292.

5. Пескова Т.Ю. Влияние антропогенных загрязнений среды на земноводных. Волгоград: Изд-во ВГУ, 2001. 160 с.

6. Пескова Т.Ю. Адаптационная изменчивость земноводных в антропогенно загрязнённой среде. Дис. ... д-ра биол. наук. Тольятти, 2004. 284 с.

7. Лакин Г.Ф. Биометрия. М.: Высшая школа, 1990. 352 с.

8. Государственный доклад о состоянии окружающей среды и природных ресурсов в Самарской области в 2007 году. Самара, 2008. Вып. 18. 314 с.

9. Вафис А.А., Пескова Т.Ю. Влияние сточных вод сахарных заводов на гематологические показатели озёрной лягушки *Rana ridibunda* // Актуальные проблемы герпетологии и токсикологии: Сб. науч. трудов. Тольятти, 2007. Вып. 10. С. 21–25.

10. Минева А.К. Морфологический анализ и патологические изменения структуры клеток крови у рыб Саратовского водохранилища // Вопр. ихтиол. 2007. № 1. С. 93–100.

11. Иванова Н.Т. Атлас клеток крови рыб. М: Лёгкая и пищевая пром-сть, 1983. 184 с.

12. Житенёва Л.Д., Рудницкая О.А., Калюжная Т.И. Эколого-гематологические характеристики некоторых видов рыб. Справочник. Ростов на Дону: АзНИИРХ, 1997. 149 с.

MORPHOLOGY DEFECTS IN PERIPHERAL BLOOD ERYTHROCYTES OF LAKE FROG *RANA RIDIBUNDA* PALLAS, 1771

O.V. Mineeva, A.K. Mineev

Morphological changes of red blood cell structure of the lake frog (*Rana ridibunda* Pallas, 1771) of the Saratov Reservoir have been analyzed. 15 types of erythrocyte pathologies have been found; their description and occurrence indices for animals of different genders are given.

Keywords: lake frog, erythrocyte pathologies, Saratov Reservoir.