

УДК 615.9 : 597.583.1

ВЛИЯНИЕ ТОКСИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ НА СЕГОЛЕТКОВ ПОЛОСАТОГО ОКУНЯ
(*Morone saxatilis* Mitchell)

Т.П.Стребкова

С 1965 г. лаборатория акклиматизации ВНИРО ведет работы по вселению в бассейны Азовского и Черного морей полосатого окуня (*Morone saxatilis* Mitchell) — одного из наиболее ценных промысловых видов, принадлежащих к семейству морских окуней (*Serranidae*). В Советский Союз из США поступают 30-дневные мальки, которые затем подращиваются в прудах в течение 3-4 мес. Основная база подращивания — г.Азов.

На протяжении нескольких лет разрабатывалась и совершенствовалась биотехника выращивания жизнестойких сеголетков, устанавливались наиболее эффективные плотности посадки, определялись пищевые рационы и физиологические нормативы полосатого окуня.

В 1972-1973 гг. усилившееся загрязнение Дона промышленными и бытовыми стоками изменило привычный ход нашей работы. Токсические вещества вызвали массовое заболевание и гибель рыб.

При сложившихся условиях основной задачей нашего эксперимента было изучение изменения некоторых физиологических показателей полосатого окуня.

Среди физиологических методов значительная роль принадлежит гематологическому анализу. Кровь принимает активное участие во всех жизненных отправлениях и отражает многие отклонения от нормы, происходящие в организме под влиянием условий содержания.

Эксперименты проводили на сеголетках полосатого окуня. Изучали концентрацию гемоглобина и гематокрит, подсчитывали количество эритроцитов, лейкоцитов и тромбоцитов в капле

крови, определяли лейкоцитарную формулу (Голодец, 1955). Кровь брали из хвостовой вены при помощи стерильной пастеровской пипетки. Количество эритроцитов и лейкоцитов подсчитывали в камере Горяева. Мазки красили по способу Паппенгейма в день приготовления. Лейкоцитарную формулу определяли подсчетом отдельных форм лейкоцитов в поле 200 клеток. Концентрацию гемоглобина устанавливали гемометром Сали, соотношение плазмы и форменных элементов крови — при помощи гематокритной пробирки, которую после заполнения кровью уравнивали и центрифугировали 30 мин. при 3000 об./мин. Для характеристики изменения интенсивности обмена определяли скорость потребления кислорода и кислородный порог по методике Н.С. Строганова (1962).

В первые два-три дня после попадания в пруды загрязненных донских вод внешних признаков заболевания у рыб не отмечалось. Однако ухудшение условий содержания вызвало у сеголетков различные эритроцитарные нарушения.

Эритроциты набухали и округлялись (за счет увеличения малого или уменьшения большого диаметра). Соотношение сторон зрелых эритроцитов в пик заболевания составляло 1:1,650, тогда как у здоровых рыб это соотношение равно 1:1,896 и даже 1:2,120. В клетках крови больных рыб преобладали круглые, незрелые эритроциты.

Эритроциты принимали нетипичную форму (вытянутую или угловатую) и находились в состоянии пойкилоцитоза (рис. 1).

Некоторые авторы (Житенева, 1971) склонны считать полиморфизм эритроцитов признаком нарушения деятельности органов кроветворения. На наш взгляд, это явление компенсаторное, вызванное необходимостью увеличения поверхности эритроцитов. Известно, что связь гемоглобина с кислородом находится в большей зависимости от поверхности, чем от объема эритроцитов. В данном случае намечается явная тенденция к увеличению поверхности за счет изменения формы эритроцита. Изменение формы эритроцитов происходит в результате потери эластичности, что является следствием нарушения структуры липоидно-белкового комплекса, который определяет форму и функциональные возможности эритроцитов (Коржув, 1964).

Эритроциты были неравномерно окрашены (анизохромия), что свидетельствовало о неравномерном распределении гемоглобина в клетке.

В некоторых случаях наблюдалось amitotическое деление ядра эритроцита (рис.2). Такое явление одни исследователи считают дегенеративным, а другие - нормальным, возникающим довольно часто при определенных условиях.

Был отмечен анизоцитоз (рис.3) - появление в крови красных кровяных телец разного диаметра. Анизоцитоз обычно служит показателем функциональной недостаточности кроветворных органов и рассматривается как дегенеративное явление.

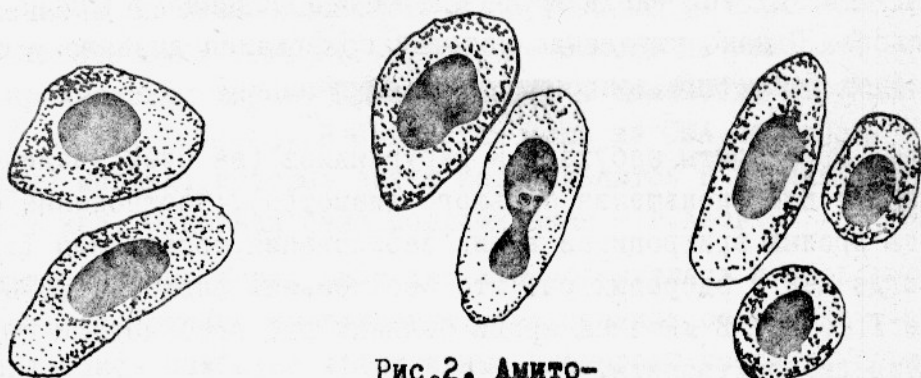


Рис.1. Пойкилоцитоз эритроцитов

Рис.2. Амито-
тическое
деление
ядра эри-
троцитов

Рис.3. Анизоцитоз эритроцитов

Видимого нарушения в структуре ядерного вещества пока не наблюдалось. Все перечисленные изменения в красной крови можно обнаружить у рыб при неблагоприятных абиотических условиях (снижение содержания кислорода, повышение или понижение температуры, кормление рыб неполноценными кормами). Поэтому все эти изменения, на наш взгляд, являются компенсаторными, помогающими рыбам приспособиться к тем или иным неблагоприятным условиям.

Длительное воздействие токсических веществ приводит к ухудшению состояния организма, выражающемуся в более сильном разрушении эритроцитов. Появляются эритроциты с зубчатыми краями и большими просветами в цитоплазме (рис.4а) и большое число тромбоцитов (до 620 на 200 лейкоцитов).

Попытаемся объяснить такое высокое содержание тромбоцитов. Вплоть до последних лет основной функцией кровяных пластинок считалось их участие в свертывании крови. Между тем, помимо коагуляционной функции, тромбоциты несут дыхательную, транспортную и главным образом фагоцитарную функции (Маркосян, 1970). В связи с этим становится понятным появление в большом количестве тромбоцитов - носителей защитной функции организма. Благодаря защитной реакции увеличивается сопротивляемость организма токсическим веществам.

Кровь имела лимфоидный характер. Количество лимфоцитов - 90-98%, моноцитов - 2-5%, полиморфноядерных - 0,5-5%. Небольшое количество лейкоцитов в крови подопытных рыб свидетельствовало о развитии лейкопении. Вместе с тем содержание гемоглобина у рыб в токсических условиях оставалось в пределах 6-8,8г%, а эритроцитов - 1,870-4,600 млн/мм³, т.е. практически не отличалось от нормы. Изменений внутренних органов на этой стадии заболевания не отмечено.

Качественные изменения форменных элементов крови проявляются и обнаруживаются значительно раньше количественных. Однако опыты показали, что нарушения в системе крови быстро восстанавливаются. Так, если вовремя отсадить рыб в свежую воду, начавшийся процесс изменения и разрушения эритроцитов может быть обратимым.

С повышением концентрации токсических веществ патологические изменения крови достигали наивысшей степени. Эритроциты находились на разных стадиях разрушения. Отмечалась вакуолизация цитоплазмы (рис.4б). Под действием ядохимикатов повышалась проницаемость оболочки, что приводило к потере гемоглобина. Выход гемоглобина из кровяных клеток выглядел по-разному.

В одних случаях оболочка и содержимое цитоплазмы изливалось в окружающую среду по всей поверхности клетки. Такие эритроциты окрашивались в бледно-розовый и серый цвета. Некоторые совсем теряли гемоглобин и на фоне интенсивно окрашенной плазмы крови казались бесцветными. Несмотря на значительную потерю гемоглобина относительная целостность клетки еще сохранялась.

В других случаях оболочка эритроцитов растворялась полностью на отдельных участках, и эритроциты принимали вид серповидных обломков (рис.4в). При окончательном некрозе эри-

троцитов освобождалось большое количество ядер, иногда ими бывало занято все поле зрения микроскопа (рис.4г).

Подобное явление, очевидно, связано с понижением резистентности эритроцитов, определяющейся прочностью клеточной оболочки, которая подвергается воздействию химических факторов внутри сосудов. Кроме того, снижение резистентности эритроцитов можно объяснить омоложением их состава. Так, в периферической крови заболевших рыб количество молодых клеток доходило до II%, тогда как у здоровых оно составляло всего I,5%. Оживление эритропоэза в свою очередь было связано с разрушением зрелых эритроцитов.

У некоторых рыб происходило тотальное разрушение форменных элементов крови. Кровь наполнялась осколками разрушенных клеток (шистоцитами). Вместе с тем начинался распад ядерного вещества. Этот процесс разрушения шел двумя путями.

В одних случаях при разрушении эритроцитов их ядра набухали, становились гомогенными, слабо окрашивались. Одновременно они смещались к периферии клетки и выталкивались наружу. Оставшаяся без ядра цитоплазма теряла гемоглобин и не поддавалась окрашиванию. Набухание ядра продолжалось, и оно превращалось в расплывчатую тень (рис.4д). При микроскопическом исследовании крови было отмечено большое количество теней, показывающих, что клетки красной крови подвергались массовому гемолизу.

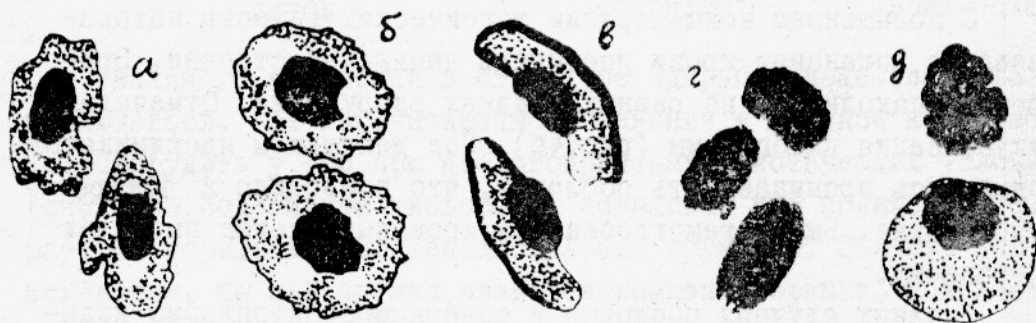


Рис.4. Разрушение эритроцитов:

а - эритроциты с зубчатыми краями и просветами в цитоплазме; б - вакуолизация цитоплазмы; в - эритроциты, представляющие собой серповидные обломки; г - освободившиеся ядра эритроцитов; д - распад ядерного вещества эритроцитов

В других случаях растворялась оболочка ядра и ядерное вещество, расплываясь, заполняло строму эритроцита (см. рис.4д).

Помимо эритроцитарных нарушений, наблюдались изменения в лейкоцитарной картине крови. По-прежнему отмечалась лейкопения. Содержание лейкоцитов колебалось от 93 до 26%, чаще всего составляя 26-30%. Доля моноцитов достигала иногда 74%, полиморфноядерные составляли от 1 до 16%. Моноциты вакуолизировались. Поглощая слишком большое количество осколков эритроцитов, они не были способны растворить их и сами при этом разрушались и погибали. Лейкоциты, очевидно, обладают большей резистентностью, чем эритроциты, поэтому разрушаются гораздо позже эритроцитов.

Тромбоциты при высоком содержании токсических веществ исчезают (тромбопения). Отмечены их качественные изменения. Наблюдалось амитотическое деление тромбоцитов (рис.5). Вместе с обычными округлыми или овальными встречались хвостатые (рис.6), изогнутые клетки (пойкилоцитоз). Морфологические изменения тромбоцитов всегда связаны с нарушением функций. Качественные изменения тромбоцитов являются более чувствительными показателями для определения состояния рыбы, чем изменения лейкоцитов.

Встречалось два рода атипичных недифференцированных безядерных клеток. Одни из них представляли собой клетки с нитчатой субстанцией (рис.7а), другие - с зернистой (рис.7б). Последние напоминают гемоглобиновую дегенерацию Эрлиха^х, наблюдающуюся у человека и теплокровных животных при различных анемиях, особенно при отравлении кровяными ядами, такими как фенилгидразин, анилин, пикриновая кислота.

Кровь была жидче, чем обычно, имела бледно-розовый цвет и свертывалась значительно медленнее. Последнее, очевидно, связано с недостатком тромбоцитов.

У рыб развивалась острая форма анемии, признаки которой отчетливо были видны уже при визуальном осмотре рыб. На различных участках поверхности тела имелись кровоизлияния,

^хНеравномерное распределение гемоглобина в эритроцитах в результате процессов, ведущих к коагуляции и скупиванию гемоглобина, клетки крови при этом имеют вид более интенсивно окрашенных глыбок, телец, гранул.

язвы. Паренхиматозные органы перерождались. Но даже у некоторых явно больных рыб концентрация гемоглобина колебалась от 5 до 6,7 г%, а содержание эритроцитов - от 1,650 до 2,960 млн./мм³.



Рис.5. Амито-
тическое
деление
тромбоци-
тов

Рис.6. Хвостатые
тромбоци-
ты

Рис.7. Клетки с нитчатой(а)
и зернистой (б)
субстанцией

Довольно высокое количество эритроцитов поддерживалось за счет патологической активации деления клеток. Если амитотически делящиеся эритроциты в норме встречались редко, то под влиянием загрязнения воды амитозы кровяных красных клеток были обычным явлением.

У большинства рыб количественные показатели крови резко снизились. Концентрация гемоглобина составляла 2 г% и менее, количество эритроцитов - 0,900-0,340 млн./мм³. Упал до 5% и даже до нуля показатель гематокрита, который у здоровых рыб составлял 40-50%. Понижение гематокритной величины обусловлено разрушением эритроцитов, значительным уменьшением массы и объема красных кровяных телец.

Во многих случаях сделать и просмотреть мазок не удалось из-за полного гемолиза и разрушения эритроцитов.

Таким образом, внешне отравление рыб долгое время остается незаметным, тогда как морфология клеток крови меняется с момента соприкосновения рыб с токсическим веществом. Поэтому определить токсичность среды можно прежде всего по качественному изменению форменных элементов крови, которое впоследствии приводит к анемии.

Эритроциты - важнейшие носители гемоглобина - лабильного компонента крови, характеризующего дыхательную функцию. Поэтому наряду с прогрессирующим разрушением эритроцитов, уменьшением концентрации гемоглобина, количества эритроцитов

и гематокритной величины происходило снижение интенсивности дыхания, что свидетельствовало об угнетении деятельности дыхательного центра. Интенсивность дыхания у больных рыб была в 1,7 раза ниже, а кислородный порог в 4 раза выше, чем у здоровых.

В результате разрушающего действия ядов на оболочки красных кровяных шариков гемоглобин из эритроцитов переходит в плазму, что сильно снижает способность крови переносить кислород тканям, и рыбы погибают от удушья несмотря на нормальное насыщение кислородом воды.

З а к л ю ч е н и е

Интоксикацию рыб при отсутствии ее внешних признаков можно установить по изменению картины крови. Вначале происходят качественные изменения эритроцитов: пойкилоцитоз (разная форма эритроцитов), анизоцитоз (разная величина эритроцитов), анизохромия (неравномерное окрашивание цитоплазмы), изменение формы ядра эритроцита и его amitotическое деление. Затем возникает гемолиз эритроцитов, выражающийся в гипохромии (частичное или полное обесцвечивание цитоплазмы) и вакуолизации цитоплазмы, при относительной целостности клетки. При окончательном некрозе красных кровяных клеток освобождается большое количество ядер эритроцитов. Начинается распад ядерного вещества, появляется большое количество ядерных телец. Отмечается шистоцитоз (появление осколков эритроцитов). Только после этих глубоких нарушений обнаруживаются количественные изменения - лейкопения и тромбоцитоз, который в скором времени сменяется тромбопенией. Одновременно идет разрушение моноцитов, выражающееся в вакуолизации цитоплазмы и шистоцитозе. Глубокие качественные изменения эритроцитов приводят к уменьшению их количества, к снижению концентрации гемоглобина и гематокритной величины. Наряду с прогрессирующим разрушением эритроцитов повышается кислородный порог и снижается интенсивность дыхания.

Л и т е р а т у р а

- Г о л о д е ц Г.Г. Лабораторный практикум по физиологии рыб. М., Пищепромиздат, 1955, 90 с.
- Ж и т е н е в а Л.Д. Состав крови девятииглой колюшки *Pungitius pungitius* (L.) в условиях неблагоприятного кислородного режима. "Вопросы ихтиологии", 1971, т. II, вып. 3, с. 509-517.
- К о р ж у е в П.А. Гемоглобин. М., "Наука", 1964, 285 с.
- М а р к о с я н А.А. Физиология тромбоцитов. Л., "Наука", 1970, 164 с.
- С т р о г а н о в Н.С. Методика определения дыхания у рыб. - "Руководство по методике исследований физиологии рыб", М., 1962, с. 35-95.

Effect of toxic substances on one-summer-old striped bass (*Morone saxatilis* Mitchill)

T.P. Strebkova

S u m m a r y

When one-summer-old striped bass are brought in a toxic medium the quality of erythrocytes changes immediately resulted in poikilocytosis, anisocytosis, anisochromia, hypochromia and vacuolization of cytoplasm. Then the nuclear substance starts disintegrating. When erythrocytes are destructed, leucopenia and thrombocytosis start developing followed by thrombopenia. At the same time monocytes also disintegrate which is expressed by vacuolization of cytoplasm.

The deep qualitative changes in erythrocytes result in a lower concentration of haemoglobin, a smaller number of erythrocytes and a lower hematocrit value.