

Так, у особей озерной лягушки из м-на Чихайдарово выявлены наибольшие площади скопления меланина в ММЦ печени, по сравнению с таковыми в печени амфибий из водоема на территории ГПЗ «Большая Кокшага» пос. Шушер ($p = 0,019$). Действительно при морфологическом описании срезов печени у особей из местообитания пос. Чихайдарово были визуально отмечены многочисленные и обширные скопления пигментов, что и подтвердилось статистически.

В ходе нашего исследования был проведен корреляционный анализ по установлению взаимосвязи между размерами площади, занимаемой гемосидерином и меланином (у. е.). Нами была установлена положительная корреляция, однако, значение коэффициента корреляции здесь минимально ($r = 0,067$), и, следовательно, им можно пренебречь.

На следующем этапе нами была сделана попытка анализа корреляционных связей между изученными параметрами амфибий (площади меланина, гемосидерина и количество ММЦ), находящихся в отдельных местообитаниях.

В результате исследований не было выявлено никаких взаимосвязей между содержанием гемосидерина и количеством ММЦ в печени амфибий из всех изученных локалитетов. Однако была установлена положительная взаимосвязь между площадью меланина и количеством ММЦ в поле зрения у амфибий из водоемов пгт. Краснооктябрьский ($r = 0,89$; $p < 0,05$), пос. Ильинка ($r = 0,63$; $p < 0,05$), м-на Чихайдарово ($r = 0,68$; $p < 0,05$). У амфибий из остальных изученных местообитаний аналогичных корреляционных связей не установлено.

Так как меланомacroфаги участвуют в фагоцитарной функции [Paunescu et al., 2010], их чрезмерное накопление может свидетельствовать о протекании реакций воспаления в организме, возможно, это результат негативного влияния загрязненного местообитания, где живут эти амфибии. ММЦ отводится важная роль в участии обмена железа в организме, так как они являются местом утилизации разрушающихся клеток, которые содержат ферритин и гемосидерин [Agius, Roberts, 2003]. Меланин может накапливать различные металлы [Henninger, Beresford, 1990], возможно, что накопление меланина связано с воздействием на организм тяжелых металлов. Следует обратить внимание, что в печени амфибий, отловленных в «условно чистом» местообитании, отсутствует подобная корреляционная связь. По-видимому, в условиях урбанизированной среды, при действии антропогенного пресса в печени амфибий имеют место компенсаторные реакции адаптивного характера, что проявляется формированием новых ответных реакций в виде положительной взаимосвязи между содержанием меланина и количеством ММЦ, что, возможно, способствует большей устойчивости организмов или компенсирует одну из утраченных функций органа. Данное предположение, безусловно, требует дальнейшей проверки.

Литература

- Автандилов Г. Г., Яблунчанский Н. И., Губенко В. Г. 1981. Системная стереометрия в изучении патологического процесса. М.: Медицина. 192 с. Акулёнок Н. М. 2010. Дополнительные возможности регенерации печени бесхвостых амфибий в условиях антропогенного загрязнения // Вестник морфологии. № 16. С. 147–149. Алтуфьев Ю. В., Белова Я. В., Воробьев В. И. 2013. Органный уровень патологии озерной лягушки различных регионов астраханской области // Естественные науки. № 4 (45). С. 65–72. Белова Я. В., Алтуфьев Ю. В., Алтуфьева Н. С. 2008. Эколого-гистологическое исследование печени озерной лягушки (*Rana ridibunda*) в условиях естественного обитания и при экзотоксикозе // Естественные науки. Т. 22, № 1. С. 37–41. Ведерников А. А., Дробот Г. П. 2011. Патологические изменения в органах лягушки озерной (*Rana ridibunda* Pall.) в условиях обитания на урбанизированной территории // Современные проблемы анатомии, гистологии и эмбриологии животных. Казань: Издательство «Казанский университет». С. 18–23. Горышнина Е. Н., Чаза О. Ю. 1990. Сравнительная гистология тканей внутренней среды с основами иммунологии. Л.: Изд-во Ленингр. ун-та. 320 с. Дробот Г. П., Маузликеева Д. Р., Ведерников А. А. 2014. Гисто-морфометрическая характеристика легкого лягушки озерной (*Rana ridibunda* Pall., 1771) в условиях антропогенной нагрузки // Теоретические и прикладные аспекты современной науки: сборник научных трудов по материалам III Международной научно-практической конференции 30 сентября 2014 г. Белгород: ИП Петрова М. Г. (АПНИ). Ч. II. С. 48–53. Меркулов Г. А. 1969. Курс патологической техники. Л.: Медицина. 423 с. Пястолова О. А., Трубецкая Е. А. 1989. Некоторые морфологические и цитологические особенности печени сеголеток *Rana arvalis* в условиях техногенного ландшафта // Экология. № 5. С. 56–60. Спирина Е. В., Романова Е. М., Спирина Т. А. 2011. Оценка стабильности развития и цитогенетического гомеостаза в популяциях *Rana ridibunda* Pall. Ульяновской области // Известия Самарского научного центра РАН. Т. 13, № 1. С. 123–126. Agius C., Roberts R. J. 2003. Melano-macrophage centres and their role in fish pathology // Journal of Fish Diseases. Vol. 26. P. 499–509. Henninger J. M., Beresford W. A. 1990. Is it coincidence that iron and melanin coexist in hepatic and other melanomacrophages? // Histology and histopathology. Vol. 5. P. 457–459. Paunescu A., Ponopal C., Draghici O. 2010. Histopathological responses of the liver tissues of *Rana ridibunda* to the champions 50 WP fungicide // Annals: Food Science and Technology. Vol. 11. P. 60–64.

ГИСТОМОРФОЛОГИЧЕСКОЕ И ГИСТОХИМИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ЛЕГОЧНОЙ ТКАНИ ЗЕЛЕННЫХ ЛЯГУШЕК РОДА *PELOPHYLAX*

М. Н. Сидушкина, Г. П. Дробот, А. О. Свиинин, А. А. Ведерников, Т. Н. Рябчикова
Марийский государственный университет, Йошкар-Ола, Россия, sidushkina2013@gmail.com

В связи с нарастающим влиянием антропогенных факторов на живые организмы [Дробот, Ведерников, 2011; Алтуфьев, 2013] необходимо проводить регулярный мониторинг окружающей среды. При биоиндикационных исследованиях часто в качестве тест-объектов используют амфибии, так как они обитают на границе раздела двух сред — водной и наземной, характеризуются приуроченностью к местообитаниям,

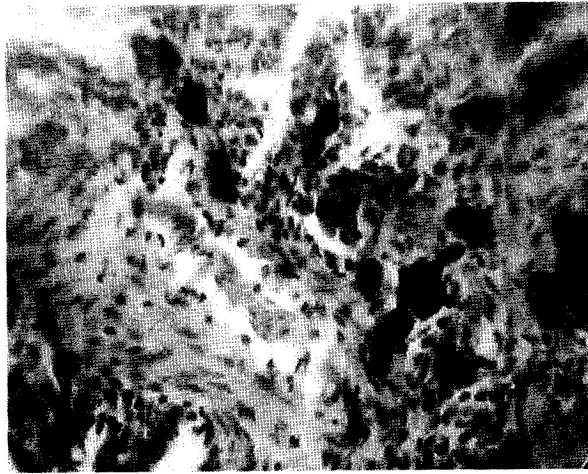


Рис. 1. Кровоизлияние в просвет альвеолы

довая, *Pelophylax lessonae* (Camerano, 1882) и съедобная, *Pelophyla xesculentus* (Linnaeus, 1758). Отлов особей был произведен в летний период 2017 года на различных территориях Республики Марий Эл. Общее количество особей составило 123 особи. Исследованные местообитания были разделены на «условно загрязненные» и «условно чистые». К «условно загрязненным» местообитаниям были отнесены водоемы на территориях пос. Кугуван, пос. Ильинка, пгт. Краснооктябрьский, пос. Нолька, пгт. Медведево, г. Йошкар-Олы (микрорайон «Чихайдарово» и лесопарк «Сосновая роща»), а к «условно чистым» — водоемы на территории Государственного природного заповедника (ГПЗ) «Большая Кокшага» (пос. Шушер, 60 км от г. Йошкар-Олы). Предварительная оценка полученных данных с учетом пола животных не выявила полового диморфизма, поэтому в дальнейшем анализе всех данных вели без учета пола.

Исследование структуры легкого проводили на гистологических срезах, изготовленных по классическим методикам; гистохимически в тканях легкого выявляли гемосидерин и меланин [Меркулов, 1969]. Для подсчета мелано-макрофагальных центров (ММЦ) и площадей легочной паренхимы и стромы использовали сетку Автандилова [Автандилов, 1981]. Исследовали по 30 полей зрения каждого гистологического препарата у отдельной особи и подсчитывали среднее арифметическое этих значений. Впоследствии рассчитывали коэффициент отношения площади паренхимы к площади стромы, выражая его в условных единицах (у. е.). Для статистической обработки результатов применяли программу Statistica 8.0 (StatSoft-Inc.).

При изучении морфологии легочной ткани у амфибий из водоемов обследованных урбанизированных территорий было выявлено диффузное кровенаполнение сосудов. В ряде случаев наблюдались ярко выраженные очаги эритростазов, мелкоочаговые кровоизлияния (рис. 1).

Как правило, наблюдалось утолщение межальвеолярных перегородок. В строме органа были обнаружены инфильтрационные очаги лимфоцитов и крупные ММЦ (рис. 2а, б).

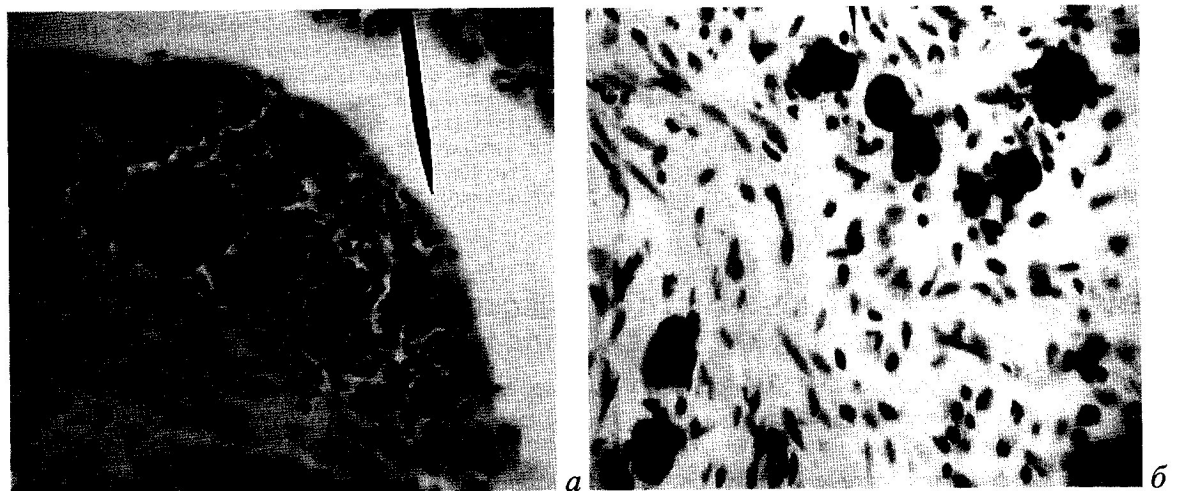


Рис. 2. Инфильтрация легочной ткани лимфоцитами (а) и меланомакрофагальные центры в паренхиме легких амфибий (б)

В легких у амфибий из пос. Шушер («условно чистое» местообитания) кровенаполнение сосудов носило неравномерный характер. Распределение крови в капиллярах характеризовалось эритростазами, у единичных особей в капиллярах имели место лейкостазы, кроме того, отмечались мелкоочаговые кровоизлияния. Необходимо отметить присутствие лимфоцитарной инфильтрации в строме легочной ткани. Диффузно располагались небольшие ММЦ. Просматривались утолщения межальвеолярных перегородок.

Таким образом, в легких всех изученных видов амфибий (без учета их местообитания) были выявлены патоморфологические сдвиги. Особый интерес в этом плане представляют лягушки, обитающие на территории ГПЗ «Большая Кокшага», которые, по-видимому, испытывают какие-то неблагоприятные воздействия. Подтверждением высказанной нами гипотезы могут служить обнаруженные в легком очаги лимфоцитарной инфильтрации. Вероятно, подобную реакцию легочной ткани амфибий можно рассматривать как усиление у этих животных иммунологических механизмов в ответ на повреждающее действие антигенов. Следовательно, амфибии, отловленные с территории заповедника, требуют более тщательного всестороннего обследования.

Следующим этапом исследования легочной ткани было определение площади паренхимы и стромы и расчет коэффициента соотношения паренхимы к строме. При проведении множественных сравнений (критерий Краскела-Уоллиса $H = 28,09$; $p < 0,001$) были получены значимые различия (рис. 3).

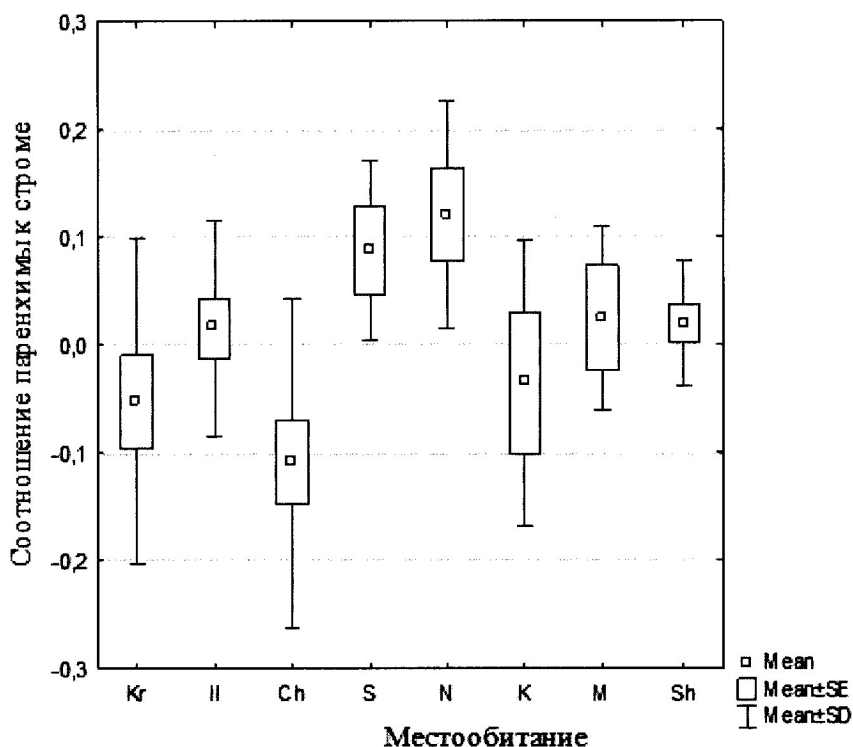


Рис. 3. Соотношение паренхимы к строме в легочной ткани амфибий из разных местообитаний:

Обозначения: Kr — Краснооктябрьский (*P. lessonae*); II — Ильинка (*P. lessonae*); S — лесопарк «Сосновая роша» (*P. ridibundus*); K — Кугуван (*P. esculentus*); Ch — Чихайдарово (*P. ridibundus*); N — Нолька (*P. lessonae*); M — Медведево (*P. ridibundus*); Sh — Шушер (*P. lessonae*)

Из рисунка 3 видно, что наименьшие значения соотношения паренхимы к строме обнаружены в легких амфибий, обитающих в водоеме пос. Чихайдарово. Снижение величины данного коэффициента свидетельствует о том, что дыхательная паренхима (просвет альвеол) уменьшена в объеме, в то время как площадь, приходящаяся, прежде всего, на межальвеолярные перегородки, увеличена. Из данных научной литературы известно, что увеличение толщины межальвеолярных перегородок приводит к снижению дыхательной функции легкого [Эйнгорн, 1983]. Следует также отметить, что расширение межальвеолярных перегородок может быть причиной отеков, либо развития атипичных компонентов в легочной ткани [Повзун, 2006]. Нельзя исключить и негативного действия тяжелых металлов, которые, как известно, способны накапливаться в легочной ткани, вызывать ее поражение и поражение других органов. Возможно, что в легком амфибий из водоема мр-на Чихайдарово наблюдаемые нами патоморфологические сдвиги являются результатом действия химических факторов среды, учитывая, что вблизи данной территории проходит автомобильная магистраль «Кокшайский тракт».

Гистохимические исследования показали, что по количеству ММЦ и площади, занимаемой в этих центрах гемосидерином, статистически значимых различий не обнаружено. По площади занимаемой меланином установлены различия (рис. 4).

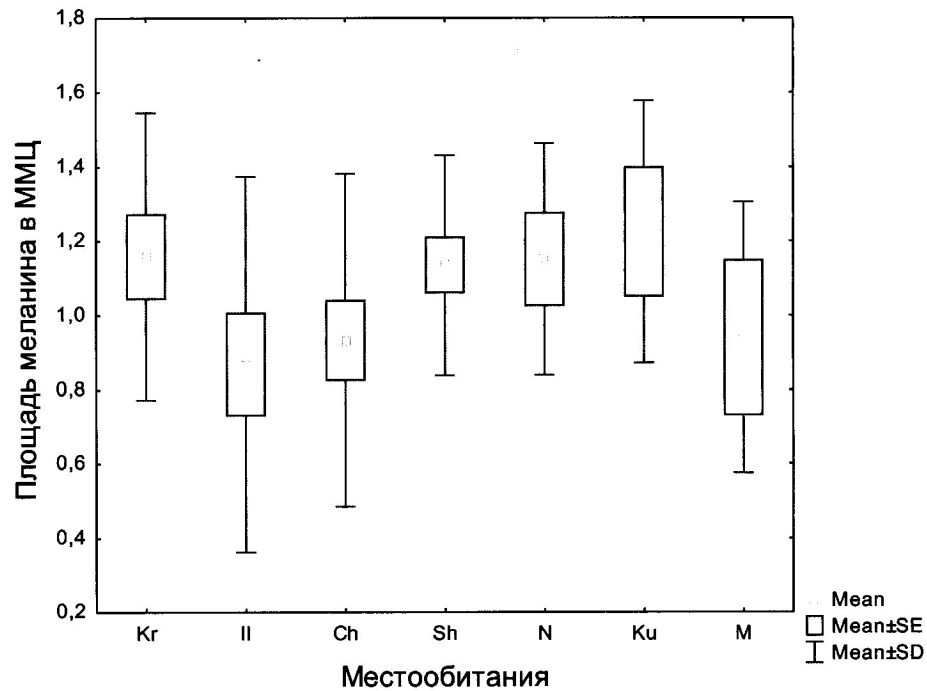


Рис. 4. Площадь меланина в ММЦ в легочной ткани у амфибий из разных местообитаний. Обозначения те же, что и к рисунку 3

Как видно из рисунка 4 наименьшее значение площади меланина обнаружено в легочной ткани амфибий, обитающих в водоеме пос. Ильинка. В то же время наибольшие значения данного параметра установлены в легочной ткани у амфибий из водоемов пос. Кугуван и мкр. Медведево.

В научной литературе имеются указания, что меланомакрофаги, составляющие ММЦ, участвуют в фагоцитозе, обладают бактерицидным действием, на их поверхности адсорбируются иммунные комплексы [Wood et al., 1999; Paunescu et al., 2010]. По данным ряда авторов [Harper, Wolf, 2009; Suresh, 2009] увеличение количества меланомакрофагов, а, следовательно, и ММЦ, может быть связано и с нехваткой кислорода у этих животных. По всей вероятности, загрязнение окружающей среды привело у некоторых амфибий к расширению межальвеолярных перегородок и спровоцировало увеличение количества и размеров этих центров в легочной ткани. Согласно ряду авторов [Paunescu et al., 2010; Маувликеева и др., 2014], подобные изменения могут быть связаны с компенсаторной реакцией организма амфибий на загрязнение окружающей среды.

Литература

- Автандилов Г. Г., Яблунчанский Н. И., Губенко В. Г. 1981. Системная стереометрия в изучении патологического процесса. М.: Медицина. 192 с. Алтуфьев Ю. В., Белова Я. В., Воробьев В. И. 2013. Органный уровень патологии озерной лягушки различных регионов астраханской области // Естественные науки. Т. 45, № 4. С. 65–72. Дробот Г. П., Ведерников А. А. 2011. Патологические изменения в органах лягушки озерной (*Rana ridibunda* Pall.) в условиях обитания на урбанизированной территории // Современные проблемы анатомии, гистологии и эмбриологии животных: сб. тр. II Всерос. интернет-конф. Казань, 4–7 апреля 2011 г. Казань: «Казанский университет». С. 18–22. Захаров В. М., Баранов А. С., Борисов В. И., Валецкий А. В., Кряжева Н. Г., Чистякова Е. К., Чубинишвили А. Т. 2000. Здоровье среды: методика оценки. М.: Центр экологической политики России. 68 с. Маувликеева Д. Р., Ведерников А. А., Дробот Г. П. 2014. Гисто-морфометрическая характеристика легкого лягушки озерной (*Rana ridibunda* Pall., 1771) в условиях антропогенной нагрузки // Теоретические и прикладные аспекты современной науки: сборник научных трудов по материалам III Международной научно-практической конференции 30 сентября 2014 г. Белгород: ИП Петрова М. Г. № 3. С. 48–53. Меркулов Г. А. 1969. Курс патогистологической техники. Л.: Медицина. 424 с. Повзун С. А. 2006. Общая патологическая анатомия. СПб.: СпецЛит. 464 с. Пястолова О. А., Трубецкая Е. А. 1990. Использование бесхвостых амфибий в биоиндикации природной среды // Биоиндикация наземных экосистем: сб. науч. работ. Свердловск: УрО АН СССР. С. 18–30. Спирина Е. В. 2007. Амфибии, как биоиндикационная тест-система для экологической оценки водной среды обитания: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Ульяновск. 23 с. Эйнгорн А. Г. 1983. Патологическая анатомия и патологическая физиология. М.: Медицина. 304 с. Harper C., Wolf C. 2009. Morphologic effects of the stress response in fish // ILAR Journal. Vol. 50, № 4. P. 387–396. Paunescu A., Ponopal C., Draghici O., Marinescu A. G. 2010. Liver histopathologic alterations in the frog *Rana (Pelophylax) ridibunda* induce by the action of reldan 40EC insecticide // Analele Universitatii din Oradea, Fascicula Biologie. Vol. XVII, № 5. P. 166–169. Suresh N. 2009. Effect of cadmium chloride on liver, spleen and kidney melanomacrophage centres in *Tilapia mossambica* // Journal of Environmental Biology. Vol. 30, № 4. P. 505–508. Wood J. M., Jimbow K., Boissy R. E. 1999. What's the use of generation melanin // Exp. Dermatol. Vol. 8, № 2. P. 153–164.