

УДК 594.38:591.82:57.086(476.5)

Е. И. Кацнельсон, аспирант

Кафедра химии

УО «Витебский ГУ имени П. М. Машерова», г. Витебск, Республика Беларусь

Научный руководитель к.б.н., доцент О. М. Балаева-Тихомирова

ГИСТОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ТКАНЕЙ

LYMNAEA STAGNALIS И PLANORBARIUS CORNEUS

Одними из перспективных объектов для гистохимических исследований тканей являются водные и наземные моллюски класса *Gastropoda*. Среди пресноводных легочных моллюсков наиболее удобными объектами для биохимических, цитохимических и гистохимических исследований, являются большой прудовик (*Lymnaea stagnalis*) и катушка роговая (*Planorbarius corneus*) [1, 2].

Lymnaea stagnalis, *Planorbarius corneus* с разными переносчиками кислорода (медь-содержащий гемоцианин и железо-содержащий гемоглобин) представляют собой тест-организмы для оценки биоразнообразия водной фауны Беларуси и биоэкологических исследований путем изучения химических компонентов среды обитания, а также структурно-физиологических показателей моллюсков как компонента биоиндикации водоемов [3, 4].

Гистохимические методы позволяют выявлять локализацию различных химических веществ в структурах клеток, тканей и органов — ДНК, РНК, белков, углеводов, липидов, аминокислот, минеральных веществ, витаминов, активность ферментов. Данные методы основаны на специфичности реакции между химическим реактивом и субстратом, входящим в состав клеточных и тканевых структур, и окрашивании продуктов химических реакций.

С помощью разнообразных гистохимических методов можно судить не только об особенностях химических реакций различных тканевых структур, но и определять характер и темп обмена в тканях и клетках [5, 6].

Цель исследования: изучить гистохимические показатели в тканях пресноводных брюхоногих легочных моллюсков, отличающихся по типу транспорта кислорода.

Материалы и методы: для гистологических исследований использовали гепатопанкреасы взятые у взрослых особей катушки роговой (*Planorbarius corneus*) и прудовика обыкновенного (*Lymnaea stagnalis*), собранных в реке Витьба города Витебска.

Фрагменты гепатопанкреаса фиксировали в 10 % нейтральном формалине и смеси Гелли. Проводку осуществляли в автомате для гистологической обработки ткани STP-120 (тип карусель, Германия), заливку фрагментов в парафин проводили на станции для заливки тканей парафином ЕС 350 (Германия). С каждого блока с помощью ротационного микротомы НМ

340E (MICROM, Laborgerate GmbH; Германия) получали серийные срезы (толщина срезов 4-5 мкм) и окрашивали гематоксилин-эозином, шифф-йодной кислотой, по Ван-Гизону. С использованием микротом-криостата Leica CM 1860 (Германия) получали срезы для идентификации веществ липидной природы с помощью окраски суданом.

При окрашивании срезов суданом жиры интенсивно окрашиваются в оранжево-красный цвет.

Окраска соединительной и мышечной тканей гематоксилин-пикрофуксином по методу Ван-Гизон широко используется в гистологической практике. Соединительная ткань после окраски пикрофуксином имеет ярко-красный цвет, а все остальные ткани — буровато-желтый или желто-зеленый.

В результате ШИК-реакции вещества полисахаридной природы окрашиваются в пурпурный или лиловый цвет. Нейтральные мукополисахариды бывают обычно пурпурно-красными, гликоген — более темный.

Результаты исследования и обсуждение

При гистохимическом исследовании тканей гепатопанкреаса брюхоногих легочных моллюсков было выявлено:

- структурно-функциональная единица гепатопанкреаса — ацинус (обозначены стрелкой на рис. 1, 2);
- предположительно пустоты на полученных гистологических срезах — участки жировой ткани.

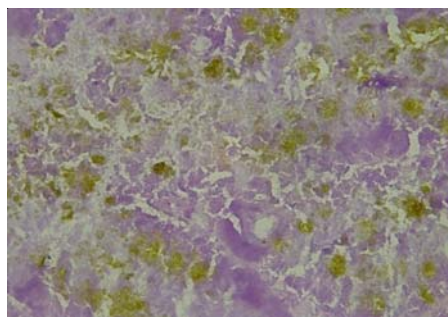


Рис. 1. Электронная микрофотография препарата гепатопанкреаса катушки роговой; окраска гематоксилин-эозином, увеличение $\times 40$

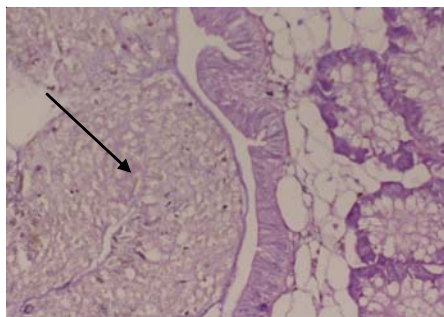


Рис. 2. Электронная микрофотография препарата гепатопанкреаса прудовика обыкновенного; окраска гематоксилин-эозином, увеличение $\times 40$

На срезах гепатопанкреаса, окрашенных суданом наблюдаются жировые капли и дифференцированные жировые участки, окрашенные в желто-оранжевый цвет (рис. 3, 4). Это служит доказательством наличия жиров и жироподобных веществ в тканях печени легочных пресноводных моллюсков.

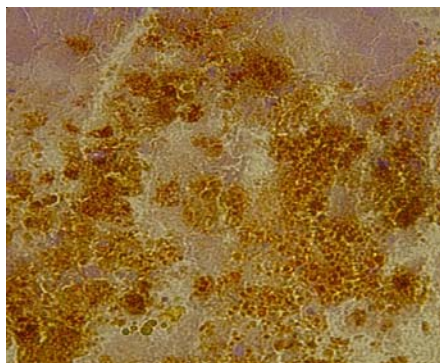


Рис. 3. Электронная микрофотография среза гепатопанкреаса катушки роговой, окраска Суданом, увеличение $\times 40$

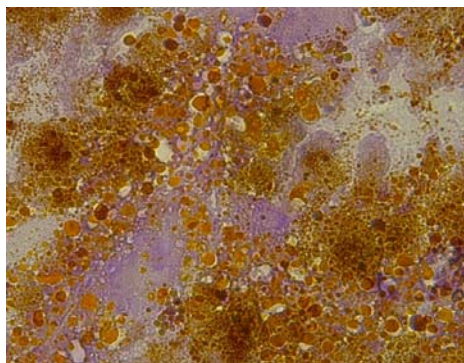


Рис. 4. Электронная микрофотография препарата гепатопанкреаса прудовика обыкновенного, окраска Суданом, увеличение $\times 40$

Исследовав срезы, окрашенные по Ван-Гизон (рис. 5, 6) можно сделать вывод о наличии коллагеновых волокон в ткани (полученные срезы гепатопанкреаса имеют ярко-лиловый цвет). По интенсивности окраски препаратов можно сделать вывод о том, что в тканях гепатопанкреаса катушки роговой содержится больше веществ полисахаридной природы, чем в гепатопанкреасе прудовика обыкновенного.

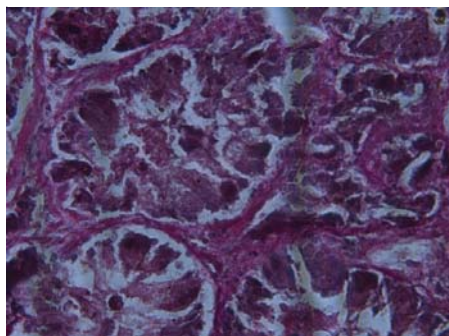


Рис. 5. Электронная микрофотография препарата гепатопанкреаса катушки роговой, окраска по Ван-Гизону, увеличение $\times 40$

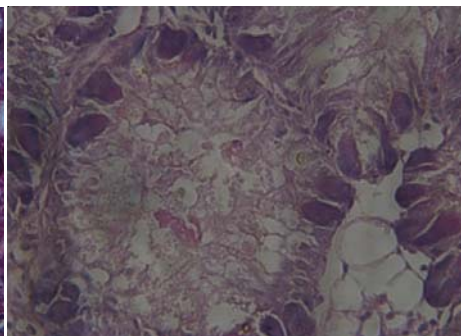


Рис. 6. Электронная микрофотография препарата гепатопанкреаса прудовика обыкновенного, окраска по Ван-Гизону, увеличение $\times 40$

Гликоген, мукопротеиды, гликопротеиды и гликолипиды выявляются путем реакции, окисляющей спиртовые группы, которые преобразуются в альдегидные группы, и определения последних путем цветной реакции с реактивом Шиффа. По положительной ШИК-реакции, мы можем сделать

вывод о наличии веществ полисахаридной природы в гепатопанкреасе легочных пресноводных моллюсков (рис. 7, 8).

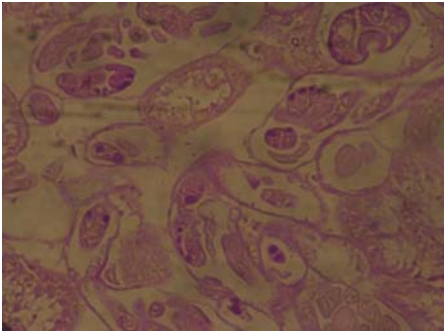


Рис. 7. Электронная микрофотография препарата гепатопанкреаса прудовика обыкновенного, окраска Шифф-йодной кислотой, увеличение $\times 40$

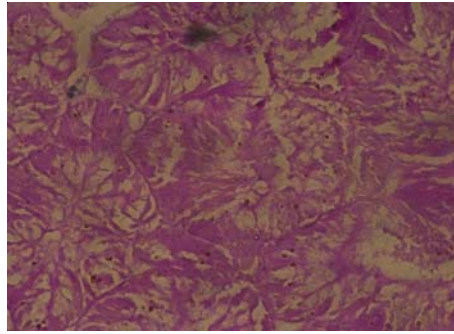


Рис. 8. Электронная микрофотография препарата гепатопанкреаса катушки роговой, окраска Шифф-йодной кислотой, увеличение $\times 40$

Заключение

В основе гистохимических методов исследования лежит соединение принципов и методов химического анализа с принципами и методами морфологического изучения клеток и тканей, используемых в цитологии и гистологии. Благодаря этому обеспечиваются существенные преимущества в изучении морфофункциональной структуры тканей, так как выявленное химическое вещество можно связать с определенной тканевой или клеточной структурой. С помощью методов современной гистохимии можно судить об особенностях функционирования различных тканевых и клеточных структур, определять характер и темп обменных процессов в клетках и тканях.

На полученных гистологических срезах при окрашивании гематоксилин-эозином была выявлена структурная единица гепатопанкреаса пресноводных гидробионтов — ацинус.

Окрашивание препаратов гематоксилин-эозином не предназначено для идентификации химического состава тканей и органов. Для этой цели используются: ШИК-реакция для выявления полисахаридов, окрашивание по Ван-Гизону выявление коллагеновых волокон, судан III — нейтральных жиров.

Литература

1. Анисимов, А. П. Эволюционные изменения развития соматической полиплоидии в слюнных железах брюхоногих моллюсков. V. Подклассы *Opisthobranchia* и *Pulmonata* / А. П. Анисимов, Н. Е. Зюмченко // Цитология. — 2012. — том 54, — №2. — С. 165-175.

2. Голубев, А. П. Большой прудовик как модельный объект школьного экологического мониторинга / А. П. Голубев, Л. Е. Слесарева, В. Ю. Афонин // Здоровье и экология. В помощь педагогам школ: Сб. матер, науч. и прак. тр. / Под общ. ред. д-ра мед. наук Н. Г. Кручинского. — Могилев. — 2007. — С. 230-240.
3. Голубев, А. П. Воздействие длительного самооплодотворения на рост и размножение большого прудовика *Lymnaea stagnalis* (Gastropoda, Pulmonata) — промежуточного хозяина возбудителей гельминтозных заболеваний / А. П. Голубев [и др.] // Доклады НАН Беларуси. — 2010. — Т. 54, № 1. — С. 90-93.
4. Голубев, А. П. Динамика процессов радиоадаптации в популяциях моллюсков из водоемов Белорусского сектора зоны загрязнения ЧАЭС / А. П. Голубев // Экологический вестник. — 2012. — № 2(20). — С. 44-57.
5. Меркулов, Г. А. Курс патогистологической техники / Г. А. Меркулов. — Ленинград: Медицина, 1969. — 324 с.
6. Быков, В. Л. Цитология и общая гистология: учебник для студентов медицинских институтов / В. Л. Быков. — СПб.: СОТИС, 2002. — 480 с.