

УДК 591.8

**ГИСТОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ  
ГЕПАТОПАНКРЕАСА ЛЕГОЧНЫХ ПРЭСНОВОДНЫХ  
МОЛЛЮСКОВ**

**Вишневская Мария Викторовна**

выпускница магистратуры факультета химико-биологических и  
географических наук

Витебский государственный университет имени П.М. Машерова  
(Республика Беларусь, г. Витебск)

**Балаева-Тихомирова Ольга Михайловна**

к.б.н., доцент

заведующий кафедры химии и естественнонаучного  
образования

Витебский государственный университет имени П.М. Машерова  
(Республика Беларусь, г. Витебск)

**Кацнельсон Екатерина Иосифовна**

старший преподаватель кафедры химии и естественнонаучного  
образования Витебский государственный университет имени  
П.М. Машерова

(Республика Беларусь, г. Витебск)

**Сидорова Татьяна Васильевна**

выпускница магистратуры факультета химико-биологических и  
географических наук

Витебский государственный университет имени П.М. Машерова  
(Республика Беларусь, г. Витебск)

В статье рассматриваются понятия гистологических исследований гепатопанкреоса пресноводных легочных моллюсков. Идет описание основных этапов подготовки к исследованиям изучаемого материала.

**Ключевые слова:** моллюски, ткани, клетки

## HISTOLOGICAL STUDY OF THE HEPATOPANCREAS OF PULMONARY FRESHWATER MOLLUSCS

**Maria Viktorovna Vishnevskaya**

Master's degree graduate of the Faculty of Chemical, Biological and  
Geographical Sciences

Vitebsk State University named after P.M. Masherov  
(Republic of Belarus, Vitebsk)

**Balaeva-Tikhomirova Olga Mikhailovna**

Candidate of Biological Sciences, Associate Professor  
Head of the Department of Chemistry and Natural Science Education

Vitebsk State University named after P.M. Masherov  
(Republic of Belarus, Vitebsk)

**Katsnelson Ekaterina Iosifovna**

Senior Lecturer of the Department of Chemistry and Natural Science  
Education, Vitebsk State University named after P.M. Masherov

(Republic of Belarus, Vitebsk)

**Sidorova Tatiana Vasilyevna**

Master's degree graduate of the Faculty of Chemical, Biological and  
Geographical Sciences

Vitebsk State University named after P.M. Masherov  
(Republic of Belarus, Vitebsk)

The article deals with the concepts of histological studies of hepatopancreas of freshwater pulmonary mollusks. The description of the main stages of preparation for studies of the studied material is given.

**Keywords:** mollusks, tissues, cells

**Введение.** Пресноводные легочные моллюски широко распространены на территории Республики Беларусь и относятся к наиболее массовым представителям бентосных сообществ пресноводной фауны. Под влиянием неблагоприятных факторов происходит напряжение их адаптационных и защитных систем, и как следствие нарушается работа органов и организма в целом, повышается заболеваемость и смертность. В настоящее время методы

контроля физиологического состояния гидробионтов недостаточно хорошо развиты, что связано с недостатком сведений о структурно-функциональных границах нормы и патологии [1, 2].

Изменения параметров тканей внутренней среды являются наиболее достоверным отражением механизмов адаптации организмов к изменяющимся условиям, поэтому определение гистопатологического статуса моллюсков, и выявление у них структурных изменений в органах в зависимости от степени неблагоприятного воздействия обеспечит возможность их использования в качестве простых универсальных биоиндикаторов для оценки степени токсичности вод для человека и животных по действующим нормативам в системе контроля за их качеством.

**Цель исследования** – гистологически исследовать строение гепатопанкреаса легочных пресноводных моллюсков в норме.

**Материалы и методы исследования.** При проведении исследований использовались два вида легочных пресноводных моллюсков – *Lymnaea stagnalis* и *Planorbarius corneus*. Сбор осуществлялся весной-летом 2021-2022 г. Моллюсков собирали вручную.

Перед проведением эксперимента для акклиматизации моллюсков содержали в ёмкостях с водопроводной водой в течение 2-х суток, плотность посадки моллюсков – 3 экз/л, температура воды – 20-22°C, рН 7,2-7,7. Ежедневно осуществлялась замена 1/3 ее объема. Животных кормили листьями зеленого салата.

Стандартизацию объектов исследования выполняли, используя во всех экспериментах животных одинакового размерного класса от 3 до 4,5 сантиметров, массой от 3 до 6 граммов. Расчетный возраст такой группы составляет около 50 недель (1 год), при средней продолжительности жизни 2 года.

Образцы тканей для гистологического исследования отбирали сразу после эвтаназии моллюсков.

Для проведения эвтаназии использовали гуманные методы. Вначале для проведения анестезии погружали моллюсков на 10 минут в 5% раствор этанола.

После анестезии, извлекали тело моллюска из раковины. После освобождения тела моллюска от раковины, проводили иссечение материала, острым скальпелем не повреждая структуру ткани. Размер взятого кусочка не превышал по толщине 5-10 мм, что необходимо для быстрого и полного проникновения фиксирующей жидкости на следующем этапе обработки.

После иссечения, кусочки ткани сразу погружали в фиксирующий раствор, не допуская высыхания материала. Для фиксации материала использовали 30%-40% водный раствор формальдегида. Для фиксации использовали раствор на водопроводной воде 1:9. Выдерживали ткани в фиксирующей жидкости не менее 7 суток.

Затем кусочки извлекали из фиксатора, подшивали и вешали для промывания в специальную емкость не менее чем на 4 часа. Промывку осуществляли водопроводной водой. После чего кусочки опускали в баночку с 70% этиловым спиртом на сутки и проводили проводку для фиксированных в формалине препаратов (70 мл спирта и 30 мл воды).

Далее выполнялись проводки для фиксированных в формалине препаратов и пропитывание объекта парафином. После окончания пропитывания объекта его заливали парафином. После охлаждения и помещали в холодильник на ночь. Затем извлекали из формочки залитый в парафин образец ткани. После обрезки залитого в парафин образца ткани горячим ножом его приклеивали к деревянному бруску. Срезы заданной толщины изготавливали на микротоме Leica толщиной 5 нм. Готовые срезы снимали с ножа кисточкой и переносили на обезжиренное 96% спиртом и подогретое до 40 градусов Цельсия предметное стекло.

Для того чтобы срезы были прозрачными проводили депарафинизацию. После депарафинизации помещали стекла со

срезами на мостик и проводили окрашивание гемотоксилином 5 минут. После промывки стекол водопроводной водой 10 минут и дистиллированной водой 2 минуты, проводили окрашивание срезов эозином 1-2 минуты. Затем промывали стекла дистиллированной водой и проводили обезвоживание срезов путем спиртовой проводки. Далее срезы заключали в полистерол и оставляли микропрепараты для высыхания на сутки.

Результаты окраски оценивали методом микроскопии на микроскопе Leica: гемотоксин окрашивает ядра клеток с сине-фиолетовый цвет, а эозин окрашивает цитоплазму клеток в розовый цвет.

**Результаты и их обсуждение.** В норме гепатопанкреас темно-коричневого цвета. По результатам изучения гистологических срезов гепатопанкреаса прудовика обыкновенного и катушки роговой было установлено, что он выполняет функции печени и поджелудочной железы и представляет собой трубчато-ацинарную железу, состоящую из простых пирамидальных или столбчатых эпителиальных клеток, расположенных в ветвящихся трубочках, поддерживаемых соединительной тканью. Ацинусы пищеварительной железы разделены междольковой рыхлой соединительной тканью, содержащей гемолимфатические сосуды и гемоциты. Каждая трубочка снабжена снаружи с круговым мышечным слоем. Микроскопические артериальные и венозные сосуды выглядят одинаково. Стенки состоят из круглых слоев гладкомышечной и соединительной ткани. Эндотелий в сосудах отсутствует. Там где гемолимфатические сосуды сужаются до мелких размеров и их можно назвать пазухами выстланными эндотелием.

Выделительные клетки пищеварительной железы шаровидной формы представлены в виде одиночных крупных вакуолей, заполняющих почти весь объем клетки. Продукты выделения накапливаются в вакуолях и образуют крупные бурые тела.

Более короткие конусовидные или пирамидальные клетки в криптах лучше всего назвать секреторными клетками, тогда как преобладающие клетки от столбчатых до булавовидных вне крипт, называют пищеварительными клетками. Последние имеют границы с микроворсинками. Могут присутствовать другие типы клеток, в зависимости от вида.

Эпителиальные клетки пищеварительных желез часто содержат гранулы, шарики или другие тельца включения с различными характеристиками окрашивания. Вторичные протоки питают железистые трубочки и выстланы микроворсинчатым простым столбчатым эпителием с апокринной секрецией. Эти протоки продолжают как более крупные первичные протоки, которые впадают в желудок и выстланы псевдомногослойным ресничным столбчатым эпителием и мукоцитами.

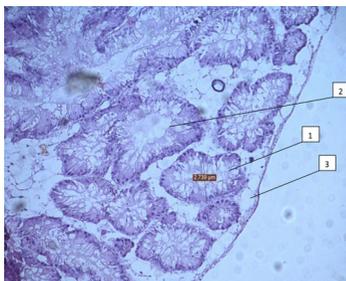


Рисунок 1. Ацинус гепатопанкреаса прудовика обыкновенного. Поперечный срез.

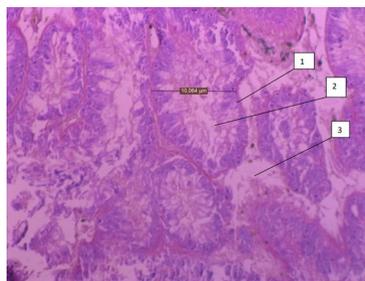


Рисунок 2. Ацинус гепатопанкреаса катушки роговой. Поперечный срез.

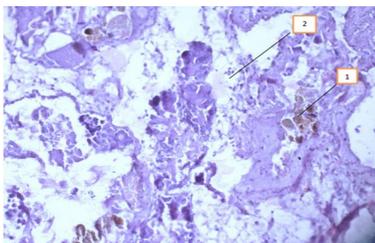


Рисунок 3. Продольный срез гепатопанкреаса прудовика обыкновенного.

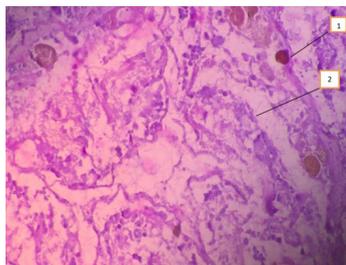


Рисунок 4. Продольный срез гепатопанкреаса катушки роговой.

Из рисунков 1-2 следует что на поперечных срезах гепатопанкреаса прудовика обыкновенного и катушки роговой четко выделяются (1) ацинусы, (2) базальная мембрана, (3) соединительная ткань. Из рисунков 3-4 следует что на продольном срезе четко определяются (1) выделительные клетки, (2) протоки ацинуса. Сходства в строении гепатопанкреаса двух видов можно объяснить сходным происхождением исследуемых гидробионтов

**Заключение.** В основе гистологических методов исследования лежат методы морфологического изучения клеток и тканей, используемых в цитологии и гистологии. Благодаря этому обеспечиваются полное изучение морфофункциональной структуры тканей. На полученных гистологических срезах при окрашивании гематоксилин-эозином было выявлено, что структурной единицей гепатопанкреаса пресноводных гидробионтов является ацинус. Также на срезах можно наблюдать базальную мембрану, соединительную ткань, выделительные клетки и протоки ацинуса.

#### *Список литературы*

1. Никаноров, А.М. Системы мониторинга поверхностных вод / А.М. Никаноров, В.В. Циркунов. – СПб.: Гидрометиздат, 1994. – С. 197.

2. Цветков И.Л. Оценка качества сточных вод с помощью биохимического показателя активности кислой фосфатазы пресноводных моллюсков // Водные ресурсы. 2006, том 33, с.62-70.

© Вишневецкая М.В, Балаева-Тихомирова О.М., Кацнельсон  
Е.И., Сидорова Т.В., 2023