

Вплив сумісного паразитування аспідогастрей і мікроспоридій на гістологічну структуру перикардію перлівницевих

*Досліджено вплив *A. conchicola* на гістологічну структуру перикардію моллюсків. Виявлено місцеві атрофічні, дистрофічні і некробіотичні зміни навколосерцевої сумки. Найбільші зрушення відзначено у випадках співпаразитування аспідогастрей і мікроспоридій.*

Звичайним паразитом перлівницевих (*Mollusca, Bivalvia, Unionidae*) України є *Aspidogaster conchicola* Baer, 1927 (*Plathelminthes, Aspidogastrea*). Як правило, цей гельмінт оселяється у порожнині навколосерцевої сумки моллюсків. За допомогою диску Бера він прикріплюється до її стінок, час від часу пересувається у перикардії і за рахунок хазяїна живиться. Літературні відомості щодо впливу цього гельмінта на організм його хазяїв – перлівницевих суперечливі. Одні дослідники вважають, що паразитування аспідогастрей не викликає у моллюсків жодних патологічних змін [1]. Однак існує і інша точка зору, згідно якої *A. conchicola* спричиняють у перлівницевих пошкодження тканин навколосерцевої сумки [2:3]. Проте, окрім порожнинних паразитів – аспідогастрей, у перикардії перлівницевих відзначено і внутрішньоклітинних паразитів – мікроспоридій². Метою нашого дослідження було з'ясувати вплив сумісного паразитування *A. conchicola* і мікроспоридій на гістологічну структуру перикардію моллюсків родини *Unionidae*.

Матеріал і методи досліджень

Матеріалом для дослідження послужили *Batavusiana musiva gontieri* Bourguignat, 1881, *Unio comus* Kobelt, 1879, *Anodonta zellensis* Modell, 1945, *Colletopterum ponderosum* Bourguignat, 1880, *Pseudanodonta kietti* (Rossmäessler, 1835), зібрані вручну в 2004–2005 рр. у водоймах із басейнів Південного Бугу і Дніпра (у межах Вінницької, Житомирської, Хмельницької областей). Аспідогастрів виявляли препаруванням навколосерцевої сумки моллюсків.

Для виготовлення гістологічних зрізів відпрепарований перикардій фіксували нейтральним 10% формаліном [4:5]. Серійні зрізи товщиною 5 мкм виготовляли на санному мікротомі за загальноприйнятою методикою. Зневоджували зрізи, проводячи їх спочатку через низку етилових спиртів (етанол) зростаючих концентрацій (50°, 60°, 70°, 80°, 90°, 96°), потім – через перший і другий абсолютний спирт. Матеріал послідовно занурювали у розчини спиртів, витримуючи його у кожному з них по 2 – 3 год. При перенесенні проби з кожного попереднього спирту у наступний його ретельно осушували фільтрувальним папером. Шматочки, взяті з другого абсолютного спирту, занурювали на 12 год у віск-парафін, а після того наклеювали їх на дерев'яні кубики і підсушували під скляною кришкою ексикатора протягом години. Зрізи фарбували гематоксилін-еозинном або гематоксиліном з дофарбовуванням пікрофуксином (за Ван-Гізовом). Просвітлювали гвоздичним маслом і закривали в канадський бальзам [4:5:6]. Препарати вивчали з використанням люмінесцентного мікроскопу LOMO MikMed (15x20).

Матеріал для електронної мікроскопії фіксували (5 год) при 4°C в 2,5%-ому розчині глютаральдегіду на какодінатному буфері (рН 7,4) з 10%-ою сахарозою. Опісля його постфіксували 1%-вим розчином OsO₄ на какодінатному буфері з 5%-вою сахарозою (1 год). Промивали дистильованою водою, після чого зневоджували на холоді у етанолі зростаючих концентрацій (50°, 60°, 70°, 80°, 90°, 96°), а пізніше – в абсолютному спирті і в ацетоні. Матеріал заливали у смолу (Епон з Араалітом), витримували добу в термостаті при температурі 36° і добу – при 56°C. Тонкі зрізи отримували на ультратомі LKB-III. Контрастували у блоках ураніацетатом під час проводки, а потім на зрізах цитратом свинцю. Препарати вивчали з використанням електронного мікроскопу JEM-7A при 80 кВ.

Результати досліджень

Навколосерцева сумка перлівницевих є залишком целому і має вигляд витягнутого, тонкостінного, напівпрозорого мішка. Перикардій забезпечує свободу рухів серця і водночас виконує гідравлічну функцію [7]. Зі сторони серця навколосерцева сумка вистелена ціломічним епітелієм мезодермального походження (перикардіальним епітелієм, целотелієм). Як правило, це одношаровий кубічний епітелій, котрий лежить на базальній мембрані (рис. 1). Епітеліоцити, прилягаючи один до одного, утворюють суцільний епітеліальний пласт [8]. Його гладенька поверхня забезпечує можливість вільного переміщення серця під час його пульсації. Під перикардіальним епітелієм розташована пухка сполучна

² Ближче не визначі.

тканина з клітинами – фібробластами і волокнистими структурами (колагенові, ретикулінові, еластинові волокна), зануреними у безструктурну міжклітинну речовину. Місцями в ній трапляються міоцити і нервові волокна. З протилежної сторони перикард вкритий плоским епітелієм. Ці епітеліоцити мають полігональну форму і нерівні краї.



Рис. 1. Поперечний розтин стінки навколосерцевої сумки: А – *Unio comus*; Б – *Colletopterum ponderosus* (р. Гнилоп'ять, с. Райки Житомирської обл.).
1 – перикардiальний епітелій, 2 – сполучнотканинний шар, у якому розміщені міоцити, 3 – плоский епітелій. (8x10).

Паразитовання *A. conchicola* викликає різноманітні зрушення у гістологічній будові перикардію перлівнищевих. Так, у місцях безпосереднього розташування аспідогастрей спостерігається деформація клітин целотелію. Внаслідок тиснення диску Бера паразитів на епітеліоцити внутрішнього шару висота клітин зменшується, в той час як ширина їх зростає. Нерідко тиск, здійснюваний паразитами на клітини целотелію настільки значний, що відбувається розрив клітинних мембран епітеліоцитів, який неминуче призводить до їх загибелі. Часом такі ж некробіотичні зміни відбуваються і у сполучній тканині, де спостерігається розрив як її волокнистих структур, так і клітинних елементів – фіброцитів.

У частини інвазованих молюсків у місцях, позбавлених паразитів, спостерігається різке збільшення розмірів клітин перикардiального епітелію – у 1,5 – 2 рази (рис. 2).

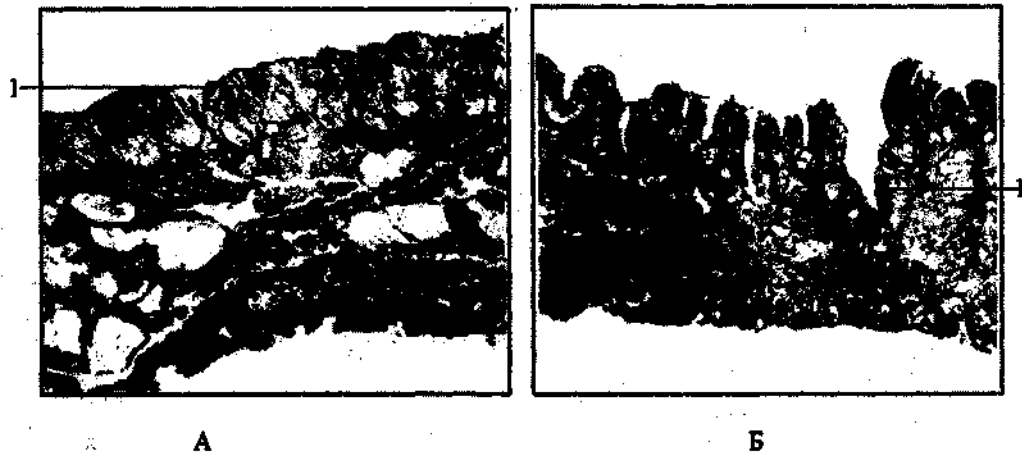
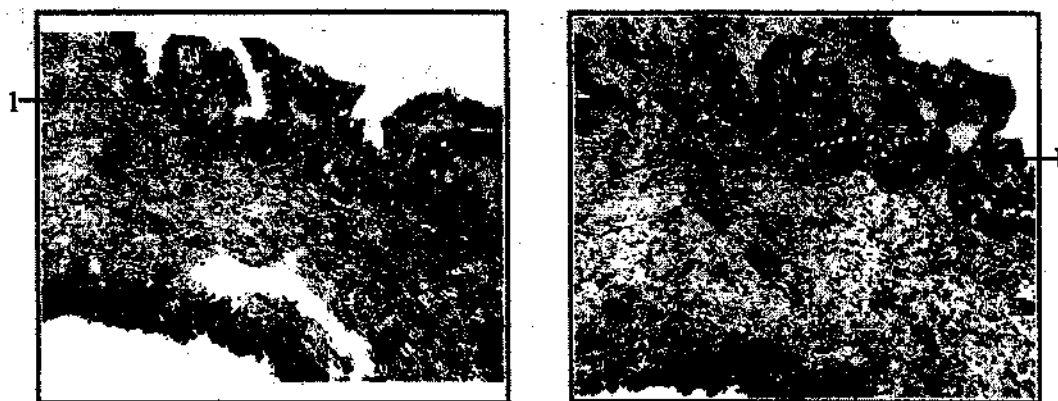


Рис. 2. А – Гіпертрофія перикардiального епітелію у *Batavusiana mustva*; Б – Запурення перикардiального епітелію у сполучнотканинний шар навколосерцевої сумки *Pseudanodonta kletti* (р. Південний Буг, м. Хмільник Вінницької обл.).
1 – перикардiальний епітелій (8x10).

Гіпертрофія епітеліоцитів призводить до потовщення внутрішнього епітеліального шару і, як наслідок його, до зморщування поверхні навколосерцевої сумки. У таких випадках клітини целотелію мають зазвичай неоднакові розміри, а тому не утворюють суцільної гладенької поверхні епітеліального пласту. На наш погляд, відсутність рівної гладенької поверхні перикардiальної сумки має у якійсь мірі перешкоджати нормальному переміщенню серця цих тварин у порожнині перикардію. Поряд з цим

внаслідок гіперплазії перикардіального епітелію частина клітин занурюється у сполучнотканинний шар перикардію.

У багатьох ділянках перикардію у заражених молосків розвивається цитоплазматична вакуолізація клітин епітелію. За слабкої інвазії у цитоплазмі епітеліальних клітин наявні, як правило, лише кілька невеличких вакуолей (2-3). За високої інвазії спочатку кількість їх різко збільшується (до 5-7 і більше), а потім вони зливаються, утворюючи одну (рідше дві) дуже велику вакуолу, яка вповнює собою більшу частину клітини (рис. 3). Це - вакуольна дистрофія, патогенний процес, зумовлений відділенням води від білка, збільшенням кількості її у клітинах, посиленням розрихленням цитоплазми [9].



А

Б

Рис. 3. Вакуолізація перикардіального епітелію: А - *Unio conus*; Б - *Colletopterum ponderosus* (р. Гнилоп'ять, с. Райки Житомирської обл.).
1 - перикардіальний епітелій (8x10).

Паразитовання *A. conchicola* у перлівницевих викликає зміни гістоархітекtonіки сполучнотканинного шару навколосерцевої сумки. У заражених тварин спостерігається гіпертрофія перикардію, яка полягає у значному потовщенні його середнього шару. Так, за інтенсивності інвазії 6-10 екз./особ. він в 1,2-1,6 рази товстіший, ніж у незаражених тварин, а у випадках високої інтенсивності інвазії - у 2,3-2,8 рази.

Електронно-мікроскопічним дослідженням з'ясовано, що найсильніші зміни навколосерцевої сумки інвазованих молосків виникають у випадках співпаразитовання аспідогастрей і мікроспоридій. Скупчення цих мікроорганізмів виявлено у частини особин (31%) *Unio conus* (р. Гнилоп'ять, с. Райки Житомирської обл.). У перикардії вони розташовуються між клітинами гладенької м'язової тканини у фіб्रोцитах сполучної тканини (рис. 4).



А

Б

Рис. 4. Мікроспоридії у перикардії *Unio conus* (А - x 7800, Б - x 15000).

У випадках співпаразитовання аспідогастрей і мікроспоридій гіпертрофія перикардію молосків виражена значно сильніше. Навколосерцева сумка таких молосків в 1,2-1,4 рази товстіша, ніж у незаражених особин і в 1,3-1,5 разів порівняно з тваринами зараженими виключно аспідогастрями.

Здатність мікроспоридій викликати гіпертрофію уражених ділянок підтверджена й іншими дослідниками [10], зокрема, для *Lophius piscatorius* і *Glugea anomata*.

Окрім цього за такої сумісної інвазії на окремих гістопрепаратах наявні відокремлені уривки перикардію, у яких розрізняються як цілі клітини, так і клітинний детрит. З одного боку, це є наслідком діяльності аспідогастрей, котрі при пересуванні у порожнині навколосерцевої сумки, прикріплені до її стінок, живлення пошкоджують тканини перикардію. З іншого боку, саме життєдіяльність мікроспоридій призводить до руйнування клітин перикардію.

Висновки

Отже, *A. conchicola* викликає місцеві атрофічні, дистрофічні і некробіотичні зміни навколосерцевої сумки, у якій він зазвичай локалізується. Найбільші зрушення відзначено у випадках співпаразитизму аспідогастрей і мікроспоридій.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Тимофеева Г.А. Морфология, биология и жизненные циклы двух представителей рода *Aspidogaster* К. Ваер: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Л., 1972. – 17 с.
2. Huehner M.K., Hannan K., Garvin M. Feeding habits and marginal organ histochemistry of *Aspidogaster conchicola* (Trematoda: Aspidogastrea). // J. Parasitology. – 1989. – Vol. 75. – P. 848 – 852.
3. Wasielewski L., Drozdowski A. Anomalie w budowie osierdzia wywołane *Anodonta cellensis* Schröter, 1779 (Bivalvia, Eulamellibranchia, Unionidae), działalnością *Aspidogaster conchicola* Baer, 1826 (Aspidogastrea) // Acta Univ. N. Copernici Biol. – 1995. – Vol. 49. – P. 33 – 43.
4. Ромейс Б. Микроскопическая техника. – М.: Иностранная литература, 1953. – 718 с.
5. Роскин Г.И., Левинсон Л.Б. Микроскопическая техника. – М.: Советская Наука, 1957. – С. 102 – 117.
6. Пирс Э. Гистохимия. – М.: Иностранная литература, 1962. – С. 751 – 762.
7. Беклимишев В.Н. Основы сравнительной анатомии беспозвоночных. – М.: Наука, 1964. – Т. 2. – 446 с.
8. Трускавецкий Е.С., Мельниченко Р.К. Гистология с основами эмбриологии. – Житомир: Вид-во "Волинь", 2003. – 184 с.
9. Пичугин Л.М., Акулов А.В. Практические занятия по патологической анатомии домашних животных. – М.: Сельхозгиз, 1960. – 254 с.
10. Маркевич О.П. Основы паразитологии. – К.: Радянська школа, 1950. – 592 с.

Павлюченко О. В. Влияние совместного паразитирования аспидогастрид и микроспоридий на гистологическую структуру перикардия перловицевых.

*Исследовано влияние *A. conchicola* на гистологическую структуру перикардия моллюсков. Обнаружено местные атрофические, дистрофические и некробіотические изменения околосердечной сумки. Самые большие изменения отмечены в случаях совместного паразитирования аспидогастрид и микроспоридий.*

Pavluchenko O. V. The influence of aspidogastrea and microsporidium parasitism on histological structure of pericardium in unionid mussels.

*The influence of *A. conchicola* on histological structure of pericardium in mollusks is investigated. Local atrophic, dystrophic and necrobiotic changes of pericardium are registred. The most intense changes are established in join aspidogastrea and microsporidium parasitism.*