

The gill examination in diagnosis of infectious and parasitic diseases and poisoning of trout and other fish species

Antychowicz J.

The purpose of this paper was to present and describe clinical symptoms and pathological lesions of the gills, appearing in trout and other fish species. They may significantly facilitate preliminary diagnostic approach during infectious diseases and water pollution. Various histopathological changes are present in the gills during viral, bacterial, parasitic diseases and also due to the contact with toxic substances which result from water environment degradation. These changes are identified and analyzed as important measurement of fish well-being and survival. It was concluded that deteriorated function of the gill system caused by infectious and non-infectious agents and the impairment of the structure and function of other fish organs which followed may produce severe fish mortality.

Keywords: fish pathology, gills lesion, diagnostics.

Patologiczne zmiany w skrzelach stanowią najpoważniejszy problem w hodowli ryb (1, 2, 3). Nienaturalny wygląd skrzeli i histopatologiczne zmiany w tym narzędzie są dowodem złego stanu zdrowia

Zastosowanie badania skrzeli do diagnostyki chorób zakaźnych i pasożytniczych oraz zatruc u pstrągów i innych gatunków ryb

Jerzy Antychowicz

ryby lub zanieczyszczenia środowiska wodnego. Wobec priorytetu diagnostyki wirusowych chorób ryb, z zastosowaniem metod molekularnych i serologicznych, w Polsce w rutynowej diagnostyce nie stosuje się histopatologicznych badań skrzeli; nieliczne są również prace przeglądowe w tym zakresie (2, 3). Informacje przedstawione w tym artykule będą przydatne dla lekarzy weterynarii sprawujących nadzór nad gospodarstwami rybackimi przy stawianiu wstępnego rozpoznania przyczyn zaburzeń w hodowli ryb, jak również pomogą w podejmowaniu decyzji co do dalszych badań. Przedstawione dane mogą być wykorzystane oprócz tego przez pracowników specjalistycznych laboratoriów zajmujących się chorobami ryb w prowadzeniu badań diagnostycznych i naukowych. Z przedstawionego piśmiennictwa,

zawierającego najnowsze publikacje obok doniesień naukowych z zeszłego wieku, wynika, że badanie skrzeli ryb nie straciło obecnie na znaczeniu.

Przez skrzela ryb (ryc. 1, 2) stale przepływa woda, więc w przypadku obecności w niej drobnoustrojów chorobotwórczych, pasożytów czy też substancji toksycznych skrzela narażone są na uszkodzenie i wiążące się z tym upośledzenie ich funkcji. Patologiczne zmiany w skrzelach pstrągów i karpia powstające w wyniku zakażeń, inwazji lub zatruc są podobne, natomiast czynniki wywołujące te zmiany są zwykle odmienne. Wiąże się to z odmiennością chorób występujących u ryb należących do tych gatunków i z różnym typem środowiska wodnego, w którym hoduje się te ryby (4, 5, 6, 7). U pstrągów, podobnie jak u karpia, uszkodzenie skrzeli prowadzi

do niedotlenienia całego organizmu, upośledzenia wydalania produktów białkowej przemiany materii oraz zaburzenia równowagi osmotycznej i kwasowo-zasadowej płynów ustrojowych (1, 8, 9). Wynika to z tego, że skrzela są narządem wieloczynnościowym. Pełnią one rolę narządu oddechowego, wydalniczego oraz regulującego przemieszczanie się różnych anionów i kationów z krwi do wody i z wody do krwi. Upośledzenie funkcji skrzeli prowadzi do zaburzenia działania innych narządów. Stwierdzono mianowicie, że przy niedotlenieniu organizmu związanym z uszkodzeniem skrzeli dochodzi do poważnego uszkodzenia komórek wątroby (10). Natomiast osłabienie detoksykacyjnego działania wątroby doprowadza do uszkodzenia kłębuszków i kanalików nerkowych, które łatwo ulegają patologicznym zmianom wywołanym przez substancje toksyczne (11). Nerki również oczyszczają organizm z toksyn, a ponadto pomagają w utrzymywaniu stałego pH w płynach ustrojowych i są głównym narządem

krwiotwórczym (12). Zaburzenie w funkcji skrzeli przekraczające możliwości adaptacyjne organizmu doprowadza więc do upośledzenia funkcjonowania innych narządów i jest w związku z tym najczęstszą przyczyną śmierci ryb.

Nienaturalny wygląd skrzeli stwierdzony u żywych pstrągów oraz zmiany histopatologiczne występujące w tym narządzie mogą być wywoływane nie tylko przez wirusy, bakterie oraz pasożyty, ale również przez pogarszające się właściwości wody wskutek zbyt dużej intensyfikacji hodowli, a niekiedy z powodu napływu do zbiornika wodnego substancji toksycznych lub pochłaniających duże ilości tlenu.

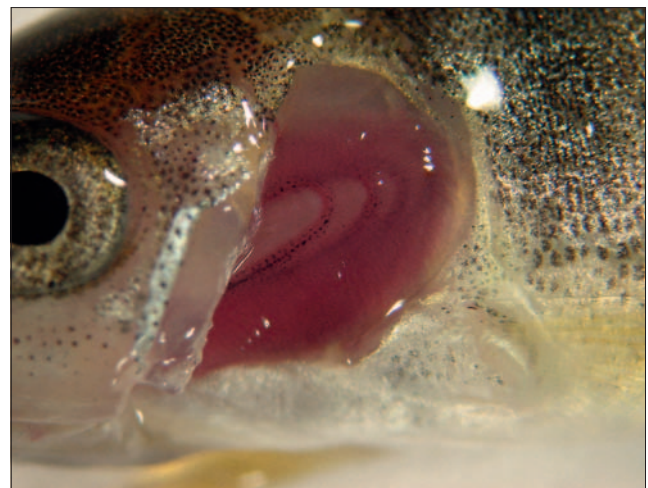
Bładość skrzeli

Bładość skrzeli występująca u żywych ryb (bezpośrednio po odłowieniu ich z stawu) jest objawem niedokrwienia całego organizmu ryby i bardzo ważnym wskaźnikiem ich stanu zdrowia. Objaw ten występuje u pstrągów chorych na wirusową

posocnicę krwotoczną (VHS), martwicę układu krwiotwórczego (IHN) i przerostową chorobę nerek (PKD). Bładość skrzeli (ryc. 3) występująca u pstrągów w różnym wieku, zwłaszcza u pstrągów tęczowych, przy obecności wybroczyn w tym narządzie oraz w innych narządach i tkankach (w otrzewnej, narządach wewnętrznych i mięśniach) wskazuje na duże prawdopodobieństwo wystąpienia wirusowej posocnicy krwotocznej. Powodem niedokrwistości w przebiegu tej choroby jest wystąpienie intensywnej wybroczynowości w związku ze zniszczeniem przez wirusy komórek wyściełających naczynia krwionośne oraz uszkodzenie nerek, które są głównym narządem krwiotwórczym w stopniu upośledzającym erytropoezę. Bładość skrzeli u kilkucentymetrowych pstrągów, której towarzyszy wysadzenie gałek ocznych (ryc. 3) i nastrzykanie naczyń krwionośnych w narządach wewnętrznych (ryc. 4), wskazuje na zakażenie wirusem martwicy układu krwiotwórczego (IHN). Wirus ten uszkadza również nerki,



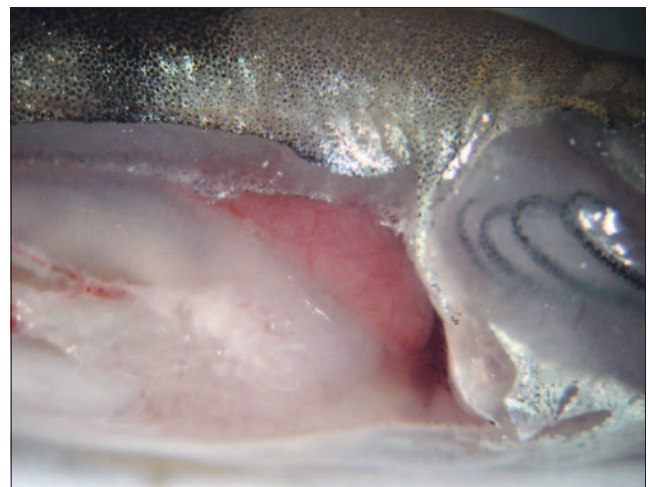
Ryc. 1. Fragment skrzeli: a – wyrostki filtracyjne, b – fragment łuku skrzelowego. Barwienie hematoxylina-eozyna, pow. 10×



Ryc. 2. Normalne skrzela kilkucentymetrowego pstrąga tęczowego



Ryc. 3. Bładość skrzeli, wysadzenie gałki ocznej i wylew krwi od oczodołu u kilkucentymetrowego pstrąga tęczowego chorego na wirusową posocnicę krwotoczną



Ryc. 4. Bładość skrzeli, nastrzykanie naczyń krwionośnych wątroby u kilkucentymetrowego pstrąga tęczowego chorego na martwicę układu krwiotwórczego

a ponadto śledzionę, która jest magazynem krwi. Obecność tego wirusa stwierdzano między innymi wewnątrz erytrocytów. Jeśli błądź skrzelu (ryc. 5) u kilkunastocentymetrowych ryb łososiowatych (szczególnie u pstrągów tęczowych) towarzyszą guzowate rozrosty nerek (ryc. 6), wówczas można podejrzewać, że są one chore na przerostową chorobę nerek.

We wszystkich tych przypadkach próbki ryb należy dostarczyć do specjalistycznego laboratorium.

Niedokrwistość występująca w przebiegu przerostowej choroby nerek jest wynikiem uszkodzenia nerek przez stadium rozwojowe pasożyta *Bryosalmona tetracapsula* (rozwijającego się u mszywiolów), dla którego ryba jest gospodarzem przypadkowym (13). W związku z przewlekłym przebiegiem choroby zmiany w nerkach mają charakter przerostowy. Przerost nerek, które w przebiegu tej choroby kilkakrotnie zwiększają swoją objętość, nie rekompensuje jednak obniżonej liczby erytrocytów we krwi obwodowej. Ryby, które przeżyły przerostową chorobę nerek mogą egzystować jedynie w optymalnych warunkach tlenowych. Wykazują one do końca

życia zwiększoną wrażliwość na deficyt tlenu i stres, a ponadto wolniej rosną od ryb, które nie chorowały (13).

Przekrwienie skrzel i zwiększone wydzielanie śluzu w skrzelach

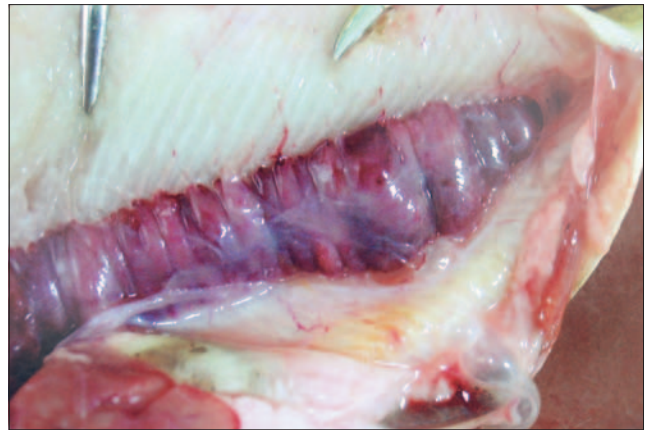
Przekrwienie skrzel, które nabierają nienaturalnej jaskrawoczerwonej barwy i są pokryte dużą ilością śluzu, występuje zwykle w początkowym okresie bakteryjnej choroby skrzelu (bacterial gill disease – BGD) wywołanej przez nitkowatą bakterię *Flavobacterium branchiophila* (ryc. 7, 8), wytwarzającą żółty barwnik, niekiedy przy współdziałaniu innych nitkowatych bakterii (1, 14, 15). Ryby przestają pobierać karmę, wykazują objawy duszenia się, popadają w letarg i nie reagują na bodźce zewnętrzne. Leżą zwykle na dnie zbiornika wodnego lub pływają w pobliżu powierzchni wody. Obserwuje się przy tym zwiększoną częstotliwość ruchów oddechowych oraz rozchlone pokrywy skrzelowe. Niekiedy dochodzi do gwałtownego wyrzucania wody z jamy gębowej. Zjawisko to hodowcy nazywają kaszlem (1). W późniejszym okresie u najbardziej chorych ryb obserwuje

się niewielki obrzęk listków skrzelowych, szczególnie wyraźnie widoczny na ich końcach. Wówczas listki skrzelowe mają kształt maczug, można przy tym zaobserwować krwawienie skrzelu. W końcowym etapie choroby w skrzelach pojawiają się sporadycznie ogniska martwicze, a krawędzie skrzelu są postrzępione. W następstwie obrzęku skrzelu oraz zwiększonego wydzielania śluzu skrzelu stają się pozornie blade i połyskujące. Między listkami skrzelowymi osadzają się brunatne złoże zawieszin pochodzących z wody, które z kolei stanowią podłoże do rozwoju grzybów wodnych, najczęściej rodzaju *Saprolegnia*, o watowatej strukturze (1). Bakteryjna choroba skrzelu jest stosunkowo łatwa do wyleczenia; przypadki nieleczone cechuje duża śmiertelność. U ryb, które przechorowały stwierdza się niekiedy skrócenie pokryw skrzelowych, przez co obnażone zostają listki skrzelowe. Powstanie ubytków pokryw skrzelowych upośledza nie tylko przepływ wody przez skrzelu, ale również hamuje regenerację tkanki skrzelowej.

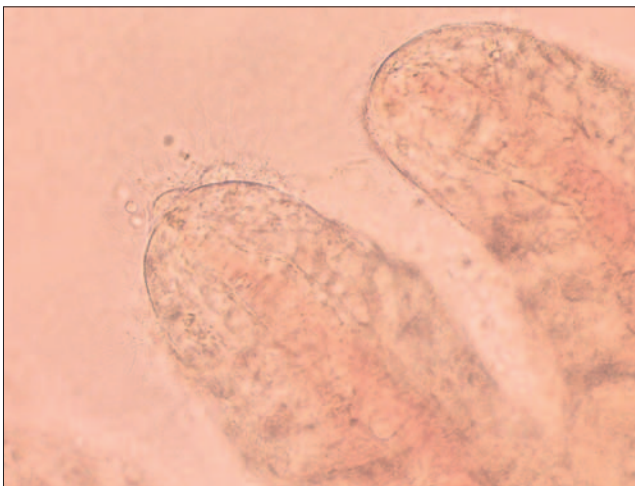
Badanie histopatologiczne wycinków skrzelu ryb chorych na bakteryjną chorobę skrzelu wykazuje patologiczny przerost



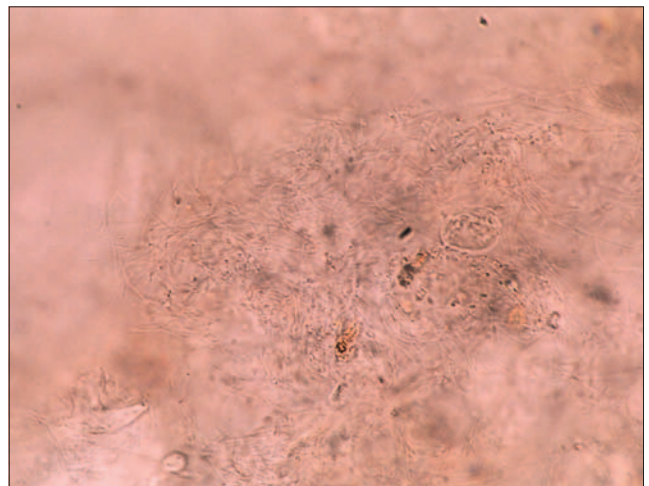
Ryc. 5. Błądź skrzelu u kilkunastocentymetrowego pstrąga tęczowego chorego na przerostową chorobę nerek



Ryc. 6. Przerostowe zmiany w nerkach u pstrąga chorego na przerostową chorobę nerek



Ryc. 7. Bakterie nitkowate na końcach listków skrzelowych i między listkami. Świeży preparat niebarwiony



Ryc. 8. Bakterie nitkowate. Zeszkrobina z skrzelu pstrąga tęczowego. Świeży preparat niebarwiony

(hipertrofię) komórek nabłonkowych i śluzowych pokrywających blaszki oddechowe (ryc. 9), jak również rozplem (hiperplazję) tych komórek, doprowadzający do zrastania się sąsiednich blaszek (ryc. 10). Intensywność zmian histopatologicznych jest tym większa, im więcej bakterii nitkowatych występuje w skrzelach (16). Na bakteryjną chorobę skrzeli chorują zwykle młode ryby łososiowate; szczególnie wrażliwy jest pstrąg potokowy (*Salmo trutta morpha fario*). Przypuszcza się, że czynnikami usposabiającymi do wystąpienia tej choroby są substancje zmieniające fizykochemiczne właściwości śluzu, który traci przez to swoje właściwości obronne. Uważa się, że szkodliwe działanie na śluz ryb wywierają między innymi enzymy występujące w odchodach ryb oraz amoniak powstający w dużej ilości w stawach o zbyt dużej obsadzie ryb (18, 19). Bakteryjna choroba skrzeli często rozwija się 2–3 dni po obfitych opadach deszczu lub po roztopach (1). Wówczas w skrzelach ryb wykazujących objawy chorobowe stwierdza się (za pomocą mikroskopu świetlnego lub elektronowego) na powierzchni listków skrzelowych i blaszek

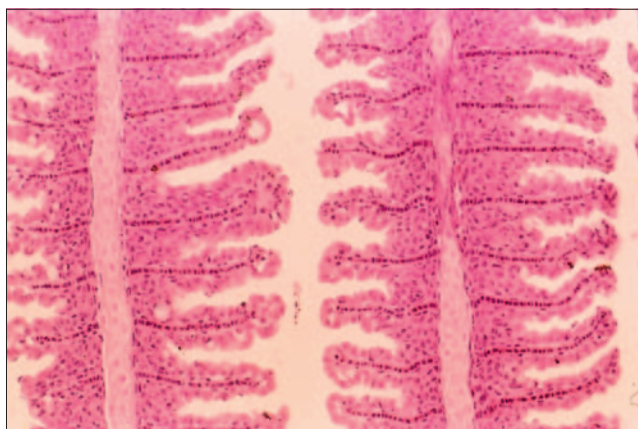
oddechowych obecność nitkowatych bakterii *F. branchiophila*. Bakterie te słabo rosną na podłożach sztucznych, wobec czego w diagnostyce badanie świeżych, niebarwionych preparatów za pomocą mikroskopu świetlnego jest bardziej przydatne we wstępnej diagnostyce niż metody oparte na izolacji bakterii. Bezpośrednim badaniem mikroskopowym świeżych wycinków skrzeli można również oceniać rezultaty leczenia.

Głównym czynnikiem etiologicznym bakteryjnej choroby skrzeli jest *F. branchiophila*, ale przyczyną patologicznych zmian w tym narządzie mogą być również *F. columnaris* i *F. psychrophila*. Zakażenie *F. branchiophila* występuje najczęściej przy temperaturze wody około 20°C, zakażenie *F. columnaris* w temperaturze 15–18°C, natomiast zakażenie *F. psychrophila* najczęściej w temperaturze 4–12°C. W przypadku zakażenia *F. branchiophila* zmiany martwicze występują stosunkowo rzadko, w przeciwieństwie do zakażenia *F. columnaris* i *F. psychrophila*, powodujących często martwicę skrzeli. W przebiegu zakażenia *F. columnaris* w skrzelach stwierdza się zwykle szarobiaławe ogniska

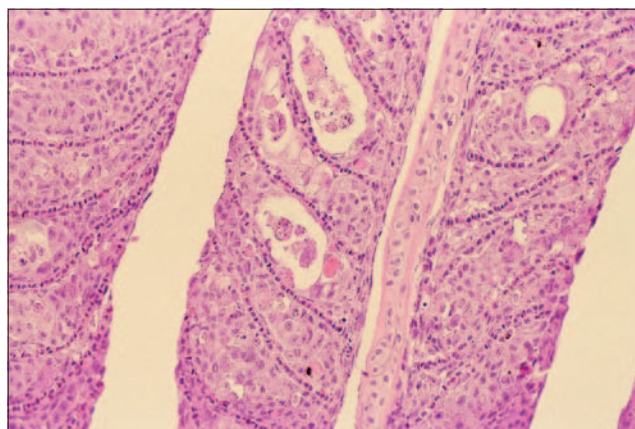
martwicze otoczone czerwoną strefą przekrwienia; niekiedy można zaobserwować również wybroczyny. W przebiegu przewlekłego zakażenia *F. columnaris* wskutek działania enzymów bakteryjnych w okolicy szczęki i zuchwy mogą powstać nawet znaczne ubytki tkanki (1).

Obrzęk i nierównomierne zabarwienie skrzeli

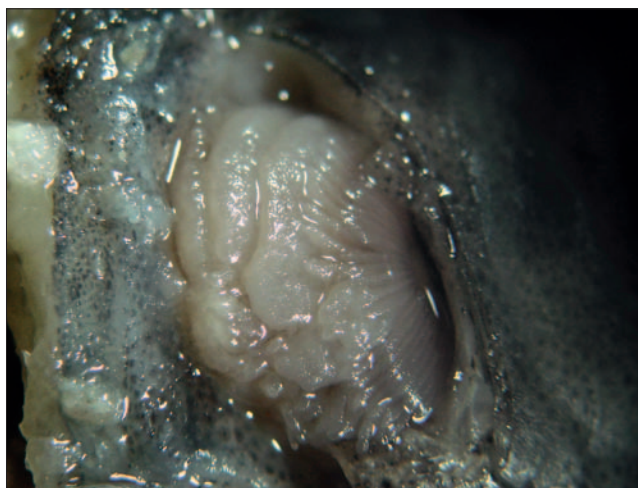
Intensywny obrzęk skrzeli, który objawia się niedomykaniem pokryw skrzelowych, oraz nierównomierne ich zabarwienie w związku z występowaniem nieregularnych białawych plam na tle czerwonych fragmentów niezmiennych skrzeli charakteryzuje grudkową chorobę skrzeli (nodular gill disease – NGD). W przebiegu tej choroby w skrzelach, szczególnie na końcach listków skrzelowych, tworzą się widoczne gołym okiem guzki konsystencji gęstego śluzu niedającego się oddzielić od skrzeli (ryc. 11). Uważa się, że grudkowa choroba skrzeli jest chorobą o złożonej etiologii, w której znaczącą rolę odgrywają ameby słodkowodne (ryc. 12), między



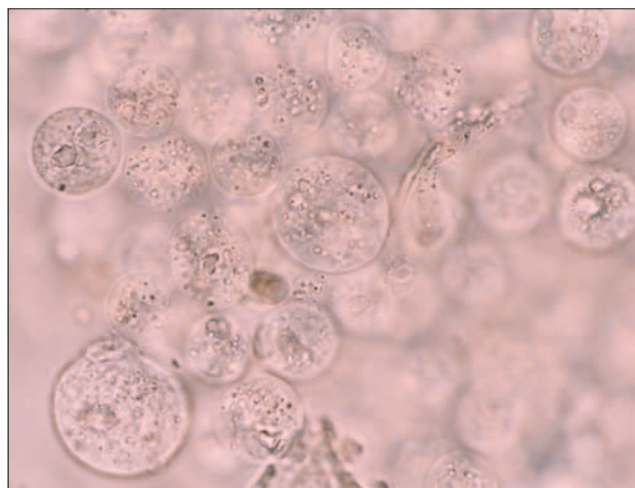
Ryc. 9. Obrzęk i powiększenie komórek nabłonkowych pokrywających blaszki oddechowe. Barwienie hematoksylina-eozyna, pow. 100×



Ryc. 10. Proliferacja komórek skrzelowych, wzrost blaszek oddechowych, przestrzeń wypełniona martwymi i rozpadającymi się komórkami. Barwienie hematoksylina-eozyna, pow. 100×



Ryc. 11. Obrzęk skrzeli kilkunastocentymetrowego pstrąga tęczowego wywołany masową inwazją ameb



Ryc. 12. Ameby wyizolowane ze skrzeli pstrąga tęczowego. Preparat niebarwiony

innymi rodzajów: *Acanthamoeba*, *Hartmannella*, *Naegleria*, *Protocanthamoeba* i *Vannella*. Dykova i wsp. (20) wykazali obecność ameb, należących do tych rodzajów, w skrzelach chorych pstrągów tęczowych (*Oncorhynchus mykiss*) na terenie Niemiec. Autorzy ci uważają, że te żyjące w środowisku wodnym ameby w warunkach intensywnej hodowli pstrągów mogą stać się czynnikiem chorobowym i przyczyniać się do powstawania patologicznych zmian w skrzelach, które mogą spowodować śnięcie ryb.

W Kanadzie Ferguson i wsp. (1) stwierdzili, że grudkową chorobę skrzelii wywołuje słodkowodna ameba z rodzaju *Cicliopodium*. Autorzy uważają, że ameba ta żywi się drobnoustrojami występującymi na skrzelach ryb, między innymi bakteriami z rodzaju *Flavobacterium*. Na skutek drażniącego działania enzymów trawiennych tej ameby następuje proliferacja komórek skrzelowych i zrastanie się blaszek oddechowych (ryc. 10). Śmierć ryb następuje głównie z powodu niedotlenienia. W Polsce przypadek grudkowej choroby skrzelii został po raz pierwszy udokumentowany przez Antychowicza w 2007 r. u palczaków pstrąga tęczowego (21). Związek przyczynowy pomiędzy masowym występowaniem rozwojowych form ameb a zmianami histopatologicznymi w skrzelach pstrągów oraz śnięciami tych ryb autor potwierdził w kilku niezależnych ośrodkach hodowlanych. Na grudkową chorobę skrzelii chorują młode ryby łososiowate należące do różnych gatunków, między innymi palia (*Salvelinus alpinus*), której hodowla rozwija się od niedawna w Polsce. W odróżnieniu od ryb chorych na bakteryjną chorobę skrzelii, ryby chore na grudkową chorobę skrzelii zachowują łaknienie i prawidłowo reagują na bodźce. W przebiegu tej choroby śnięcia dobowe są niewielkie, ale trwają długi czas. Grudkowa choroba skrzelii, w przeciwieństwie do bakteryjnej choroby skrzelii, jest bardzo trudna do wyleczenia (1). Ameby nie reagują na

leki skutecznie hamujące rozwój *F. branchiophila* (czynnik etiologiczny bakteryjnej choroby skrzelii).

Pęcherzyki gazu na łukach skrzelowych i wyrostkach pylorycznych, mikroskopijne pęcherzyki w listkach skrzelowych

Obecność pęcherzyków w skrzelach i w jamie gębowej, którym zwykle towarzyszą podobne patologiczne zmiany wokół oczu i pod skórą, szczególnie na płetwach, świadczy o obecności choroby gazowej. Mikroskopowo stwierdza się obrzęk blaszek oddechowych oraz wydłużone (przybierające kształt naczyń krwionośnych) pęcherzyki w listkach skrzelowych (ryc. 13). Wyatt i Beiningan (22) podają, że w zatokowych naczyniach krwionośnych przebiegających w listkach skrzelowych w chorobie gazowej występują zwykle liczne paciorkowo ułożone pęcherzyki.

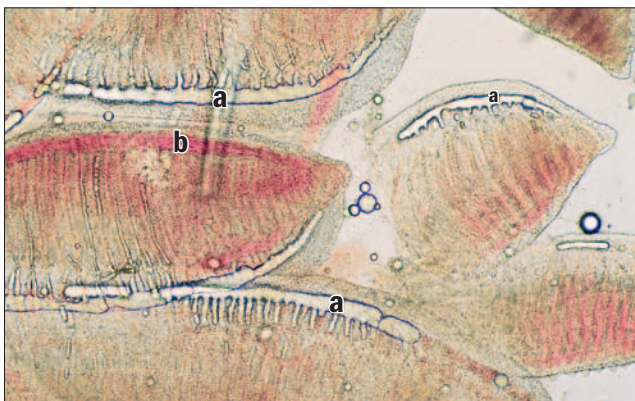
Choroba powstaje wskutek przesylenia wody tlenem lub azotem. Zjawisko to pojawia się wówczas, gdy ciśnienie parcjalne tych gazów w wodzie jest wyższe niż ciśnienie atmosferyczne. Jest to zwykle krótkotrwałe zjawisko występujące w stawach hodowlanych zasilanych wodą ze studni głębinowych, bez właściwego jej odgazowania albo po transporcie ryb w zbiornikach zasilanych czystym tlenem. Aktualnie uważa się, że najczęściej ogólne przesylenie gazami (total dissolved gas supersaturation – TDGS) powstaje w rejonie zapór wodnych, gdzie powoduje poważne zagrożenie życia ryb należących do różnych gatunków, szczególnie stacjonarnych i wędrujących form ryb łososiowatych (23).

Zatrucia substancjami toksycznymi

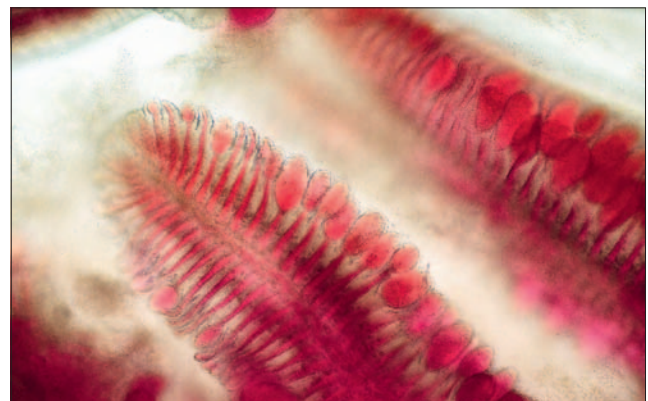
Toksyczne związki chemiczne, podobnie jak czynniki biologiczne, wywołują różnego typu histopatologiczne zmiany w skrzelach. Zwykle nie udaje się ustalić związku przyczynowego między typem zmian histopatologicznych a określonym związkiem

chemicznym, który je wywołał (24, 25). Zmiany histopatologiczne w skrzelach po wykluczeniu czynników biologicznych i choroby gazowej dostarczają cennych informacji co do charakteru zatrucia (ostre, przewlekłe), stopnia zagrożenia życia ryb i możliwości regeneracji tkanki skrzelowej po zatruciu, a więc mają charakter badań prognostycznych. Oprócz tego stan skrzelii ryb odzwierciedla poziom czystości środowiska wodnego. Według Belichevoj i Sharovoj (26) zmiany zwyrodnieniowe w skrzelach ryb mogą być istotnym dowodem na podtruwanie zbiorników wodnych. Patologiczne zmiany w strukturze skrzelii powodują zaburzenie w przepływie wody pomiędzy blaszkami a listkami skrzelowymi, co wpływa niekorzystnie na efektywność skrzelii w spełnianiu ich wielorakich funkcji.

Podczas zatrucia substancjami zewnątrz ryby zbierają się często w pobliżu odpływu wody z zbiornika hodowlanego. Obserwuje się przy tym intensywne wydzielanie śluzu ze skrzelii, które jest obronną reakcją organizmu ryby przed zatruciem. Śluz tworzy ochronną warstwę niedopuszczającą do wnikięcia toksynu do układu krwionośnego ryby (27). Duże ilości śluzu doprowadzić mogą do pienienia się wody (1). W przypadku ostrego zatrucia bardzo toksycznymi substancjami ryby sną przy braku patologicznych zmian w skrzelach. Gdy masowe śnięcie ryb wystąpi gwałtownie i trwa kilka – kilkanaście dni, to wówczas przypuszczać można, że powodem zmian w skrzelach było podostre zatrucie toksycznymi substancjami. Gdy śmiertelność ryb jest niewielka, a następnie wzrasta powoli w ciągu kilku dni, to przyczyną tego może być obecność niewielkich ilości substancji toksycznych, które powstały w zbiorniku hodowlanym (amoniak) albo dostały się wraz ze spływami z sąsiednich gruntów po ulewnym deszczu. W przypadku wystąpienia wybroczyny w skrzelach należy również brać pod uwagę, jako ich przyczynę, obecność zawiesin w wodzie drażniących skrzelia, jak również



Ryc. 13. Naczynie krwionośne listka skrzelowego: a – naczynia krwionośne blaszki oddechowej, b – wypełnione tlenem w przebiegu choroby gazowej u pstrąga tęczowego



Ryc. 14. Wybroczyna powstała wskutek zniszczenia komórek podporowych w szczytowych częściach blaszek oddechowych

reakcję organizmu ryby na silny stres manipulacyjny (odłowy, sortowanie, transport).

Wybroczyny

Gdy przy badaniu klinicznym stwierdzi się wybroczyny w skrzelach pstrągów (ryc. 14), a następnie wykluczy obecność choroby zakaźnej, szczególnie wirusowej posocznicy krwotocznej i zakażenia bakteriami rodzaju *Flexibacterium*, wówczas zachodzi podejrzenie, że przyczyną ich powstawania jest pogorszenie się jakości wody w związku z nadmierną intensyfikacją hodowli lub zatrucie substancjami toksycznymi pochodzącymi spoza zbiorników hodowlanych. Wybroczyny w skrzelach występują pod wpływem działania wielu toksyn, a ich ilość zależy od rodzaju związku chemicznego, jego koncentracji i czasu działania (28, 29, 30, 31, 32). Metale ciężkie, np. kadm, mogą w takim stopniu uszkodzić komórki podporowe w blaszkach oddechowych, że staje się to powodem tworzenia wybroczyn (33). Podobne objawy wywołał eksperymentalnie Velmugan i wsp. (34), poddając ryby działaniu dichlorofosu. Wybroczyny w skrzelach powstają również wskutek działania innych pestycydów (35, 36, 37). Monteiro i wsp. (24) uważają, że wybroczyny występujące w skrzelach są świadectwem ostrego zatrucia ryb substancjami toksycznymi występującymi w wodzie, np. siarczanem miedzi.

Wysiłek i naciek komórkowy

Wysiłek i naciek komórkowy towarzyszący obrzękowi skrzeli jest wyrazem zaburzeń w regulacji ciśnienia osmotycznego Naciek eozynofili (ryc. 15) i innych jednojądrzastych komórek zawierających ziarnistości może wystąpić wskutek działania różnych substancji toksycznych (38, 39). Uważa się, że te komórki mają zdolność neutralizowania związków toksycznych.

Odstawanie nabłonka od blaszek oddechowych

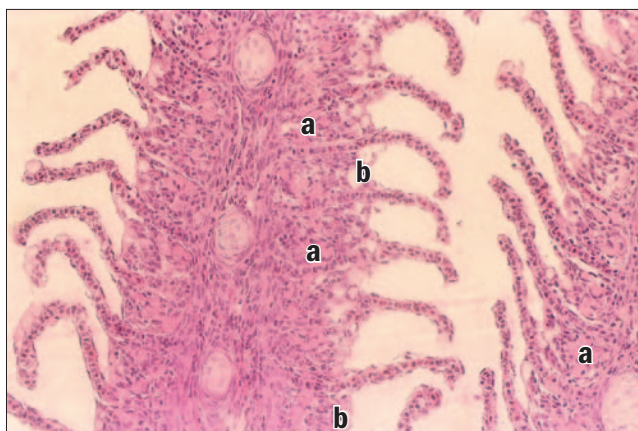
Uważa się, że odstawanie nabłonka od blaszek oddechowych (ryc. 16) następuje natychmiast po zadziałaniu różnych substancji toksycznych i jest objawem ostrego stanu zapalnego skrzeli (24, 40). Najpoważniejszą histopatologiczną zmianą powstającą w skrzelach pstrąga tęczowego pod wpływem cynku i detergentów jest, według Abela i wsp. (41) oraz Skidmore i Tovell (42), oddzielanie się nabłonka skrzelowego od błony podstawnej. Według Bullock (8) oddzielanie się nabłonka od komórek podporowych blaszek oddechowych zapoczątkowuje proces martwicy w skrzelach, który może powodować śmierć ryb. Velmugan i wsp. (34) wykazali eksperymentalnie, że dichlorofos powoduje „odlepianie się” nabłonka i złuszczenie komórek nabłonkowych, obrzęk i martwicę blaszek lub ich deformację, a ponadto proliferację komórek skrzelowych doprowadzającą do zrostów między sąsiadującymi blaszkami.

Hiperplazja, hipertrofia i zrosty blaszek oddechowych

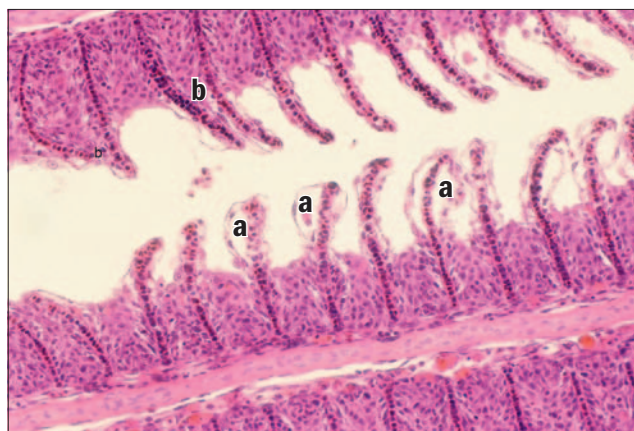
Uważa się, że po długotrwałym działaniu rozcieńczonych substancji toksycznych dochodzi najczęściej do rozplemu komórek między blaszkami oddechowymi (ryc. 15; 38, 40). Początkowo jest to korzystna dla organizmu reakcja adaptacyjno-obronna, mająca na celu ograniczenie przenikania toksyn z wody do naczyń krwionośnych skrzeli i tym samym do krwi ryby (43). Po pewnym czasie wypełnienie przestrzeni międzyblaszkowej proliferującymi komórkami ogranicza w takim stopniu powierzchnię oddechowo-wydalniczą blaszek, że zaczyna to upośledzać funkcje skrzeli (ryc. 10; 44). Rozplem komórek skrzelowych, którym niekiedy towarzyszą wybroczyny i odstawanie nabłonka mogą pojawiać się, jeżeli w środowisku wodnym

występują metale ciężkie, ścieki z papierni, ropa naftowa i amoniak.

Ekspozycja komórek nabłonka pokrywającego blaszki oddechowe na kationy metali ciężkich może powodować zmianę ładunku glikoprotein występujących wewnątrz komórek skrzelowych, co z kolei sprzyja przyciąganiu się między sąsiednimi blaszkami i tworzeniu między nimi mostków (45). Zrosty blaszek oddechowych powstają często również jako następstwo hipertrofii i hiperplazji nabłonka skrzelowego wypełniającego przestrzenie międzyblaszkowe. Zjawisko to obserwowano przy ostrym i przewlekłym zatruciu ryb metalami ciężkimi (46, 47) i pestycydami (48), w przewlekłym zatruciu metalicznym amoniakiem (będącym produktem białkowej przemiany materii ryb) oraz wskutek przewlekłej inwazji pasożytów w skrzelach. Następstwem zrastania się blaszek jest powstawanie zmian zwyrodnieniowych i rozpad pewnej liczby komórek nabłonka skrzelowego (45). Badania Doaust i wsp. (45) wykazały, że zrosty między blaszkami oddechowymi można zaobserwować u pstrągów tęczowych już po 24 godzinach działania siarczanu miedzi i po 36 godzinach działania preparatów rtęciowych. Po 72 godzinach działania rtęci badacze ci zanotowali obrzęk komórek nabłonkowych oraz ich rozpad. Gorašhr i wsp. (49) wyrazili pogląd, że hiperplazja i hipertrofia nabłonka skrzelowego powodujące zrosty blaszek na znacznej powierzchni równocześnie ze zniszczeniem komórek podporowych blaszek, wskazują na bardzo zły stan zdrowia ryb. Ostland i wsp. (17) uważają, że jeżeli zrosty obejmują ponad 50% blaszek, wówczas sytuacja ryby jest krytyczna. Substancje toksyczne wywołują tego typu zmiany zwykle na znacznym obszarze skrzeli, w przeciwieństwie do pasożytów, takich jak kulorzęsek, czy też innych pasożytów wewnętrznych należących do rodzajów *Trichodina*, *Costia* i *Chilodonella*, wskutek



Ryc. 15. Hiperplazja komórek skrzelowych między blaszkami oddechowymi, głównie eozynofili: - a, komórki śluzowe - b. Barwienie hematoksylina-eoZYna, pow. 100×



Ryc. 16. Odstawanie nabłonka od komórek podporowych blaszek oddechowych - a, umiarkowana hiperplazja komórek nabłonkowych listka skrzelowego - b. Barwienie hematoksylina-eoZYna, pow. 100×

których powstają najczęściej jedynie zmiany w miejscu ich występowania (25). Według Fergusona i wsp. (1) obecność tych pasożytów jest wskaźnikiem niskiej czystości wody. Zaburzenie w oddychaniu i regulacji ciśnienia osmotycznego może stać się główną przyczyną śmierci ryby, pomimo kompensacyjnego wzrostu częstotliwości skurczów serca i ruchów oddechowych (24). Ryby mogą przez czas dłuższy żyć w wodzie o niskiej czystości, ciągle zanieczyszczonej substancjami toksycznymi, jak również w wodzie, w której występują zawiesiny, ale stałe podrażnienie skrzelii doprowadza do przewlekłej proliferacji komórek skrzelowych (26).

Regeneracja skrzelii

Organizm ryby wykazuje stosunkowo dużą, w porównaniu do organizmu zwierząt stałocieplnych, zdolność do regeneracji ubytków tkanek i narządów. Szybkość procesów regeneracyjnych, między innymi w skrzelach, zależy w dużym stopniu od warunków panujących w środowisku wodnym. Najszybciej przebiegają one u młodych ryb przebywających w podwyższonych temperaturach (w granicach temperatur optymalnych dla ryb danego gatunku), przy dobrym natlenieniu wody i obfitości pokarmu naturalnego lub dobrej jakości karmy sztucznej (50, 51). Hiperplazja nabłonka skrzelowego jest nie tylko odpowiedzią na czynnik drażniący i nie tylko ma na celu ochronę organizmu ryby, lecz jest również elementem procesu regeneracyjnego zmierzającego do wyleczenia uszkodzonego narządu. Przy niskiej temperaturze wody i powolnym wzroście ryb regeneracja skrzelii może trwać wiele miesięcy.

Przy analizie preparatów histopatologicznych pod kątem oceny procesu regeneracji skrzelii należy brać pod uwagę, że zmiany adaptacyjne, patologiczne i regeneracyjne mogą występować w skrzelach równocześnie i zwykle trudno je odróżnić. Według Belichevej i Sharovej (26) w skrzelach ryb żyjących w ciągle podtruwanych zbiornikach wodnych mogą występować w tym samym czasie zmiany progresywne, regresywne, zapalne, krążeniowe, a niekiedy nowotworowe. Według Ostland i wsp. (16) adaptacyjny przerost nabłonka skrzelowego przechodzić może w intensywną patologiczną proliferację nabłonka (przy której blaszki tracą całą powierzchnię czynną), następnie pojawiają się zrosty między blaszkami, którym towarzyszy hipertrofia, zwyrodnienie, martwica i rozpad komórek skrzelowych. Komórki nekrotyczne są ewentualnie pochłaniane przez makrofagi i rozkładane przez ich enzymy lizosomalne (52). Uzyskany w ten sposób materiał może następnie służyć jako budulec podczas regeneracji tkanek. Według

Darwish (53) w przypadku niewielkiej hipertrofii regeneracja skrzelii u niektórych ryb następuje po 2 dniach od momentu ustąpienia działania substancji toksycznej, natomiast przy intensywnej hiperplazji i hipertrofii połączonej z martwicą komórek oraz wystąpieniem zrostów blaszek oddechowych skrzelia mogą powrócić do normy po 8 dniach. Proces regeneracji przebiega szybciej u ryb młodych niż u starszych. Podwyższenie temperatury wody w granicach optymalnych dla ryb określonego gatunku i dobre jej natlenienie oraz obecność dużych ilości dobrego pokarmu wpływają korzystnie na regenerację tkanki skrzelowej. Możliwość regeneracji tkanki skrzelowej i funkcji skrzelii zależy nie tylko od warunków środowiska wodnego i wieku ryby, lecz również od intensywności zmian patologicznych. Poważne uszkodzenia około 50% powierzchni oddechowej skrzelii zwykle powodują śmierć ryby. Po przeżyciu mniej rozległych zmian ryby wykazują zwykle większą wrażliwość na pogorszenie się jakości wody niż ryby, które nigdy nie miały uszkodzonych skrzelii. Regeneracja skrzelii ulega zahamowaniu w przypadkach powtarzających się zatruc i staje się niemożliwa, jeżeli po uszkodzeniu skrzelii przez czynnik chemiczny nastąpi wtórne zakażenie bakteriami lub grzybami wodnymi.

Piśmiennictwo

- Ferguson H. W., Lomsden J. S., Mac Phee D. D., Ostland V. E.: *Gill diseases of fish in Ontario farms*. Fish Pathology Laboratory, Pathology Department, Ontario Veterinary College, University of Guelph. Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs. Queen's Printer, Ontario, 1994.
- Antychowicz J., Matras M.: Histopatologiczne badanie skrzelii w diagnostyce chorób ryb i zatruc środowiska wodnego. *Med. Weter.* 2008, **64**, 389-394.
- Antychowicz J.: Patologiczne zmiany w skrzelach karpia – przyczyny i skutki. *Zycie Wet.* 2013, **88**, 380-385.
- Antychowicz J.: Najgroźniejsze choroby ryb lososiowatych w Polsce. *Magazyn Wet.* 2008, **5**, 520-524.
- Antychowicz J.: Choroby ryb karpiowatych występujące na terenie Polski. *Magazyn Wet.* 2008, **10**, 1072-1076.
- Antychowicz J.: Podstawy hodowli ryb lososiowatych. *Zycie Wet.* 2010, **85**, 845-849.
- Antychowicz J.: Hodowla karpia w Polsce oraz profilaktyka zakażeń herpeswirusem koi. *Zycie Wet.* 2011, **86**, 970-973.
- Bullock G.L.: Bacterial gill disease of fresh water fishes. United States Department of the Interior, *Fish Wildl. Serv.* 1990.
- Rivindra Babu G., Neeraja P.: Histological changes in certain tissues of fish on ambient ammonia stress and post ammonia state. *Indian J. Fish.* 2012, **2**, 430-435.
- Camargo M.M., Martinez C.B.: Histopathology of gills, kidney and liver of entropical fish caged in an urban stream. *Neotrop. Ichthyol.* 2007, **5**, 327-336.
- Trophon S., Kruatrachue M., Uptahau P., Pochthitoyok S., Saphaphongs M., Jarikhuan S.: Histopathological alterations of white seabass *Lates calcarifer* in acute and subchronic cadmium exposure. *Environ. Pollut.* 2003, **121**, 307-320.
- Iqbal F., Qureshi I.Z., Ali M.: Histopathological changes in the kidney of common carp *Cyprinus carpio* following nitrate exposure. *J. Res. Sci.* 2004, **15**, 411-418.
- Antychowicz J.: *Przerostowa choroba nerek ryb*. Państwowy Instytut Weterynaryjny. Puławy, 2001.
- Lumsden J.S., Ostland V.E., Ferguson H.W.: Use of hydrogen peroxide to treat experimentally induced bacterial gill disease in rainbow trout. *J. Aquat. Anim. Hlth.* 1998, **10**, 230-240.

- Tuchom M., Barbier P., Bernadet J.F., Loux V., Vacherie B., Barbe V., Rocha P.C., Duchaud E.: Complete genome sequence of the fish pathogen *Flavobacterium branchiophilum*. *Appl. Environ. Microbiol.* 2011, **77**, 7656-7652.
- Ostland V.E., Ferguson H.W., Prescott J.W., Stevenson R.M.W., Barker I.K.: Bacterial gill disease of salmonids; relationship between the severity of gill lesions and bacterial recovery. *Dis. Aquat. Org.* 1990, **9**, 5-14.
- Ostland V.E., Mac Phee D.D., Lumsden L.S., Ferguson H.W.: Virulence of *Flavobacterium branchiophilum* in experimentally infected animals. *J. Fish. Dis.* 1995.
- Roberts R.J.: *Fish Pathology*. W. B.Saunders. London, 2001.
- Turnbull J., F.: *Epitheliocystis and salmonid rickettsial septicemia*. W: *Bacterial Diseases of Fish*. Blackwell Scientific. Oxford, 1993, 237-254.
- Dykova I., Kostka M., Wortberg F., Nardy E., Peckova H.: New data on aetiology of nodul ar gill disease in rainbow trout, *Ocorhynchus mykiss*. *F. Parasit.* 2010, **3**, 157-162.
- Antychowicz J.: Study on rainbow trout nodular gill disease detected in Poland. *Bull. Vet. Inst. Pulawy* 2007, **51**, 547-551.
- Wyatt E.J., Beiningen K.T.: Nitrogen gas bubble disease related to hatchery water supply from the high head regulating dam. *Fish Comm. Oregon Res. Report*, 1971, **3**, 3-12.
- Beeman J.W., Venditti D.A., Morris R.G., Gadomski D.M., Adams B.J., Vanderkoi S.P., Robinson S., Maule A.G.: Gas bubble disease in resident fish below Grand Coulee Dam. Final report of research. US. Department of Interior, US. Geological Survey, US. Bureau of Reclamation, 2003.
- Monteiro S.M. Rocha E., Fontainhas-Fernandes A., Sousa M.: Quantitative histopathology of *Oreochromis niloticus* gill after copper exposure. *J. Fish. Biol.* 2008, **73**, 1376-1392.
- Movahedina A., Abtahi B., Bahmani M.: Gill histopathological lesions of sturgeons. *Asian J. Anim. Vet. Advances* 2012, **7**, 710-717.
- Belicheva L.A., Sharova J.M.: Assessment of fish health status under long-term water pollution: vygozero reservoir north-vest Russia. *Proceedings of the 8th International Scientific and Practical Conference*. Volume 11. Rezaknes Augstskola, Rezekne RA Izdevnieciba, 2011.
- Kumar S., Pant S.C.: Histopathological effects of acutely toxic levels of copper and zinc on gills liver and kidney of *Puntius conchionius* (Ham) *Indian J. Exp. Biol.* 1981, **19**, 191-194.
- Van den Heuvel M.R., Power M., Richards J., Mac Kinnon M., Dixon D., G.: Disease and gill lesions in yellow perch (*perca fluviatilis*) exposed to oil sands mining-associated water. *Ecotox. Environ. Safe.* 2000, **46**, 334-341.
- Trophon S., Kruatrachue M., Upatham E. S., Pochthitoyok P., Sahaphong S., Jarikhuan S.: Histopathological alterations of white seabass, *Latescalcarifer* in acute and subchronic cadmium exposure. *Environ. Pollut.* 2003.
- Schwaiger J., Ferling H., Mallow U., Wintermayr H., Negele R.D.: Toxic effects of the non-steroidal anti-inflammatory drug diclofenac. Part I: Histopathological alterations and bioaccumulation in rainbow trout. *Aquat. Toxicol.* 2004, **68**, 141-150.
- Al-Attar A.M.: The influences of nickel exposure on selected physiological parameters and gill structure in the teleost fish *Oreochromis niloticus*. *J. Biol. Sci.* 2007, **7**, 77-85.
- Bais U.E., Lochande M.V.: Effect of cadmium chloride on histopathological changes in the freshwater fish *Ophiocephalus striatus* (Channa). *Int. J. Zool. Res.* 2012, **8**, 23-32.
- Pantung N., Helander K.G., Halender H.F., Cheevapom V.: Histopathological alterations of hybrid walking catfishes (*Clarias macrocephalus* x *Clarias gariepinus*) in acute and subacute cadmium exposure. *Environasia* 2008, 22-27.
- Velmugan B., Selvanayagam M., Cengiz E.I., Ulu E.: Histopathological changes in the gills and liver tissues of freshwater fish, *Cirrhinus mrigala* exposed to dichloro-vos. *Braz. Archiv. Biol. Technol.* 2009, **52**, 1291-1296.
- Cengiz E., Ulu E.: Histopathological changes in the gills of mosquitofish, *Gambusia affinis* exposed to endosulfan. *Environ. Contam. Tox.* 2002, **68**, 290-293.
- Cengiz E., Ulu E.: Histopathology of gills in mosquitofish *Gambusia affinis* after long-term exposure to sublethal concentrations of malathion. *J. Environ. Sci. Heal. B.* 2003, **38**, 581-589.
- Cengiz E., Ulu E.: Gill and kidney histopathology in the fresh-water fish *Cyprinus carpio* after acute exposure to deltamethrin. *Environ. Toxicol. Phar.* 2006, **22**, 200-204.
- Kantham K.P.L., Richards R.H.: Effect of buffers on the gill structure of common carp, *Cyprinus carpio* L., and rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *J. Fish. Dis.* 1995, **18**, 411-428.

39. Autham M.M., Abbas H.H.: Accumulation and distribution of copper and zinc in both water and some vital tissues of two fish species (*Tilapia zilli* and *Mugil cephalus*) of lake Qarum, Fayoum Province, Egypt. *Pak. J. Biol. Sci.* 2007, **10**, 2106-2122.
40. Singhadach P., Jiraungkoorsku W., Tansatit T., Kosa P., Ariyasrijit C.: Calcium preexposure reducing histopathological alterations in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) after lead exposure. *J. Fish. Aquat. Sci.* 2009, **4**, 228-237.
41. Abel P.D., Skidmore J.F.: Toxic effects of an anionic detergent on the gills of rainbow trout. *Water. Res.* 1975, **9**, 759-765.
42. Skidmore F.M., Tovell P.W.A.: Toxic effects of zinc sulfate on the gills of rainbow trout. *Water. Res.* 1972, **6**, 217-230.
43. Mohamed F.A.: Histopathological studies on *Tilapia zilli* and *Sole vulgaris* from lake Qarum. Egypt. *World J. Fish Mar. Sci.* 2009, **1**, 29-39.
44. Bullock G.L.: Digital Commons@University of Nebraska Lincoln, 1990.
45. Daoust P.Y., Wobeser G., Newstead J.D.: Acute pathological effects of inorganic mercury and copper in gills of rainbow trout. *Vet. Pathol.* 1984, **21**, 93-101.
46. Gardner G.R., Yevich P.P.: Histological and hematological responses of an estuarine teleost fishes to cadmium. *J. Fish. Res. Board. Can.* 1970, **27**, 2185-2196.
47. Wobeser G.: Acute toxicity of methyl mercury chloride and mercuric chloride to rainbow trout (*Salmo gairdneri*) fry and fingerlings. *J. Fish. Res. Board. Can.* 1975, **32**, 2005-2030.
48. Eller L.L.: Pathology in redear sunfish exposed to hydrothol 191. *Trans. Amer. Fish. Soc.* 1969, **98**, 52-59.
49. Gorashr S., Shajeei H., Shamoushaki N., Babakhani A.: Histopathological studies on kidneys and gills of *Onchorhynchus mykiss* exposed to sublethal concentration of ethylenediamine-tetraacetic acid (EDTA). *Global Vet.* 2013, **2**, 121-127.
50. Burrows R.E.: Effects of accumulated excretory products on hatchery-reared salmonids. Res. Rep. U51. Eller L.L.: Gill lesions in freshwater teleost. The Pathology of Fishes. Rybelin Migaki. The University S. Fish. Wildl. Serv., 1964.
51. Eller L.L.: Gill lesions in freshwater teleosts. W: *The Pathology of Fishes*. Winsconsin Press. Madison, 1975, 305-330.
52. Glinsman W.H., Ericsson J.L.E.: Observations on the subcellular organization of hepatic parenchymal cells. II. Evolution of reversible alterations induced by hypoxia. *Lab. Invest.* 1966, **5**, 762-777.
53. Darwish A.M.: Annual Meeting of World Aquaculture Society, 2002. Dyskusyjne Forum Internetowe. Koiphen-The Official Chatboard of WWKC. www.koiphen.com, 2006.

Prof. dr hab. Jerzy Antychowicz,
e-mail: jerzy.antychowicz@gmail.com