

КРАТКИЕ
СООБЩЕНИЯ

УДК 597.554.3.612.112.591.441:461.2

ПРОЦЕНТНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ЛЕЙКОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ
КРОВИ, ГОЛОВНОЙ ПОЧКИ И СЕЛЕЗЁНКИ ЛЕЩА
ABRAMIS BRAMA (CYPRINIDAE) ВОДОХРАНИЛИЩ СРЕДНЕЙ ВОЛГИ

© 2023 г. Т. А. Суворова¹, *, А. В. Герман¹, Д. В. Микряков¹

¹Институт биологии внутренних вод РАН – ИБВВ РАН, пос. Борок, Ярославская область, Россия

*E-mail: tanya@ibiw.ru

Поступила в редакцию 24.02.2022 г.

После доработки 11.03.2022 г.

Принята к публикации 15.03.2022 г.

Проведено сравнительное исследование лейкоцитарной формулы периферической крови, головного отдела почки и селезёнки леща *Abramis brama*, обитающего в водохранилищах средней Волги (Куйбышевское, Чебоксарское и Горьковское). У исследованных рыб в периферической крови и селезёнке зафиксировано преобладание лимфоцитов и низкое содержание нейтрофилов. В головной почке лещей Куйбышевского водохранилища отмечен значимо высокий уровень бластных форм клеток и низкий – нейтрофилов, а у особей из Горьковского водохранилища – низкое содержание моноцитов и отсутствие эозинофилов по сравнению с рыбами из других водоёмов.

Ключевые слова: лещ *Abramis brama*, периферическая кровь, пронефрос, селезёнка, лейкоциты, Куйбышевское, Чебоксарское и Горьковское водохранилища.

DOI: 10.31857/S0042875223010174, **EDN:** EXTEFB

Изучение физиологических параметров организма водных животных – важный аспект при проведении комплексных экологических исследований водоёмов. Полученные данные позволяют оценить не только здоровье особи, но и судить о состоянии окружающей среды. Водная среда обитания лабильна и часто подвергается воздействию различных экологических факторов. На происходящие перемены гидробионты отвечают изменениями в функционировании внутренних систем организма. Одними из первых реагируют клетки, ткани и органы кроветворной и иммунной систем. О функциональных изменениях в их работе можно судить по различным гематологическим и иммунологическим показателям, в том числе количественному и качественному составу клеток крови. Показано, что при воздействии разнообразных факторов происходят изменения в соотношении различных форм лейкоцитов (Микряков, Лапирова, 1997; Микряков и др., 2001, 2021; Житенева и др., 2004; Лапирова, Заботкина, 2010; Кузина, 2011; Басова, 2017). Это полиморфные и полифункциональные клетки, выполняющие разнообразные иммунологические и физиологические функции. Лимфоциты – популяция лейкоцитов, обеспечивающая иммунный надзор, формирование и регуляцию клеточного и гуморального иммунного ответа. Моноциты – предшественники макрофагов, обладают высокой фагоцитарной ак-

тивностью по отношению к продуктам распада клеток и тканей, обезвреживают токсины, принимают участие в выработке цитокинов. Нейтрофилы и эозинофилы участвуют в фагоцитозе микроорганизмов, синтезе медиаторов иммунного ответа и неспецифических факторов иммунитета (Ellis, 1977; Микряков, 1991; Manning, Nakanishi, 1996; Zapata et al., 1996; Кондратьева и др., 2001; Van Muiswinkel, Vervoorn-Van Der Wal, 2006; Katzenback, Belosevic, 2009; Uribe et al., 2011; Scapigliati, 2013; Havixbeck, Barreda, 2015; Hodgkinson et al., 2015). В составе лейкоцитов присутствуют также юные незрелые, или бластные, формы клеток, доля которых в лейкограмме может составлять до 10% и зависит от видовых и экологических особенностей (Иванова, 1983).

Лещ *Abramis brama* – один из основных промысловых видов р. Волга – относится к видам с длительным жизненным циклом, живёт до 20 лет, обычно до 12–14. Стайная рыба, предпочитает медленно текущие водоёмы, питается в основном донными беспозвоночными. В пределах каждого водоёма образует мелкие стада, частично смешивающиеся в период нагула и зимовки. Различают “проходных” лещей, быстро покидающих нерестилища, мигрирующих примерно на 60–120 км, и “жилых”, протяжённость миграций которых не превышает 20 км (Атлас ..., 2002; Герасимов и др., 2018).

За последние годы исследования гематологических и иммунологических показателей у рыб, обитающих в водохранилищах Волги, проводили не часто. Результаты исследований периферической крови рыб, в том числе лещей, Куйбышевского и Саратовского водохранилищ в конце прошлого и начале нынешнего столетия зафиксировали наличие значительного числа особей с аномалиями клеток крови и соотношения гранулоцитов и агранулоцитов с отклонениями от нормы (Минеев, 2007, 2016). На основании полученных данных автором сделан вывод о высокой антропогенной нагрузке на эти водоёмы. Напротив, по итогам исследований 2015–2016 гг. сделан вывод о том, что у большинства лещей Волжских водохранилищ соотношение различных форм лейкоцитов крови и иммунокомпетентных органов находится в пределах нормы, кроме рыб, заражённых паразитами (Заботкина и др., 2018). Однако доступная информация касается отдельных водоёмов или носит отрывочный характер. В связи с этим в настоящее время актуально проведение гематологических исследований рыб для оценки состояния здоровья ихтиофауны и экологической ситуации в водохранилищах Волги. Полученные данные могут информативно отражать последствия хронического загрязнения вод, стрессовые условия в периоды, предшествующие исследованиям (Моисеенко, 2009; Минеев, 2016), и быть использованы в рамках проекта “Сохранение и предотвращение загрязнения реки Волги”¹.

Цель настоящей работы – провести сравнительный анализ соотношения лейкоцитов периферической крови и иммунокомпетентных органов популяций леща водохранилищ средней Волги.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Отлов рыб проводили 19–26 сентября 2019 г. донным тралом с борта научно-исследовательского судна “Академик Топчиев” в ходе комплексной гидробиологической экспедиции на водохранилищах средней Волги: Куйбышевском, Чебоксарском и Горьковском. Всего выловлено 43 экз. леща (средней длиной по Смитту 34.7 ± 0.9 см и массой 807.1 ± 66.8 г), у которых сразу после вылова отбирали кровь из хвостовой вены, головной отдел почки и селезёнку. Мазки крови и мазки-отпечатки органов наносили на обезжиренное предметное стекло, фиксировали в 96%-ном этаноле в течение 30 мин и окрашивали по Романовскому–Гимзе. Микроскопическое исследование мазков проводили под световым микроскопом Биомед-6ПР1-ФК с использованием иммерсионного объектива (увел. $\times 100$). В каждом препарате

анализировали 200 лейкоцитов, которые идентифицировали, используя общепринятую методику (Иванова, 1983). При косвенной оценке уровня содержания лейкоцитов в единице объёма крови использовали индекс обилия лейкоцитов (частоту встречаемости клеток белой крови), для определения которого в мазке периферической крови просматривали 100 полей зрения на различных участках препарата при увеличении $\times 40$. В каждом поле зрения подсчитывали число лейкоцитов, полученные данные суммировали и делили на 100, получая среднее число в одном поле зрения (Микряков, Лапирова, 1997). Статистическую обработку результатов исследования проводили по стандартным алгоритмам, реализованным в пакете программ Statistica v6.0 с использованием *t*-теста. Различия считали значимыми при $p \leq 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В мазках периферической крови и иммунокомпетентных органов исследованных особей обнаружены характерные для большинства видов рыб типы лейкоцитов (табл. 1). В лейкограммах преобладали лимфоциты. В периферической крови и селезёнке доля этих клеток составляла 91–94%, а в головной почке – 83–85%. Содержание других типов клеток было значительно ниже и их доли различались. У всех исследованных лещей в периферической крови после лимфоцитов в порядке убывания доли следовали эозинофилы (3–4%), моноциты (1.2–2.9%), бластные формы клеток (0.8–1.3%) и нейтрофилы (<1%). В головной почке и селезёнке доля клеток различалась и составляла: эозинофилов – соответственно 0–1.42 и 1.17–1.32%, моноцитов – 2.53–3.89 и 1.60–1.83%, бластных форм клеток – 6.89–11.55 и 2.21–3.38%, нейтрофилов – 0.02–2.94 и 0–0.67%.

Достоверные различия по содержанию моноцитов в крови и пронефросе зафиксированы между особями из Горьковского и Чебоксарского водохранилищ. В лейкограмме головной почки лещей Куйбышевского вдхр., по сравнению с особями из других водоёмов, зарегистрировано низкое содержание нейтрофилов и высокое бластных форм клеток. В селезёнке таких отличий не зафиксировано. Также стоит отметить отсутствие эозинофилов в пронефросе рыб из Горьковского и сегментоядерных нейтрофилов в селезёнке лещей из Куйбышевского и Чебоксарского водохранилищ.

Частота встречаемости лейкоцитов у лещей из исследованных водоёмов различалась (табл. 2). Наиболее высокий показатель зафиксирован у рыб из Чебоксарского вдхр., наименьший – у рыб из Горьковского вдхр.

¹ Утверждён Президиумом Совета при Президенте Российской Федерации по стратегическому развитию и приоритетным проектам (протокол № 9 от 30.08.2017 г.).

Таблица 1. Соотношение лейкоцитов в периферической крови, головной почке и селезёнке леща *Abramis brama* из водохранилищ средней Волги, %

| Водохранилище | Лимфоциты | Моноциты | Нейтрофилы | | Эозинофилы | Бластные формы |
|----------------------|--------------|---------------|--------------|--------------|-------------|----------------|
| | | | ПЯ | СЯ | | |
| Периферическая кровь | | | | | | |
| Куйбышевское | 94.07 ± 1.08 | 1.69 ± 0.30 | 0.15 ± 0.06 | 0 | 3.15 ± 0.94 | 0.92 ± 0.34 |
| Чебоксарское | 91.36 ± 1.13 | 2.92 ± 0.61 | 0.15 ± 0.08 | 0.05 ± 0.03 | 4.17 ± 0.88 | 1.32 ± 0.28 |
| Горьковское | 93.92 ± 0.85 | 1.25 ± 0.41** | 0 | 0.03 ± 0.03 | 3.96 ± 0.82 | 0.82 ± 0.26 |
| Почка | | | | | | |
| Куйбышевское | 83.16 ± 2.14 | 3.00 ± 0.78 | 0.66 ± 0.37 | 0.27 ± 0.12 | 1.33 ± 0.40 | 11.55 ± 1.05 |
| Чебоксарское | 83.57 ± 1.02 | 3.89 ± 0.35 | 2.94 ± 0.32* | 0.02 ± 0.02* | 1.42 ± 0.39 | 7.76 ± 0.93* |
| Горьковское | 85.46 ± 1.06 | 2.53 ± 0.39** | 2.28 ± 0.41* | 0.25 ± 0.12 | 0 | 6.89 ± 0.91* |
| Селезёнка | | | | | | |
| Куйбышевское | 93.05 ± 0.88 | 1.83 ± 0.36 | 0.44 ± 0.10 | 0 | 1.27 ± 0.30 | 3.38 ± 0.39 |
| Чебоксарское | 93.80 ± 0.43 | 1.60 ± 0.21 | 0.67 ± 0.17 | 0 | 1.32 ± 0.21 | 2.60 ± 0.25 |
| Горьковское | 94.42 ± 0.61 | 1.78 ± 0.36 | 0.35 ± 0.13 | 0.03 ± 0.03 | 1.17 ± 0.23 | 2.21 ± 0.39 |

Примечание. Нейтрофилы: ПЯ – палочкоядерные, СЯ – сегментоядерные. Здесь и в табл. 2: приведены средние значения и стандартная ошибка; * значение достоверно ($p \leq 0.05$) отличается от рыб из Куйбышевского вдхр., ** то же из Чебоксарского вдхр.

ОБСУЖДЕНИЕ

Исследованные ткани и органы различаются структурно-функциональной организацией. Периферическая кровь служит транзитом иммунокомпетентных клеток, в котором проявляется суммарный эффект изменения активности иммунной системы. В головном отделе почки гемопоэтическая ткань расположена в синцитии ретикулярной ткани между петлями нефронов и выделятельными каналами. У большинства видов рыб здесь происходит в основном лимфо- и гранулопоэз. Основная масса селезёнки состоит из красной пульпы, а имеющаяся белая пульпа, выполняющая функцию лимфопоэза, недостаточно развита и расположена в виде отдельных диффузных скоплений. Селезёнку считают основным местом эритро- и тромбопоэза у рыб, но отмечают её слабую лимфо-, грануло- и плазмопоэтическую активность (Микряков, Балабанова, 1979; Fänge, 1982; Zapata et al., 1996; Кондратьева и др., 2001; Микряков и др., 2001).

Обнаруженное высокое содержание агранулоцитов и низкое – гранулоцитов в лейкограмме крови, по-видимому, характерно для леща, так как согласуется с ранее полученными данными (Иванова, 1983; Кейстер, 2007; Лапирова, Флёрова, 2015; Суворова, Герман, 2021). Стоит также отметить повышенное содержание эозинофилов в крови лещей из всех исследованных водоёмов. У особей из Саратовского вдхр. этот показатель не превышал 1% (Суворова, Герман, 2021). Увеличение доли таких клеток указывает на усиление противоинвазионного иммунитета или аллергическую реакцию. Аналогичное повышение содер-

жания эозинофилов было ранее зафиксировано у лещей Угличского вдхр., заражённых трипаносомами (*Trypanosoma*) (Лапирова, Заботкина, 2018).

В головной почке в содержании большинства форм лейкоцитов у лещей из разных водохранилищ обнаружены значительные различия, вероятно, связанные с температурным режимом водоёмов во время отлова рыб. В находящихся ниже по течению Чебоксарском и Куйбышевском водохранилищах температура воды составляла 14–16°C, а в Горьковском – 10.8–13.5°C. Согласно полученным данным, в головной почке по мере повышения температуры воды в водоёме доля бластных форм клеток увеличивалась, нейтрофилов – снижалась. Аналогичные тенденции можно отметить при сравнении полученных результатов с данными по лещам из находящегося ниже по течению Саратовского водохранилища (Суворова, Герман, 2021), температура в котором составляла 16–17°C. Как правило, более низкие температуры приводят к замедлению механизмов иммунного ответа (Трофимова, Микряков, 1973; Le Morvan et al., 1998; Abram et al., 2017; Van Muiswinkel, 2020). От температурного режима зависит количество ан-

Таблица 2. Индекс обилия лейкоцитов в периферической крови леща *Abramis brama* из водохранилищ средней Волги, ед. в поле зрения

| Водохранилище | Индекс обилия лейкоцитов |
|---------------|--------------------------|
| Куйбышевское | 120.62 ± 10.11 |
| Чебоксарское | 134.80 ± 8.68 |
| Горьковское | 93.75 ± 6.85*, ** |

тигенреагирующих клеток, функциональная активность антигенразрушающих структур, интенсивность антителогенеза и скорость выведения продуктов распада бактерий (Балабанова, 1979; Микряков, 1991; Голованов, Микряков, 2011; Голованов, 2015). Изменение процентного содержания бластных форм клеток в лейкограмме главной почки указывает на зависимость интенсивности лейкопоза от температурного фактора. Это подтверждают данные анализа индекса обилия лейкоцитов. У лещей из водоёмов, находящихся ниже по течению, этот показатель значительно выше, в том числе у леща Саратовского водохранилища (Суворова, Герман, 2021).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, проведённое исследование показало преобладание агранулоцитов и низкую долю гранулоцитов в периферической крови и иммунокомпетентных органах у исследованных лещей. Между рыбами из разных водохранилищ по процентному содержанию некоторых форм лейкоцитов в почке и по значениям индекса обилия клеток белой крови зафиксированы значимые различия, связанные, вероятно, с различной температурой воды в водоёмах во время отлова рыб.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена в рамках государственного задания № 121050500046-8.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Атлас пресноводных рыб России. 2002. Т. 1. М.: Наука, 379 с.
- Балабанова Л.В. 1979. Судьба парентерально введённых бактерий в организме рыб // Физиология и паразитология пресноводных животных. Л.: Наука. С. 88–104.
- Басова М.М. 2017. Лейкоцитарная формула морского ерша *Scorpaena porcus* как биомаркер антропогенного загрязнения прибрежных вод Чёрного моря // Вопр. ихтиологии. Т. 57. № 3. С. 347–352. <https://doi.org/10.7868/S004287521703002X>
- Герасимов Ю.В., Малин М.И., Соломатин Ю.И. и др. 2018. Распределение и структура рыбного населения в водохранилищах Волжского каскада в 1980-е и 2010-е гг. // Тр. ИБВВ РАН. Вып. 82 (85). С. 82–106. <https://doi.org/10.24411/0320-3557-2018-1-0014>
- Голованов В.К. 2015. Температура и здоровье рыб. Экологические, физиолого-биохимические и иммунологические аспекты // Матер. IV Междунар. конф. “Проблемы иммунологии, патологии и охраны здоровья рыб”. Ярославль: Филигрань. С. 11–19. <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.4494.4084>
- Голованов В.К., Микряков Д.В. 2011. Модифицирующее влияние температуры на иммунитет рыб к инфекционным болезням // Матер. III Междунар. конф. “Проблемы иммунологии, патологии и охраны здоровья рыб”. М.: Изд-во РГАУ–МСХА. С. 95–99. <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.1223.0568>
- Житенева Л.Д., Макаров Э.В., Рудницкая О.А. 2004. Основы ихтиогематологии (в сравнительном аспекте). Ростов н/Д.: Эверест, 311 с.
- Заботкина Е.А., Середняков В.Е., Трофимов Д.Ю. и др. 2018. Экологическая пластичность гематологических показателей леща водохранилищ Волжского бассейна // Тез. докл. Всерос. конф. “Волга и её жизнь”. Ярославль: Филигрань. С. 49.
- Иванова Н.Т. 1983. Атлас клеток крови рыб. М.: Лег. и пищ. пром-сть, 184 с.
- Кейстер И.А. 2007. Динамика показателей крови рыб как показатель состояния ихтиофауны Белого озера (Вологодская область) // Журн. науч. публикаций аспирантов и докторантов. № 12 (<http://jurnal.org/articles/2007/bioб.html>. Version 03/2022).
- Кондратьева И.А., Киташова А.А., Ланге М.А. 2001. Современные представления об иммунной системе рыб // Вестн. МГУ. Т. 16. № 4. С. 11–20.
- Кузина Т.В. 2011. Цитофизиологические особенности крови промысловых рыб Волго-Каспийского канала: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Астрахань: АГУ, 25 с.
- Лапирова Т.Б., Заботкина Е.А. 2010. Сравнительный анализ показателей иммунофизиологического состояния леща *Abramis brama* (L.) из различных по степени загрязнения участков Рыбинского водохранилища // Биология внутр. вод. № 3. С. 86–92.
- Лапирова Т.Б., Заботкина Е.А. 2018. Исследование картины крови леща (*Abramis brama* L.) при первом обнаружении заражения рыб трипаносомами в Угличском водохранилище // Тез. докл. Всерос. конф. “Волга и её жизнь”. Ярославль: Филигрань. С. 85.
- Лапирова Т.Б., Флёрова Е.А. 2015. Физиолого-биохимическая характеристика крови леща (*Abramis brama* L.) Рыбинского водохранилища // Вестн. МичуринГАУ. № 2. С. 83–88.
- Микряков В.Р. 1991. Закономерности формирования приобретенного иммунитета у рыб. Рыбинск: Изд-во ИБВВ РАН, 153 с.
- Микряков В.Р., Балабанова Л.В. 1979. Основы клеточного иммунитета у рыб // Физиология и паразитология пресноводных животных. Л.: Наука. С. 105–124.
- Микряков В.Р., Лапирова Т.Б. 1997. Влияние солей некоторых тяжелых металлов на состав белой крови молоди ленского осетра *Acipenser baeri* // Вопр. ихтиологии. Т. 37. № 4. С. 538–542.
- Микряков В.Р., Балабанова Л.В., Заботкина Е.А. и др. 2001. Реакция иммунной системы рыб на загрязнение воды токсикантами и закисление среды. М.: Наука, 126 с.
- Микряков В.Р., Терещенко В.Г., Микряков Д.В. 2021. Опыт применения интегрального индекса для оценки дестабилизационных процессов в иммунной системе рыб // Биология внутр. вод. № 3. С. 311–320. <https://doi.org/10.31857/S0320965221030104>
- Минеев А.К. 2007. Морфологический анализ и патологические изменения структуры клеток крови у рыб Саратовского водохранилища // Вопр. ихтиологии. Т. 47. № 1. С. 93–100.
- Минеев А.К. 2016. Гематопатологии у рыб Куйбышевского водохранилища // Изв. СамарНЦ РАН. Т. 18. № 5. С. 51–59.

- Моисеенко Т.И. 2009. Водная экотоксикология. М.: Наука, 400 с.
- Суворова Т.А., Герман А.В. 2021. Состав лейкоцитов леща Саратовского водохранилища // Рыбоводство и рыб. хоз-во. № 2. С. 44–51.
<https://doi.org/10.33920/sel-09-2102-04>
- Трофимова Л.В., Микряков В.Р. 1973. Функционирование иммунологической системы карасей при разной температуре // Информ. бюл. ИБВВ АН СССР. № 19. С. 44–47.
- Abram Q.H., Dixon B., Katzenback B.A. 2017. Impacts of low temperature on teleost immune system // *Biology*. V. 6. № 4. Article 39.
<https://doi.org/10.3390/biology6040039>
- Ellis A.E. 1977. The leucocytes of fish: a review // *J. Fish. Biol.* V. 11. № 5. P. 453–491.
<https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1977.tb04140.x>
- Fänge R. 1982. A Comparative study of limphomyeloid tissue in fish // *Dev. Comp. Immunol. Suppl.* 2. P. 23–33.
- Havixbeck J.J., Barreda D.R. 2015. Neutrophil development, migration, and function in teleost fish // *Biology*. V. 4. № 4. P. 715–734.
<https://doi.org/10.3390/biology4040715>
- Hodgkinson J.W., Grayfer L., Belosevic M. 2015. Biology of bony fish macrophages // *Ibid.* V. 4. № 4. P. 881–906.
<https://doi.org/10.3390/biology4040881>
- Katzenback B.A., Belosevic M. 2009. Isolation and functional characterization of neutrophil-like cells, from goldfish (*Carassius auratus* L.) kidney // *Dev. Comp. Immunol.* V. 33. № 4. P. 601–611.
<https://doi.org/10.1016/j.dci.2008.10.011>
- Le Morvan C., Troutaud D., Deschaux P. 1998. Differential effects of temperature on specific and nonspecific immune defences in fish // *J. Exp. Biol.* V. 201. № 2. P. 165–168.
<https://doi.org/10.1242/jeb.201.2.165>
- Manning M.J., Nakanishi T. 1996. The specific immune system: cellular defenses. // *The fish immune system: organism, pathogen and environment*. London: Acad. Press. P. 160–206.
- Scapigliati G. 2013. Functional aspects of fish lymphocytes // *Dev. Comp. Immunol.* V. 41. № 2. P. 200–208.
<https://doi.org/10.1016/j.dci.2013.05.012>
- Uribe C., Folch H., Enriquez R., Moran G. 2011. Innate and adaptive immunity in teleost fish: A review // *Vet. Med.* V. 56. № 10. P. 486–503.
<https://doi.org/10.17221/3294-VETMED>
- Van Muiswinkel W. 2020. The immune system: effects of water temperature and acidification // *Climate change and non-infectious fish disorders*. Wallingford: CABI. P. 218–236.
<https://doi.org/10.1079/9781786393982.0218>
- Van Muiswinkel W., Vervoorn-Van Der Wal B. 2006. The immune system of fish // *Fish Diseases and Disorders*. V. 1. Wallingford: CABI. P. 678–701.
<https://doi.org/10.1079/9780851990156.0678>
- Zapata A.G., Chiba A., Varas A. 1996. 1 – Cells and tissues of the immune system of fish // *Fish Physiol.* V. 15. P. 1–62.
[https://doi.org/10.1016/S1546-5098\(08\)60271-X](https://doi.org/10.1016/S1546-5098(08)60271-X)