
КРАТКИЕ
СООБЩЕНИЯ

УДК 597.554.3.612.112.591.441:461.2

ЛЕЙКОЦИТАРНЫЙ СОСТАВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ И ИММУНОКОМПЕТЕНТНЫХ ОРГАНОВ ЛЕЩА *ABRAMIS BRAMA* (CYPRINIDAE) ВОДОХРАНИЛИЩ ВЕРХНЕЙ ВОЛГИ

© 2024 г. Т. А. Суворова^{1, *}, А. В. Герман¹

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

*E-mail: tanya@ibiw.ru

Поступила в редакцию 18.05.2023 г.

После доработки 05.10.2023 г.

Принята к публикации 06.10.2023 г.

Приведены результаты сравнительного исследования лейкоцитарной формулы леща *Abramis brama*, обитающего в Иваньковском, Угличском и Рыбинском водохранилищах. Между особями всех исследованных водохранилищ в периферической крови, пронефросе и селезёнке зафиксированы достоверные различия по содержанию палочкоядерных нейтрофилов и эозинофилов. Наиболее высокий индекс обилия лейкоцитов отмечен у лещей Угличского водохранилища.

Ключевые слова: лещ *Abramis brama*, периферическая кровь, пронефрос, селезёнка, лейкоциты, Иваньковское, Угличское и Рыбинское водохранилища.

DOI: 10.31857/S0042875224020101, EDN: GWANXS

Иваньковское, Угличское и Рыбинское водохранилища относятся к бассейну верхней Волги. Они различаются по географическим координатам, средней глубине, среднегодовой температуре воды, гидрологическим и гидрохимическим характеристикам, разнообразию флоры и фауны и другим показателям (Волга ..., 1978). Один из наиболее многочисленных видов рыб семейства карповых (Cyprinidae) в водохранилищах Волго-Каспийского бассейна – лещ *Abramis brama*, который имеет большое промысловое значение (Герасимов и др., 2018). Лещ – типичный бентофаг, основу его пищи составляют олигохеты (Oligochaeta), хирономиды (Chironomidae), мелкие ракообразные (Crustacea), моллюски (Mollusca) и другие организмы (Атлас ..., 2002). Изменения показателей крови леща тонко отражают перемены в окружающей среде, это свойство объясняется видовой специфичностью и положением вида в трофической цепи (Савина, 2004). Высокая численность леща, его важное место в экосистеме водоёмов и отсутствие протяжённых миграций позволяют использовать этот вид рыб в качестве удобного биоиндикатора при осуществлении программ мониторинга.

Среди методов биоиндикации особое место занимают исследования системы крови, пред-

ставленной периферической кровью и органами кроветворения, в которых клетки проходят путь индивидуального развития от родоначальной стадии до стадии зрелости (Иванова, 1983). Изменения показателей системы крови демонстрируют её высокую чувствительность к воздействию факторов внешней и внутренней среды, позволяют оценивать как физиологический статус самих рыб, их иммунореактивность, так и состояние среды обитания (Parish et al., 1986; Scapigliati, 2013; Микряков и др., 2021). Важнейшая составляющая этих исследований – определение лейкоцитарной формулы. При использовании показателей иммунитета в качестве критерия здоровья рыб в практике рыбоводства, а также для интегральной характеристики состояния акваторий необходимо иметь представление об их вариабельности в естественных популяциях. В имеющейся литературе сведения о составе и процентном содержании лейкоцитов у лещей из верхневолжских водохранилищ в основном посвящены исследованиям Рыбинского вдхр. (Экологические проблемы ..., 2001; Лапирова, Заботкина, 2010; Лапирова, Флёрова, 2015; Заботкина и др., 2018). Наши результаты в дальнейшем можно использовать для анализа и последующей оценки состояния здоровья популяции леща и среды обитания.

Цель работы — изучить лейкоцитарный состав периферической крови и иммунокомпетентных органов леща, обитающего в водохранилищах верхней Волги.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Половозрелых особей леща отлавливали в августе 2020 и 2021 гг. в Ивановском и Угличском, в июле 2021 г. — в Рыбинском водохранилищах донным тралом с борта научно-исследовательского судна “Академик Топчиев”. Из Ивановского вдхр. исследовано 45 экз. (средней длиной по Смитту 34.06 ± 0.52 см и массой 639.46 ± 27.49 г), Угличского — 43 экз. (33.04 ± 0.33 см, 610.15 ± 19.80 г), Рыбинского — 12 экз. (39.54 ± 0.88 см, 1054.16 ± 78.62 г). После измерения длины и массы тела из хвостовой вены особи отбирали кровь. Каплю крови наносили на обезжиренное предметное стекло, делали мазок. После вскрытия извлекали пронефрос и селезёнку. Мазки-отпечатки головной почки и селезёнки делали со среза исследуемого органа. Для получения отпечатков органов, исследуемых на гемопоэз, брали небольшое количество ткани из разных частей исследуемого органа. Полученный кусочек промывали в физиологическом растворе для рыб (0.65%), осушали с применением фильтровальной бумаги, затем по линии разреза многократно прикладывали к предметному стеклу (Иванова, 1983). После этого препараты высушивали, фиксировали в 96%-ном этаноле 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 по классификации Ивановой (1983): лимфоциты, моноциты, сегменто- и палочкоядерные нейтрофилы, эозинофилы и бластные клетки. Для определения индекса обилия лейкоцитов (частоты встречаемости клеток белой крови) в мазке периферической крови просматривали 100 полей зрения на различных участках препарата при увеличении $\times 400$. В каждом поле зрения подсчитывали число встреченных лейкоцитов, полученные данные суммировали и делили на 100, получая среднее число в одном поле зрения. Индекс обилия лейкоцитов позволяет регистрировать интенсивность лейкопоэза и косвенно оценивать уровень содержания лейкоцитов в единице объёма крови (Яхненко, Клименков, 2009).

Статистическую обработку результатов проводили по стандартным алгоритмам, реализованным в пакете программ Statistica v6.0 с использованием t -теста. Различия считали значимыми при $p \leq 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Процентное соотношение лейкоцитов в периферической крови и иммунокомпетентных органах лещей из разных водохранилищ верхней Волги различалось. В лейкоцитарной формуле дифференцированы характерные для исследованного вида клетки (Иванова, 1983): лимфоциты, моноциты, нейтро-, эозинофилы и бластные формы (таблица). У исследованных особей доля лимфоцитов составила 80.45–91.51, моноцитов — 2.68–5.45, нейтрофилов — 0.35–4.38, эозинофилов — 0.23–7.81 бластных форм клеток — 0.72–10.37%. Лещи из Рыбинского вдхр. достоверно отличались от рыб других водоёмов более низким содержанием палочкоядерных нейтрофилов и бластных форм клеток и более высокой долей эозинофилов во всех исследуемых тканях и органах. У рыб из Ивановского вдхр. в периферической крови зафиксированы значимые отличия количества бластных форм клеток и низкая доля эозинофилов по сравнению с особями из других водоёмов.

Индекс обилия лейкоцитов в периферической крови леща из Ивановского, Угличского и Рыбинского водохранилищ составил соответственно 144.08 ± 4.99 , 151.44 ± 8.66 и 138.34 ± 9.70 ед. в поле зрения. Высокие значения этого показателя у рыб из Ивановского и Угличского водохранилищ согласуются с долей бластных клеток в тканях и органах лещей из этих водоёмов.

ОБСУЖДЕНИЕ

Так как кровь леща имеет лимфоидный характер, большую часть иммунокомпетентных клеток в крови и органах составляют лимфоциты. Лимфоциты у рыб, как и у всех позвоночных животных, относятся к группе наиболее быстро реагирующих клеток иммунной системы. Они осуществляют функции распознавания чужеродных тел, разрушения антигена, синтеза антител, образования предшественников антителообразующих клеток и клеток памяти, формирования специфического иммунитета и адаптации рыб к паразитам и токсическим факторам (Микряков и др., 2001; Scapigliati, 2013). Доля лимфо-

Соотношение лейкоцитов в периферической крови, головной почке и селезёнке леща *Abramis brama* из водохранилищ верхней Волги, %

Водохранилище	Лимфоциты	Моноциты	Нейтрофилы		Эозинофилы	Бластные формы
			ПЯ	СЯ		
	Периферическая кровь					
Иваньковское	91.51 ± 0.56	4.21 ± 0.37	1.45 ± 0.18	0.22 ± 0.05	0.77 ± 0.12	1.80 ± 0.23
Угличское	89.94 ± 0.86	3.95 ± 0.35	1.36 ± 0.22	0.33 ± 0.08	1.67 ± 0.32*	2.60 ± 0.32*
Рыбинское	88.40 ± 2.29	2.68 ± 0.48	0.31 ± 0.15*, **	0.04 ± 0.04	7.81 ± 1.99*, **	0.72 ± 0.26*, **
	Почка					
Иваньковское	80.45 ± 0.91	5.24 ± 0.40	3.31 ± 0.40	0.36 ± 0.11	0.23 ± 0.07	10.37 ± 0.85
Угличское	80.50 ± 0.95	4.46 ± 0.52	4.06 ± 0.39	0.32 ± 0.08	0.75 ± 0.16	9.58 ± 0.62
Рыбинское	84.12 ± 1.41	5.45 ± 0.60	1.20 ± 0.32*, **	0.08 ± 0.05	2.95 ± 0.76*, **	7.00 ± 0.65**
	Селезёнка					
Иваньковское	89.08 ± 0.78	3.87 ± 0.38	2.06 ± 0.30	0.25 ± 0.08	0.57 ± 0.12	4.13 ± 0.46
Угличское	89.00 ± 0.71	3.01 ± 0.40	2.05 ± 0.23	0.24 ± 0.07	0.31 ± 0.12	5.41 ± 0.48
Рыбинское	90.04 ± 1.57	4.50 ± 0.79	0.58 ± 0.23*, **	0	2.12 ± 0.87*, **	2.66 ± 0.42**

Примечание. ПЯ – палочкоядерные, СЯ – сегментоядерные. Приведены средние значения и стандартная ошибка; *значение достоверно ($p \leq 0.05$) отличается от рыб из Иваньковского вдхр., **то же из Угличского водохранилища.

цитов во всех исследованных тканях и органах у изученных особей леща соответствует норме для вида и не отличается от ранее полученных данных (Иванова, 1983; Лапирова, Флёрова, 2015; Заботкина и др., 2018; Суворова, Герман, 2021). Моноциты – активные фагоциты крови – поглощают продукты распада клеток и тканей, принимают участие в регуляции иммуно- и гранулопоэза, влияют на миграционные свойства нейтрофилов. Существует мнение о способности моноцитов инактивировать токсины (Житенева и др., 1989). Увеличение в крови количества моноцитов свидетельствует об усилении неспецифической защиты организма. Наибольшее число клеток этого типа было зафиксировано в про-нефросе исследованных лещей, так как именно в почке осуществляются все стадии иммунного ответа у рыб (Микряков, Балабанова, 1979; Кутырев и др., 2011). По количеству агранулоцитов, инициирующих реакции приобретённого иммунитета, в мазках крови и мазках-отпечатках органов между особями из разных водоёмов достоверных различий не отмечено. Это может свидетельствовать о стабильном состоянии иммунной защиты.

Важную роль в реализации неспецифической иммунной защиты выполняют гранулоциты

(Микряков, Балабанова, 1979; Ройт и др., 2000; Navixbeck, Barreda, 2015; Лапирова, Заботкина, 2018). Нейтрофилы фагоцитируют заражённые клетки при первом контакте с ними или разрушают их путём выделения токсических кислородных метаболитов. Эозинофилы адсорбируют и разрушают многие токсические продукты белковой природы, в том числе образующиеся в процессе интенсивного межклеточного обмена (Иванов, Пронина, 2012). Самым высоким содержанием эозинофилов во всех исследуемых тканях и органах отличались лещи из Рыбинского вдхр. Наиболее вероятной причиной возникновения эозинофилии считают паразитарные инвазии (Lapirova, Zabotkina, 2018). Также высокую долю эозинофилов фиксируют при аллергических реакциях организма. Роль аллергенов могут играть вещества, выделяемые гельминтами, и различные ксенобиотики (Пронина, Пронин, 1988; Микряков и др., 2001). Ранее при исследовании водоёмов средней и нижней Волги установлено, что у лещей из Куйбышевского, Чебоксарского и Горьковского водохранилищ в периферической крови доля клеток этого типа составила 3–4%, а у особей из Саратовского – < 1% (Суворова, Герман, 2021; Суворова и др., 2023). Повышение содержания эозинофилов

было зафиксировано у заражённых трипаносомами (*Trypanosoma* sp.) лещей Угличского вдхр. (Lapirova, Zabolotkina, 2018). У лещей из Рыбинского вдхр. повышенная доля указанных клеток зафиксирована в иммунокомпетентных органах. Аналогичные данные были получены ранее у лещей Саратовского вдхр. (Суворова, Герман, 2021), причём у особей из этого водоёма зафиксирован высокий уровень заражённости диплозоидами *Diplozoen paradoxum* (Кузьмичева и др., 2022). Одной из причин повышенной доли эозинофилов у лещей Рыбинского вдхр. может служить более высокое содержание в донных отложениях стойких органических загрязняющих веществ (Козловская, Герман, 1997; Бреховских и др., 2006; Немировская и др., 2009; Григорьева и др., 2019). Это согласуется с исследованиями активности этоксирезорусин-О-деэтилазы — фермента, играющего ключевую роль в трансформации органических соединений (Юрченко, 2019). Подтверждение этого предположения ставит задачу дополнительных исследований и более тщательного анализа действия нефтепродуктов и полиароматических углеводородов на структурно-функциональное состояние кровяной и иммунной систем рыб. Невысокие значения доли гранулоцитов у лещей Угличского и Иваньковского водохранилищ указывают на низкую активность механизмов врождённого иммунитета. Возможно, это связано с меньшим воздействием негативных факторов и лучшими адаптационными возможностями местных популяций леща.

Бластные формы клеток, подобно таковым у высших позвоночных, в дальнейшем замещают зрелые клетки в тканях и органах иммунной системы. Их доля в лейкограмме исследованных лещей составляет до 10%, что соответствует ранее полученным данным (Иванова, 1983; Суворова, Герман, 2021; Суворова и др., 2023). Наибольшее содержание бластных форм в периферической крови зафиксировано у рыб из Угличского вдхр. Это согласуется со значением индекса обилия лейкоцитов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

У исследованных лещей Иваньковского, Угличского и Рыбинского водохранилищ в периферической крови и иммунокомпетентных органах выявлены преобладание агранулоцитов и низкая доля гранулоцитов. Процентное содержание отдельных пулов лейкоцитов зависело от

вида исследуемой ткани и варьировало в зависимости от места вылова рыбы. Зафиксированы достоверные различия между особями исследованных водохранилищ по содержанию в периферической крови, пронефросе и селезёнке палочкоядерных нейтрофилов и эозинофилов. Показатели лейкограмм лещей Рыбинского вдхр. свидетельствуют о более высоком уровне напряжённости врождённого иммунитета, отражающего совокупную деятельность всех функциональных структур иммунной системы на уровне целостного организма по устойчивости рыб к возбудителям инфекционных и инвазионных болезней (Микряков, 1991). Наиболее высокое значение индекса обилия лейкоцитов отмечено у лещей Угличского вдхр. Обнаруженные различия исследуемых показателей у рыб из разных водохранилищ, вероятно, обусловлены влиянием различных экологических факторов.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена в рамках государственного задания Института биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН № 121050500046—8.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Атлас пресноводных рыб России. 2002. Т. 1. М.: Наука, 379 с.
- Бреховских В. Ф., Казмирук Т. Н., Казмирук В. Д. 2006. Донные отложения Иваньковского водохранилища: состояние, состав, свойства. М.: Наука, 176 с.
- Волга и ее жизнь. 1978. Л.: Наука, 348 с.
- 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>
- Григорьева И. Л., Комиссаров А. Б., Чекарева Е. А. 2019. Современное состояние, источники загрязнения и возможные пути реабилитации Иваньковского водохранилища и его притоков // Научные проблемы оздоровления российских рек и пути их решения. Н. Новгород: Студия Ф1. С. 332—336.
- Житенева Л. Д., Полтавцева Т. Г., Рудницкая О. А. 1989. Атлас нормальных и патологически измененных клеток крови рыб. Ростов н/Д.: Ростов. кн. изд-во, 111 с.
- Заболоткина 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.
- Иванов А. А., Пронина Г. И. 2012. Иммунологические и гематологические константы гомеостаза в селекционной работе с карпом // Изв. ТСХА. Вып. 1. С. 174—180.

- Иванова Н. Т. 1983. Атлас клеток крови рыб. М.: Лег. и пищ. пром-сть, 184 с.
- Козловская В. И., Герман А. В. 1997. Полихлорированные бифенилы и полиароматические углеводороды в экосистеме Рыбинского водохранилища // Вод. ресурсы. Т. 24. № 5. С. 563–569.
- Кутырев И. А., Пронин Н. М., Дугаров Ж. Н. 2011. Лейкоцитарный состав головного отдела почки караса серебряного *Carassius auratus gibelio* (Cypriniformes: Cyprinidae) и влияние на него инвазии цестоды *Digramma interrupta* (Cestoda: Pseudophyllidea) // Изв. РАН. Сер. биол. № 6. С. 759–763.
- Кузьмичева С. В., Микряков Д. В., Балабанова Л. В. 2022. Уровень заражения моногенейми лещей, обитающих в водохранилищах Волги // Рыбоводство и рыб. хоз-во. № 2 (193). С. 138–148. <https://doi.org/10.33920/sel-09-2202-05>
- 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. № 2. 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. Мичурин. ГАУ. № 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., 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>
- Немировская И. А., Бреховских В. Ф., Казмирук Т. Н. 2009. Происхождение углеводородов в донных осадках Иваньковского водохранилища // Вод. ресурсы. Т. 36. № 3. С. 354–362.
- Пронина С. В., Пронин Н. М. 1988. Взаимоотношения в системах гельминт–рыбы. М.: Наука, 176 с.
- Ройт А., Бростофф Дж., Мейл Д. 2000. Иммунология. М.: Мир, 592 с.
- Савина Л. В. 2004. Использование гематологических показателей рыб для оценки новой кормовой добавки МИК БАК и экологического состояния естественных водоемов: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Калининград: КГТУ, 24 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>
- Суворова Т. А., Герман А. В., Микряков Д. В. 2023. Процентное содержание лейкоцитов периферической крови, головной почки и селезёнки леща *Abramis brama* (Cyprinidae) водохранилищ средней Волги // Вопр. ихтиологии. Т. 63. № 2. С. 239–243. <https://doi.org/10.31857/S0042875223010174>
- Экологические проблемы Верхней Волги. 2001. Ярославль: Изд-во ЯГТУ, 427 с.
- Юрченко В. В. 2019. Активность этоксирезорфин-О-деэтилазы рыб как показатель загрязнения водной среды: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Пенза: ПГУ, 22 с.
- Яхненко В. М., Клименков И. В. 2009. Особенности состава и структуры клеток крови рыб пелагиали и прибрежья озера Байкал // Изв. РАН. Сер. биол. № 1. С. 46–54.
- 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>
- Lapirova T. B., Zabolotkina E. A. 2018. Effect of trypanosomiasis on hematologic characteristics of bream (*Abramis brama*) // Regul. Mech. Biosyst. V. 9. № 3. P. 309–314. <https://doi.org/10.15421/021845>
- Parish N., Wrathmell A., Hart S., Harris J. 1986. The leucocytes of the elasmobranch *Scyliorhinus canicula* L.—a morphological study // J. Fish Biol. V. 28. № 5. P. 545–561. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1986.tb05192.x>
- 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>