DOI: 10.24411/2074-5036-2019-10034
УДК: 597.554.3-12:597-111.11
Ключевые слова: карп, породы, краснуха, кровь, почка, селезенка, лейкоциты, нагульный период
Keywords: carp, breeds, rubella, blood, kidney, spleen, leukocytes, feeding period

[1]Суворова Т. А., [2]Пронина Г. И., [1]Микряков Д. В., [2]Петрушин А. Б.

СОСТАВ ЛЕЙКОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ И ИММУНОКОМПЕТЕНТНЫХ ОРГАНОВ КРАСНУХОУСТОЙЧИВОЙ ПОРОДЫ КАРПА В КОНЦЕ НАГУЛЬНОГО ПЕРИОДА

COMPOSITION OF LEUKOCYTES OF PERIPHERAL BLOOD AND IMMUNOCOMPETENT ORGANS OF RED SUSTAINABLE BREED OF CARP IN THE FEEDING PERIOD

[1]Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина Российской академии наук
Адрес: 152742, Россия, Ярославская обл., Некоузский район, п. Борок
I.D. Papanin Institute for Biology of Inland Waters Russian Academy of Sciences
Adress: 152742, Russia, Yaroslavl Region, Nekouzsky District, pos. Borok
[2]Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Всероссийский научно-исследовательский институт ирригационного рыбоводства
Адрес: 142460, Россия, Московская область, Ногинский р-он, пос. Воровского, ул. Сергеева, д. 24
Federal State Budget Scientific Institution All-Russian Research Institute of Irrigation Fish Culture
Adress: 142460, Russia, Moscow Region, Noginsk District, pos. Vorovskogo, st. Sergeeva, 24

Суворова Татьяна Александровна, научный сотрудник лаборатории иммунологии.
E-mail: tanya@ibiw.yaroslavl.ru. Тел. 8(485)47-24-681.
Suvorova Tatyana Aleksandrovna, Researcher of Immunology Laboratory.
E-mail: tanya@ibiw.yaroslavl.ru. Tel. 8 (485) 47-24-681.
Пронина Галина Иозеповна, доктор биологических наук; главный научный сотрудник; заведующий лабораторией. E-mail: gidrobiont4@yandex.ru.
Pronina Galina Iozepovna, Doctor of Biological Sciences; Chief Researcher; Head of the Laboratory.
E-mail: gidrobiont4@yandex.ru.
Микряков Даниил Вениаминович; кандидат биологических наук; заведующий лабораторией иммунологии.
E-mail: daniil@ibiw.yaroslavl.ru. Тел. (485)47-24-681.
Mikryakov Daniil Veniaminovich; PhD of Biological Sciences; Head of the Immunology Laboratory.
E-mail: daniil@ibiw.yaroslavl.ru; Tel. (485) 47-24-681.
Петрушин Александр Борисович; кандидат сельскохозяйственных наук; ведущий научный сотрудник; заместитель заведующего лабораторией. E-mail: shurapetrushin@yandex.ru.
Petrushin Alexander Borisovich; PhD of Agricultural Sciences; Leading Researcher; Deputy Head of the Laboratory.
E-mail: shurapetrushin@yandex.ru.

Аннотация. В статье представлены результаты изучения состава лейкоцитов периферической крови и иммунокомпетентных органов ангелинской краснухоустойчивой породы карпа в конце нагульного периода. Установлено, что периферическая кровь и органы кроветворения краснухоустойчивой породы отличались долей содержания лимфоцитов, моноцитов, нейтрофилов, бластных форм клеток и интенсивностью лейкопоэза от карпов других изученных селекционных групп. Большее число достоверных отличий установлено между краснухоустойчивыми и чешуйчатыми карпами. Отмечены сезонные изменения лейкоцитарной формулы у исследованных рыб. Количество лимфоцитов в лейкограммах периферической крови у всех групп исследованных карпов снизилось, а в кроветворных органах возросло по сравнению с весенними показателями. Наибольшие изменения в лейкограммах и интенсивности лейкопоэза разных сезонов отмечены у краснухоустойчивых карпов. Полученные данные представляются весьма важными для понимания направления морфофизиологических перестроек клеточного состава лейкоцитов при селекции рыб, обладающих невосприимчивостью к инфекционным заболеваниям.

Summary. *The article presents the results of a study of the composition of peripheral blood leukocytes and immunocompetent organs of angelic rubel resistant breed of carp at the end of the feeding period. It was found that peripheral blood and hematopoietic organs of the rubella-resistant breed differed in terms of the content of lymphocytes, monocytes, neutrophils, blast cell forms and the intensity of leukopoiesis from the carps of other studied breeding groups. A greater number of significant differences are found between rubel-resistant and scaly carp. Seasonal changes in leukocyte formula in the*

avvb_2019_03.indd 25 07.09.2019 14:40:08

studied fish were noted. The number of lymphocytes in the peripheral blood leukograms of all groups of carps studied decreased, and increased in the blood-forming organs as compared with the spring indicators. The greatest changes in leukograms and the intensity of leukopoiesis of different seasons were observed in red-resistant carps. The data obtained are very important for understanding the direction of the morphophysiological rearrangements of the cellular composition of leukocytes in the selection of fish that are immune to infectious diseases.

Введение

Одной из основных проблем рыбоводства, наносящей большой ущерб карповодству за счет гибели рыб и больших затрат на оздоровление хозяйства до сих пор остается краснуха – полиэтиологическое заболевание, вызываемое различными возбудителями [1, 9]. Лечение краснухи малоэффективно, поэтому одно из решений проблемы – селекция на иммунную устойчивость к возбудителям заболевания. В России выведена ангелинская краснухоустойчивая порода карпа [5]. Исследование этой породы позволит понять механизмы, обеспечивающие невосприимчивость рыб к инфекционным заболеваниям и получить данные, которые могут быть использованы в селекционных программах по созданию резистентных пород в аквакультуре.

Система крови выполняет как специфическую, так и неспецифическую защиту организма. Особый интерес представляет изучение клеток белой крови, т. к. количество, структура и соотношение лейкоцитов теснейшим образом связаны с функциональным состоянием рыб [2, 3, 4, 7]. Ранее авторами были установлены достоверные отличия в лейкоцитарных формулах периферической крови и органов кроветворения краснухоустойчивых и восприимчивых карпов в преднерестовый период [11], однако для получения более детальной информации необходимо изучение лейкоцитарной формулы в различные периоды рыбоводного сезона.

Цель работы: изучение состава лейкоцитов периферической крови и иммунокомпетентных органов краснухоустойчивых карпов в конце нагульного периода.

Материалы и методы

Исследования проводили в конце сентября – начале октября 2018 г. на трёхлетках карпов. Материал отбирали у 6 особей ангелинской чешуйчатой краснухоустойчивой породы, содержавшихся на экспериментальной прудовой базе «Сунога» ИБВВ им. И. Д. Папанина РАН Ярославской обл. Для сравнения использовали карпов из рыбоводного хозяйства «Киря» Чувашской республики. Пробы отбирали от 8 экземпляров чешуйчатых и 8 зеркальных карпов, восприимчивых к возбудителям краснухи. У исследуемых рыб проводили отбор периферической крови и тканей органов (селезёнка и головная почка). Кровь отбирали из хвостовой вены. Каплю крови наносили на обезжиренное предметное стекло, делали мазок. Мазки-отпечатки головной почки и селезёнки делали со среза исследуемого органа. После этого препараты высушивали и фиксировали в 96% этаноле 30 мин. Подсохшие мазки и мазки-отпечатки окрашивали по Романовскому-Гимза. Препараты просматривали под световым микроскопом «Биомед-6ПР1-ФК» (×360), анализируя на каждом мазке 200 клеток белой крови. Лейкоциты идентифицировали согласно классификации Н. Т. Ивановой (1983).

Для определения индекса обилия лейкоцитов, или частоты встречаемости клеток белой крови, в мазке просматривали 100 полей зрения на различных участках препарата при увеличении 400х. В каждом поле зрения подсчитывали количество встреченных лейкоцитов, полученные данные суммировали и делили на 100, получая среднее число в одном поле зрения [8].

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 исследований

В лейкоцитарных формулах периферической крови и иммунокомпетентных органов карпов выявлены характерные для данного вида клетки [4]: лимфоциты, моноциты (в органах их зрелая форма – макрофаги [12]), нейтро-, базо-, эозинофилы и бластные формы (табл. 1).

avvb_2019_03.indd 26 07.09.2019 14:40:08

Таблица 1

Состав лейкоцитов в периферической крови и иммунокомпетентных органах карпов, %

	Лимфоциты	Моноциты/ макрофаги	Нейтрофилы		Базофилы	Эозино-филы	Бластные формы
			ПЯ	СЯ			
Периферическая кровь							
краснухоустойчивая порода	72,83±3,33	9,33±0,65	4,83±0,7	1,52±0,31	0,66±0,42	4,58±1,47	6,25±2,02
чешуйчатые карпы	90,88±2,34[1]	2,38±0,52[1]	1,44±0,61[1]	0,94±0,45	0,25±0,09	2,43±1,30	1,68±0,45[1]
зеркальные карпы	81,25±2,38[2]	6,68±1,11[2]	4,75±0,75[2]	2,82±0,53[2]	0,07±0,06	0,56±0,31[1]	3,87±0,76[2]
Головная почка							
краснухоустойчивая порода	83,50±1,64	3,01±0,82	1,25±0,28	0,33±0,16	0,66±0,27	2,00±0,69	9,25±0,49
чешуйчатые карпы	84,83±2,83	4,62±1,31	2,56±0,42[1]	1,25±0,31[1]	0,19±0,13	0,68±0,26	5,87±1,23[1]
зеркальные карпы	82,25±1,95	4,55±0,71	4,11±0,81[1]	0,81±0,23	0,06±0,06[1]	0,31±0,18[1]	7,91±0,99
Селезёнка							
краснухоустойчивая порода	92,00±1,04	1,51±0,50	0,50±0,12	0,25±0,11	0,42±0,20	0,91±0,20	4,41±0,74
чешуйчатые карпы	87,01±3,08	2,93±0,79	1,12±0,41	1,01±0,61	0,06±0,06	0,87±0,36	7,00±1,54
зеркальные карпы	87,62±1,67	4,25±1,31	1,94±0,47[1]	0,68±0,18	–	0,32±0,09[1]	5,19±0,64

Примечание: [1] – достоверные отличия от краснухоустойчивых; [2] – достоверные отличия от чешуйчатых карпов.

Самый большой пул клеток белой крови карпа составляют лимфоциты – центральные клетки иммунной системы рыб. Лейкоциты других типов, принимающие участие в иммунологических реакциях организма и участвующие в фагоцитозе микроорганизмов, синтезе медиаторов иммунного ответа, неспецифических факторов иммунитета, представлены гораздо меньшим числом клеток. У исследованных особей процентное содержание лимфоцитов составляло 72,83–92 %, моноцитов/ макрофагов – 1,51–9,33 %, нейтрофилов – 0,75–7,57 %, эозинофилов – 0,31–4,58 %, базофилов 0,06–0,66 % и бластных форм клеток – 1,68–9,25 % (табл. 1).

Карпы краснухоустойчивой породы достоверно отличались от восприимчивых рыб более низким содержанием лимфоцитов периферической крови, нейтрофилов пронефроса, селезёнки и более высоким моноцитов крови, бластных клеток крови и пронефроса и эозинофилов во всех тканях и органах. Стоит отметить, что чешуйчатые и зеркальные карпы между собой также различались процентным содержанием лейкоцитов периферической крови.

Исследования индекса обилия лейкоцитов не показали достоверных различий среди селекционных групп. Более высокий показатель, в отличие от весеннего периода, зафиксирован у восприимчивых пород карпов (табл. 2).

Обсуждение результатов

Анализ содержания отдельных пулов лейкоцитов показал, что их уровень зависит от вида исследуемой ткани и варьирует у разных селекционных групп. Кроме того, полученные данные отличались от таковых, полученных при аналогичных условиях в преднерестовый период [11].

Таблица 2

Индекс обилия лейкоцитов, (ед./п. зр.)

Краснухоустойчивая порода	13,83±1,28
Чешуйчатый карп	18,57±2,48
Зеркальный карп	17,40±2,43

avvb_2019_03.indd 27 07.09.2019 14:40:08

Головной отдел почек у костистых рыб – основной орган лимфо- и гранулопоэза, функционально сходный с костным мозгом млекопитающих. Функционально-активных иммунокомпетентных клеток в почках концентрируется значительно больше, чем в других органах [6]. Основу иммунокомпетентных клеток селезенки составляют эндотелиоциты кровеносных сосудов, иммуноциты на разных этапах дифференцировки, гранулоциты и клетки мелано-макрофагального ряда [4]. Согласно современным представлениям основной функцией данного органа является эритро- и тромбопоэз, затем – лимфопоэз [4, 7]. Периферическая кровь, непрерывно циркулируя по системе замкнутых сосудов, постоянно омывает ткани, органы и системы органов, служит транзитом иммунокомпетентных клеток, в котором проявляется суммарный эффект изменения активности иммунной системы [4].

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, клеток памяти, формирования специфического иммунитета и адаптации рыб к паразитам и токсическим факторам [7]. Доля лимфоцитов периферической крови у всех групп исследованных карпов снизилась на 1–22,7 %, а в кроветворных органах возросла по сравнению с весенними показателями. Наибольшее снижение числа клеток этого типа отмечено в лейкограммах крови ангелинских карпов, за счёт увеличения процентного содержания всех остальных популяций лейкоцитов.

Моноциты – активные фагоциты крови, поглощают продукты распада клеток и тканей, принимают участие в регуляции иммуно- и гранулопоэза, влияют на миграционные свойства нейтрофилов. Существует также мнение о способности моноцитов инактивировать токсины [3]. Увеличение их количества в крови свидетельствует об усилении неспецифической защиты организма. Наибольшее число клеток этого типа зафиксировано нами в лейкограмме периферической крови краснухоустойчивых особей, что в 3,9 раза выше показателей преднерестового периода. Увеличение числа моноцитов у карпов к концу рыбоводного сезона отмечено и другими авторами [2].

В конце нагульного периода в периферической крови рыб возросло количество гранулоцитов по сравнению с данными, полученными весной. Более высоким содержанием нейтро-, эозино- и базофилов отличалась группа краснухоустойчивых карпов. Основную массу гранулоцитарных клеток составляли палочкоядерные нейтрофилы. Нейтрофилы поглощают зараженные клетки при первом контакте с ними или разрушают их путем выделения токсических кислородных метаболитов. Базо- и эозинофильные гранулоциты у млекопитающих принимают активное участие в аллергических реакциях анафилактического типа. Базофилы рыб рассматривают и как регуляторы тканевого гомеостаза. Появление осенью в лейкограммах карпов разных пород базофилов отмечено и в работах других авторов [4, 10].

В лейкоцитарной формуле мазков крови и мазков-отпечатков гемопоэтических органов учитываются юные незрелые, или бластные, формы клеток, которые, подобно таковым у высших позвоночных, в дальнейшем замещают зрелые клетки в тканях и органах иммунной системы. Их доля в лейкограмме пресноводных видов составляет до 10 % [2, 4]. Осенью содержание бластных форм в периферической крови представителей ангелинской породы было выше, чем у восприимчивых особей и по сравнению с показателями преднерестового периода.

Используемый в наших исследованиях показатель индекса обилия лейкоцитов дает представление о функциональном состоянии гемо- и иммунопоэтической ткани и позволяет судить об интенсивности лейкопоэза [8]. У краснухоустойчивых особей зафиксировано менее интенсивное образование иммунокомпетентных клеток по сравнению с другими группами рыб и данными весеннего периода.

Характер выявленных отличий у краснухоустойчивых карпов, возможно, связан с генетическими особенностями породы и относится к адаптивным реакциям иммунной системы.

avvb_2019_03.indd 28 07.09.2019 14:40:08

Заключение

Таким образом, результаты исследования состава лейкоцитов в периферической крови и органах кроветворения краснухоустойчивой породы карпа показали отличия в доле содержания лимфоцитов, моноцитов, нейтрофилов, бластных форм клеток и интенсивности лейкопоэза от других изученных селекционных групп. Отличия зависели от структурно-функциональных характеристик тканей и органов и породных особенностей исследованных рыб. Полученные данные могут быть использованы в качестве маркеров при проведении селекционно-племенной работы по повышению устойчивости рыб к инфекционным заболеваниям.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-016-0019618 и частично в рамках государственного задания ФАНО России (тема № АААА-А18-118012690123-4).

Список литературы

1. Ихтиопатология: Учебники и учеб. пособия для студентов высших учебных заведений / Н. А. Головина [и др.]; Под ред. Н. А. Головиной, О. Н. Бауера. М.: Мир, 2003. 448 с.: ил.

2. Головина Н. А. Гематология прудовых рыб / Н. А. Головина, И. Д. Тромбицкий. Кишинев: Штиинца, 1989. 155 с.

3. Житенева Л. Д. Атлас нормальных и патологически измененных клеток крови рыб: справочник / Л. Д. Житенева, Т. Г. Полтавцева, О. А. Рудницкая. Ростов-на-Дону: Ростовское книжное издательство, 1989. 112 с.

4. Иванова Н. Т. Атлас клеток крови рыб / Н. Т. Иванова. М: Легкая и пищевая пром-сть, 1983. 79 с.

5. Илясов Ю. И. Селекция рыб на повышение устойчивости к заболеваниям / Ю. И. Илясов // Актуальные вопросы пресноводной аквакультуры. Вып. 78. М.: Изд-во ВНИРО, 2002. С. 125–134.

6. Микряков В. Р. Клеточные основы иммунитета у рыб / В. Р. Микряков, Л. В. Балабанова // Физиология и паразитология пресноводных животных. Л.: Наука, 1979. С. 57–64.

7. Микряков В. Р. Реакция иммунной системы рыб на загрязнение воды токсикантами и закисление среды / В. Р. Микряков, Л. В. Балабанова, Е. А. Заботкина, Т. Б. Лапирова, А. В. Попов, Н. И. Силкина. М.: Наука, 2001. 126 с.

8. Микряков В. Р. Влияние солей некоторых тяжелых металлов на состав белой крови молоди ленского осетра *Acipenser baeri* / В. Р. Микряков, Т. Б. Лапирова // Вопросы ихтиологии. 1997. Т. 37. № 4. С. 538–542.

9. Пищенко Е. В. Аэромоноз (краснуха) карпов / Е. В. Пищенко // Рыбоводство и рыбное хозяйство. 2006. № 10. С. 32–34.

10. Пронина Г. И. Физиолого-иммунологические адаптации карпа к краснухе / Г. И. Пронина, Н. Ю. Корягина, А. А. Иванов // Известия ТСХА. 2015. Вып. 5. С. 94–105.

11. Суворова Т. А. Состав лейкоцитов периферической крови и иммунокомпетентных органов краснухоустойчивой породы карпа в преднерестовый период / Т. А. Суворова, Г. И. Пронина, Д. В. Микряков, А. Б. Петрушин // Актуальные вопросы ветеринарной биологии. № 2 (42), 2019. С. 38–41.

12. Флёрова Е. А. Клеточная организация почек костистых рыб (на примере отрядов *Cypriniformes* и *Perciformes*) / Е. А. Флёрова. Ярославль: Ярославская ГСХА, 2012. 140 с.

реклама



ВЕТЕРИНАР.ru
Всё о ветеринарии для врачей и владельцев животных

— форум
— последние новости
— подборка статей
— справочники
— каталог лекарственных средств
— адреса ветклиник и зоомагазинов
— информация о выставках и конференциях
— анонсы ветеринарных журналов

Заходите на **www.veterinar.ru**, и Вы найдёте много интересной и полезной информации!

Приглашаем к сотрудничеству ветеринарных врачей и организации.
e-mail: invet@inbox.ru boldyreva@mail.ru
тел.: 8 (909) 646-76-43, 8 (916) 181-95-58