

DOI: 10.24143/2073-5529-2017-3-106-112
УДК 639.371

Нгуен Тхи Хонг Ван, С. В. Пономарев, Ю. В. Федоровых, Б. У. Дорджиев

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ КРОВЯНЫХ КЛЕТОК ЕВРОПЕЙСКОГО ОКУНЯ (*PERCA FLUVIATILIS*) В ИСКУССТВЕННЫХ УСЛОВИЯХ

Исследовались основные морфологические показатели крови половозрелых трехлеток европейского окуня (*Perca fluviatilis*), обитающего в искусственных условиях (бассейн объемом 1 м³). Методы исследования – биологический, гистологический и статистический. Всего проанализировано 70000 эритроцитов и 14000 лейкоцитов. Эритрограммы подсчитывались на 1000 эритроцитов; лейкограммы – на 200 лейкоцитов. Во всех пробах, взятых в разное время (весна, лето, осень, зима), регистрировались разные стадии формирования эритроцитов (эритробласты, оксифильные нормобласты, полихроматофильные нормобласты). Активность эритропоэза у подопытных рыб изменялась по сезонам. Наибольшее количество эритробластов отмечалось весной (1,89 %), оксифильных нормобластов (40,8 %) – в начале осени, когда из-за высокой температуры воды в бассейне снизилась концентрация кислорода. Во всех пробах были зарегистрированы некоторые морфологические изменения клеток эритроцитарного ряда: пойкилоцитоз, смещение ядра к периферии клетки, шизоцитоз, появление безъядерных клеток, анизоцитоз, олигохромазия, деформация ядра. Чаще всего встречался пойкилоцитоз. Были отмечены клетки грушевидной, серповидной, ромбовидной, многогранной формы, форма эритроцитов с отростками, характерная для угнетения эритропоэза, встречалась единично. В лейкоцитарной формуле были представлены лимфоциты, моноциты, нейтрофилы и небольшое количество клеток-предшественников (лимфобласты, миелоциты, промиелоциты). Преобладающим компонентом в лейкоцитарной формуле окуня были лимфоциты. Эозинофилы и базофилы в мазках крови окуней практически не встречались. Количество тромбоцитов на 1000 эритроцитов (от 0,92 до 1,59 в зависимости от сезона) свидетельствует о здоровом состоянии рыб.

Ключевые слова: европейский окунь, гематология, показатели крови рыб, эритроциты, лейкоциты, кровяные клетки.

Введение

Одним из диагностических инструментов, который помогает специалистам в обнаружении заболевания и выявлении изменений у рыб, а также в оценке их жизнеспособности, является гематологический анализ. Окунь (*Perca fluviatilis*) – промысловый объект во многих водоемах. Благодаря полезным свойствам, европейский окунь, как источник диетического белка, стал потенциальным объектом аквакультуры во многих странах. Однако работ по гематологии рыб, в том числе и окуня, крайне мало, хотя морфологическая картина крови человека и высших позвоночных животных описана довольно полно. В связи с вышеизложенным **целью исследования** являлось изучение особенностей морфологической картины крови европейского окуня (*Perca fluviatilis*), выращенного в искусственных условиях в разные сезоны года.

Материал и методы исследования

Объектом исследования служили половозрелые европейские окуни-трехлетки (*Perca fluviatilis*), выращиваемые в бассейне объемом 1 м³. Основные показатели выращивания – температура и содержание кислорода – измерялись 3 раза в день. Кровь для анализа была взята по сезонам из хвостовой вены прижизненным способом. Мазки крови изготавливались по методике, рекомендуемой Н. Т. Ивановой (1983), просушивались и окрашивались аzur-эозином по Романовскому – Гимзе [1, 2]. Окрашенные мазки (70 мазков) изучались под микроскопами «Olimpus BX40» и «Микромед-2» с применением иммерсии при увеличении 100 × 16. Снимки делались при помощи фотонасадки Sony DSC-W7. Эритрограммы подсчитаны на 1000 эритроцитов; лейкограммы – на 200 лейкоцитов. Всего было проанализировано 70000 эритроцитов и 14000 лейкоцитов. При дифференцировке форменных элементов применяли классификацию клеток крови Н. Т. Ивановой (1983) [2]. Морфоизмененные эритроциты изучались по Атласу нормальных и патологических клеток крови рыб Л. Д. Житенева с соавт. (1989) [3].

Результаты исследования и их обсуждение

В рамках всего периода выращивания в бассейнах показатели качества воды, такие как концентрация нитритов и нитратов, были в пределах нормы и составили 0,02 (NH₄⁺) и 0,03 (NO₂⁻) мг/л. Результаты микроскопического изучения мазков крови окуня представлены в табл. 1. В периферической крови рыб фиксировались разные стадии формирования эритроцитов (эритробласты, оксифильные нормобласты, полихроматофильные нормобласты). В зависимости от зрелости эритроцитарные клетки окрашены от синего до светло-фиолетового цвета. В мазках крови зрелые эритроциты окуня обычно представляют собой ядросодержащие высокоэллипсоидные клетки с плотным красно-фиолетовым ядром, вытянутым по длине клетки. У молодых эритроцитов ядро клетки занимает большую часть цитоплазмы, а клетки имеют овальную или более круглую форму. Встречаемость разных стадий зрелости эритроцитов пропорциональна степени процесса эритропоэза. В осенних пробах наибольшей была доля оксифильных нормобластов (40,8 %), в пробах других сезонов – 6,8; 21,4 и 12,34 %. Значительная доля молодых стадий эритроцитов свидетельствует о высокой активности эритропоэза, который усиливается при дефиците кислорода в воде [4]. Необходимо отметить тот факт, что в начале осени, из-за высокой температуры воды, концентрация кислорода в воде бассейна снизилась.

Таблица 1

Результаты микроскопического изучения мазков крови окуня, %

Показатель	Весна	Лето	Осень	Зима
Стадии формирования эритроцитов				
Эритробласты	1,89	1,6	1,1	1,04
Оксифильные нормобласты	6,8	21,4	40,8	12,34
Полихроматофильные нормобласты	1,01			0,1
Патологически измененные формы эритроцитов				
Пойкилоцитоз	4,6	1,2	3,2	5,95
Заостренные	1,52	0,3	2,6	4,83
Грушевидные	2,05	0,26	0,5	0,59
Многогранные	1,03	0,65	0,1	0,53
Смещение ядра к периферии	0,67	0,4	0,7	0,2
Шизоцитоз	–	–	1,1	–
Безъядерные клетки	–	–	0,6	–
Анизоцитоз	0,66	1,1	1,6	0,9
Олигохромазия	–	–	100	–
Деформация ядра	–	–	0,02	–
Лейкоцитарная формула				
Лимфоциты	95,79	87,5	93,35	96,2
Моноциты	1,83	5,2	2,22	1,8
Нейтрофилы	0,03	0,5	0,02	–
Лимфобласты	0,6	2,55	1,94	0,58
Миелоциты	0,8	1,24	0,95	0,62
Промиелоциты	0,95	2,13	1,52	0,80
Количество лейкоцитов на 1000 эритроцитов	7,3	15,67	9,69	7,1
Количество тромбоцитов на 1000 эритроцитов	1,59	1,01	0,92	0,95

В периферической крови особей окуня, наряду со здоровыми клетками, были обнаружены морфологически измененные формы эритроцитов [3], отличающиеся степенью проявления патоморфологических нарушений. Были зарегистрированы следующие виды изменения эритроцитов: пойкилоцитоз, смещение ядра к периферии клетки, шизоцитоз, безъядерные клетки, анизоцитоз, олигохромазия, деформация ядра.

Чаще всего встречался *пойкилоцитоз* эритроцитов (рис. 1), который был отмечен во все сезоны исследования (максимально до 15,0 % клеток в мазке). Пойкилоцитоз характеризуется

изменением формы клеток. Были отмечены клетки грушевидной, серповидной, ромбовидной, многогранной формы. Патологическая форма эритроцитов с отростками (характерна для угнетения эритропоэза) встречалась единично.

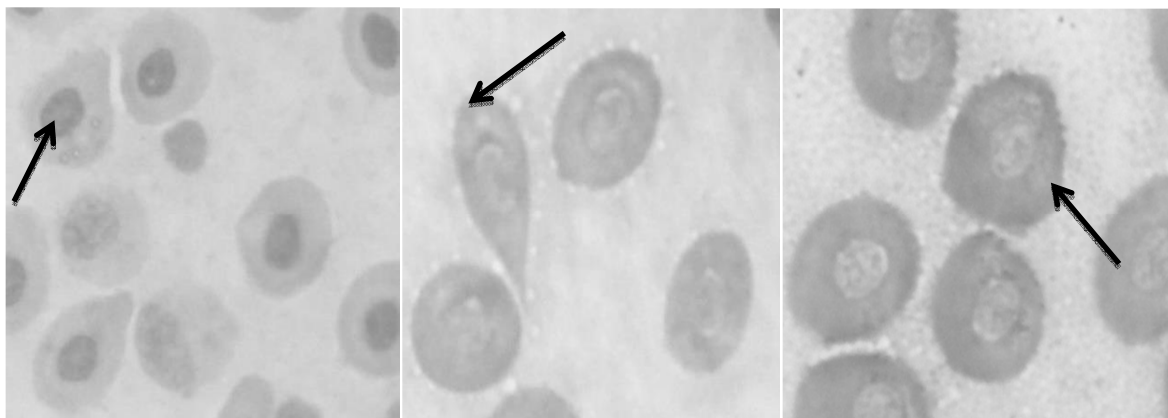


Рис. 1. Морфологические нарушения эритроцитов. Пойкилоцитоз. ОК $\times 16$, ОБ $\times 100$

Количество клеток со *смещением ядра к периферии* клетки (рис. 2) у подопытных рыб было незначительным. Наибольшее количество таких клеток встречалось в осенней пробе (0,7 %), наименьшее – в зимней (0,2 %).

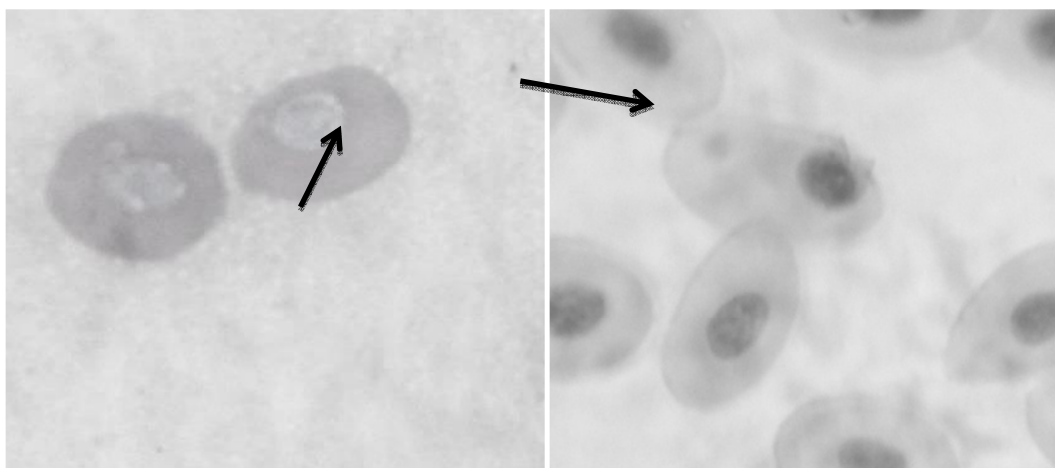


Рис. 2. Морфологические нарушения эритроцитов. Смещение ядра к периферии. ОК $\times 16$, ОБ $\times 100$

Для *шизоцитоза* характерно появление в мазке оборванных клеток – шизоцитов (рис. 3, а). Шизоциты были отмечены в пробах только в начале осени (1,1 %), в остальных пробах их не было. Именно в начале осени температура воды в бассейне была высокой, вследствие чего концентрация растворимого в воде кислорода резко снизилась. Появление шизоцитов связано, вероятно, с недостатком в воде кислорода.

Олигохромазия характеризуется бледной окраской эритроцитов с участками неокрашенной цитоплазмы – способность окрашиваться сохранял лишь тонкий ободок (рис. 3, б).

Появление *безъядерных клеток* (рис. 3, в) возможно при анемиях, сопровождаемых кислородным голоданием, следствием которого является массовое выталкивание ядер из красных клеток. Образование безъядерных эритроцитов уменьшает потребление кислорода, переносимого самой клеткой. Такие клетки встречались единично в осенней пробе (0,6 %).

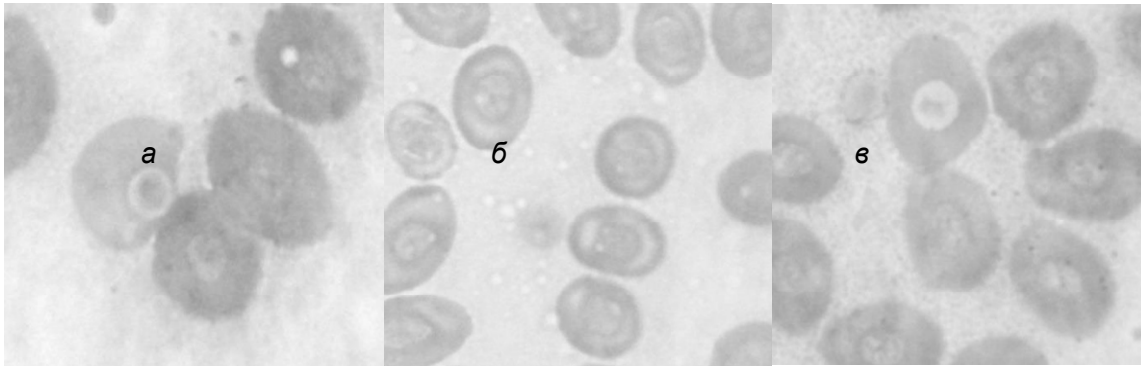


Рис. 3. Морфологические нарушения эритроцитов. ОК $\times 16$, ОБ $\times 100$:
a – шизоциты; *б* – олигохромазия; *в* – безъядерные клетки

Анизоцитоз характеризуется разноразмерностью эритроцитов в периферическом русле. В мазке крови встречались нормоциты (клетки нормальной величины), микроциты (клетки с уменьшенным диаметром), макроциты (клетки ненормально большого размера). В осенних пробах было больше всего разновидностей измененных форм эритроцитов (1,6 %). В основном эти изменения проявляются при анемиях, угнетении эритропоэза, сопровождающихся кислородным голоданием. Именно осенью было зарегистрировано самое низкое содержание кислорода в воде.

Деформация ядра эритроцита наблюдалась в осенней пробе в 0,02 % клеток. Для данного вида нарушения эритроцитов характерна неправильность формы ядра клетки при сохранении его правильных размеров. Размеры самой клетки также соответствуют норме. Массовая деформация ядер эритроцитов обычно проявляется при загрязнении водной среды и под влиянием радиоактивных факторов, что приводит к дистрофии клетки [5]. Однако в данном случае деформация ядер эритроцитов встречалась нечасто, поэтому ее следует рассматривать как адаптацию рыб к повышению температуры воды.

Наибольшая доля эритробластов отмечалась весной (1,89 %), что свидетельствует о высокой активности эритропоэза в данный период года.

В лейкоцитарную формулу входят лимфоциты, моноциты, нейтрофилы, а также клетки-предшественники, такие как лимфобласты, миелобласты, промиелоциты. Количество миелоцитов и промиелоцитов в крови подопытных окуней была значительно ниже количества, зафиксированного Н. Т. Ивановой (1983) [2]. Большинство лейкоцитов было представлено лимфоцитами, что свидетельствует о высокой степени развития клеточного иммунитета [6]. Количество лимфоцитов во всех сезонах была выше количества, зафиксированного Н. Т. Ивановой (1983) [2]. Наибольшая доля моноцитов была отмечена в июле. Роль этих клеток – участие в фагоцитарных процессах. Моноциты поглощают продукты распада клеток и тканей. Повышение доли моноцитов в летнее время связано, возможно, с резорбцией половых продуктов окуней. Наибольшее количество лейкоцитов на 1000 эритроцитов наблюдалось также в июле (15,67 %). Увеличение соотношения лейкоцитов на 1000 эритроцитов объясняется увеличением количества тромбоцитов.

В мазках крови окуней в рамках всех сезонов практически не встречались эозинофилы и базофилы. По мнению И. М. Пестовой (1960), для окуня характерна абсолютная ацидофилия эозинофилов [7]. Однако исследования Хайдера (G. Haider, 1968) и Ивановой (1983) показали, что гранулоциты различных категорий свойственны крови окуня в меньшей мере, чем крови других костистых видов рыб [2, 8]. В крови окуня из различных географических зон они находятся в разных соотношениях и меняются по возрастам и сезонам.

Увеличение количества тромбоцитов в периферической крови часто связано с наличием в организме каких-либо заболеваний, травмирований. Количество тромбоцитов на 1000 эритроцитов у подопытных окуней незначительно отличалось от их количества, зафиксированного Н. Т. Ивановой (1983), что свидетельствует о здоровом состоянии рыб.

Заключение

По результатам исследования можно сделать следующие выводы:

- в пробах всех сезонов присутствовало относительно большое количество патологически измененных клеток;
- разнообразие патологических изменений периферической крови окуня (пойкилоцитоз, шитоцитоз, смещение ядра клетки, анизоцитоз, олигохромазия) указывает на наличие стрессорного воздействия в воде бассейна на организм рыб;
- факторами, вызывающими стресс, предположительно являются снижение кислорода в воде, повышение концентрации нитратных азотов в воде бассейна в утренние и вечерние часы;
- физиологическое состояние рыб меняется не только под влиянием негативных факторов, но и в зависимости от времени года;
- лейкоцитарный состав крови окуня представлен лимфоцитами, моноцитами и небольшим количеством клеток-предшественников (миелоциты, промиелоциты); преобладающим компонентом в лейкоцитарной форме окуня являются лимфоциты.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Волкова О. В., Елецкий Ю. К. Основы гистологии с гистологической техникой. М.: Медицина. 1982. 304 с.
2. Иванова Н. Т. Атлас клеток крови рыб. М.: Легкая и пищ. пром-сть, 1983. 184 с.
3. Житенева Л. Д., Полтавцева Т. Г., Рудницкая О. А. Атлас нормальных и патологически измененных клеток крови рыб. Ростов н/Д, 1989. 111 с.
4. Иванов А. А. Физиология рыб. М.: Мир, 2003. 359 с.
5. Гудков Д. И., Микряков В. Р., Микряков Д. В., Поморцева Н. Л., Каглян А. Е., Назаров А. Б. Нарушение гематологических показателей окуня (*Perca fluviatilis* L.) в водоемах Чернобыльской зоны отчуждения // Проблемы патологии, иммунологии и охраны здоровья рыб и других гидробионтов: расширенные материалы IV Междунар. конф. (Борок, 24–27 сентября 2015 года). Ярославль: Филигрань, 2015. С. 289–297.
6. Житенева Л. Д., Макаров Э. В., Рудницкая О. А. Эволюция крови. Ростов н/Д, 2001. 112 с.
7. Пестова И. М. Клеточный состав крови и источники развития клеток крови у костистых рыб различных экологических групп // Сб. науч. работ кафедры гистологии и эмбриологии. Пермь: Изд-во Перм. мед. ин-та, 1960. С. 201–205.
8. Haider G. Vergleichende Untersuchungen zur Blutmorphologie und Hämatopoese einiger Teleostier // IV Blutbildungsstätten und Blutbildung. Zoologischer Anzeiger. 1968 В. 181–Н. 1–2-Р. 45–56.

Статья поступила в редакцию 25.04.2017

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Нгуен Тхи Хонг Ван – Россия, 414056, Астрахань; Астраханский государственный технический университет; аспирант кафедры рыбоводства и рыболовства; hongvannguyen@mail.com.

Пономарев Сергей Владимирович – Россия, 414056, Астрахань; Астраханский государственный технический университет; д-р биол. наук, профессор; зав. кафедрой рыбоводства и рыболовства; kafavb@yandex.ru.

Федоровых Юлия Викторовна – Россия, 414056, Астрахань; Астраханский государственный технический университет; канд. с.-х. наук, доцент кафедры рыбоводства и рыболовства; jaqua@yandex.ru.

Дорджиев Борис Улюмджиевич – Россия, 414056, Астрахань; Астраханский государственный технический университет; аспирант кафедры рыбоводства и рыболовства; boris.dordzhiev.95@mail.ru.



Nguyen Thi Hong Van, S. V. Ponomarev, Yu. V. Fedorovykh, B. U. Dordzhiev

**MORPHOLOGICAL PARTICULARITIES
OF EUROPEAN PERCH BLOOD CELLS (*PERCA FLUVIATILIS*)
IN ARTIFICIAL CONDITIONS**

Abstract. The article deals with basic morphological hematological characteristics of the three-year-old European perch (*Perca fluviatilis*) living in artificial conditions (1 m³ water tank). In the research there were used biological, histological and statistical methods. Erythrograms were calculated for 1000 erythrocytes; leukograms - for 200 leukocytes. In all samples taken in different periods (spring, summer, autumn, winter) there were registered different stages of erythrocyte development (erythroblasts, oxyphilic normoblasts, polychromatophilic normoblasts). Erythropoiesis activity in tested species was registered in spring (1.89%), in oxyphilic normoblasts (40.8%) in early autumn, when oxygen concentration in the water tank lowered due to high water temperature. In the course of testing in all samples there were registered certain morphological changes in the cells of erythrocyte series, such as poikilocytosis, displacement of the nucleus to the cell periphery, schistocytosis, non-nuclear cells, anisocytosis, oligochromasia, deformation of the nucleus. Poikilocytosis occurred most often. There were found piriform, falciform, rhomboid, polyhedral shaped cells; erythrocytes with outgrowths specific for erythropoiesis suppression were scarce. Representatives of the leukocytes were lymphocytes, monocytes and a small number of precursor cells of granulocytes (myelocytes, promyelocytes). The predominant component of leukocyte form perch were represented by lymphocytes. Eosinophil and basophil cells in blood films were little. The number of thrombocytes for 1000 erythrocytes (0.92-1.59 depending on the season) testify sound state of fish species.

Key words: European perch, hematology, fish blood features, erythrocytes, leukocytes, blood cells.

REFERENCES

1. Volkova O. V., Eletsii Iu. K. *Osnovy gistologii s gistologicheskoi tekhniki* [Basic principles of histology and histological techniques]. Moscow, Meditsina Publ., 1982. 304 p.
2. Ivanova N. T. *Atlas kletok krovi ryb* [Atlas of blood cells of fish]. Moscow, Legkaia i pishchevaia promyshlennost' Publ., 1983. 184 p.
3. Zhiteneva L. D., Poltavtseva T. G., Rudnitskaia O. A. *Atlas normal'nykh i patologicheskii izmenennykh kletok krovi ryb* [Atlas of normal and pathologically changed blood cells of fish]. Rostov-on-Don, 1989. 111 p.
4. Ivanov A. A. *Fiziologiya ryb* [Physiology of fishes]. Moscow, Mir Publ., 2003. 359 p.
5. Gudkov D. I., Mikriakov V. R., Mikriakov D. V., Pomortseva N. L., Kaglian A. E., Nazarov A. B. Narushenie gematologicheskikh pokazatelei okunia (*Perca fluviatilis* L.) v vodoemakh Chernobyl'skoi zony otchuzhdeniia [Violation of hematological characteristics of perch (*Perca fluviatilis* L.) in water basins of the Chernobyl exclusion zone]. *Problemy patologii, immunologii i okhrany zdorov'ia ryb i drugikh gidrobiontov: rasshirennye materialy IV Mezhdunarodnoi konferentsii (Borok, 24–27 sentiabria 2015 g.)*. Yaroslavl, Filigran' Publ., 2015. P. 289-297.
6. Zhiteneva L. D., Makarov E. V., Rudnitskaia O. A. *Evolutsiia krovi* [Blood evolution]. Rostov-on-Don, 2001. 112 p.
7. Pestova I. M. Kletochnyi sostav krovi i istochniki razvitiia kletok krovi u kostistykh ryb razlichnykh ekologicheskikh grupp [Blood cell composition and sources of development of blood cells in bony fishes of different ecological groups]. *Sbornik nauchnykh rabot kafedry gistologii i embriologii*. Perm, Izd-vo Permskogo meditsinskogo instituta, 1960. P. 201-205.
8. Haider G. Vergleichende Untersuchungen zur Blutmorphologie und Hämatopoese einiger Teleostier. IV Blutbildungsstätten und Blutbildung. *Zoologischer Anzeiger*. 1968 B. 181-H. 1-2. P. 45-56.

The article submitted to the editors 25.04.2017

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Nguyen Thi Hong Van – Russia, 414056, Astrakhan; Astrakhan State Technical University; Postgraduate Student of the Department of Fish Farming and Fishery; hongvannguyen@mail.com.

Ponomarev Sergey Vladimirovich – Russia, 414056, Astrakhan; Astrakhan State Technical University; Doctor of Biology, Professor; Head of the Department of Fish Farming and Fishery; kotas@inbox.ru.

Fedorovkh Yulia Viktorovna – Russia, 414056, Astrakhan; Astrakhan State Technical University; Candidate of Agricultural Sciences; Assistant Professor of the Department of Fish Farming and Fishery; jaqua@yandex.ru.

Dordzhiev Boris Ulyumdzhevich – Russia, 414056, Astrakhan; Astrakhan State Technical University; Postgraduate Student of the Department of Fish Farming and Fishery; boris.dordzhiev.95@mail.ru.

