



Динамика интегральных гематологических индексов рыб при хронической интоксикации

Научная статья
УДК 639.3.09

DOI: 10.36038/0131-6184-2024-1-81-88

Егорова Вера Ивановна – кандидат биологических наук, доцент кафедры «Гидробиология и общая экология» института рыбного хозяйства, биологии и природопользования, Астрахань, Россия
E-mail: lekaego@mail.ru

Волкова Ирина Владимировна – доктор биологических наук, профессор кафедры «Гидробиология и общая экология» института рыбного хозяйства, биологии и природопользования, Астрахань, Россия
E-mail: gridasova@mail.ru

Астраханский государственный технический университет (ФГБОУ ВО «АГТУ»)

Адрес: Россия, 414056, г. Астрахань, ул. Татищева, 16

Аннотация. Сегодня лабораторная практика располагает богатым арсеналом методов динамического контроля за течением патологических процессов в организме рыб. Количественные показатели лейкоцитов крови и, особенно, показатели ее лейкоцитарной формулы являются важными методами исследования при диагностике самых разнообразных патологических состояний. Для объективной оценки этих результатов в настоящее время предложен ряд показателей, определяющих течение патологических процессов в организме, однако в реальной рыбохозяйственной науке и аквакультуре эти показатели не используются.

Цель нашего исследования состояла в изучении динамики интегральных гематологических индексов рыб на фоне хронической экспериментальной интоксикации.

В результате исследований установлено, что применение гематологических индексов у рыб может дать дополнительную информацию о течении токсического процесса, в том числе о течении патологических процессов другой этиологии. Выявлено, что определение инте-

гральных лейкоцитарных индексов может быть дополнением или же альтернативой сложным иммунологическим и биохимическим исследованиям.

Ключевые слова: карп, русский осётр, гематологические показатели, интегральные гематологические индексы рыб

Для цитирования: Егорова В.И., Волкова И.В. Динамика интегральных гематологических индексов рыб при хронической интоксикации // Рыбное хозяйство. 2024. № 1. С. 81-88. DOI: 10.36038/0131-6184-2024-1-81-88

DYNAMICS OF INTEGRAL HEMATOLOGICAL INDICES OF FISH IN CHRONIC INTOXICATION

Vera I. Egorova – Candidate of Biological Sciences, Associate Professor of the Department of Hydrobiology and General Ecology, Institute of Fisheries, Biology and Nature Management, Astrakhan, Russia

Irina V. Volkova – Doctor of Biological Sciences, Associate Professor of the Department of Hydrobiology and General Ecology, Institute of Fisheries, Biology and Nature Management, Astrakhan, Russia

Astrakhan State Technical University («AGTU»)

Address: Russia, 414056, Astrakhan, Tatishcheva syreet, 16

Annotation. Today, laboratory practice has a rich arsenal of methods for dynamic control over the course of pathological processes in the body of fish. Quantitative indicators of blood leukocytes and, especially, indicators of its leukocyte formula are important re-search methods in the diagnosis of a wide variety of pathological conditions. To objectively assess these results, a number of indicators have now been proposed that determine the course of pathological processes in the body, but these indicators are not used in real fisheries science and aquaculture.

The purpose of our study was to study the dynamics of integral hematological indices of fish against the background of chronic experimental intoxication.

As a result of the research, it was found that the use of hematological indices in fish can provide additional information about the course of the toxic process, including the course of pathological processes of other etiology. It was revealed that the determination of integral leukocyte indices can be an addition or alternative to complex immunological and biochemical studies.

Keywords: carp, russian sturgeon, hematological indicators, integral hematological indices of fish

For citation: Egorova V.I., Volkova I.V. Dynamics of integral hematological indices of fish in chronic intoxication. // Fisheries. 2024. No. 1. Pp.81-88. DOI: 10.36038/0131-6184-2024-1-81-88

*Таблицы составлены автором, рисунки – авторские /
The tables are compiled by the author, the drawings were made by the author*

Успех коммерческого культивирования рыб во многом зависит от их состояния здоровья. Анализ крови, её специфические характеристики дают ценную информацию в форме всестороннего представления о физиологическом и функциональном состоянии рыбы в различных условиях содержания.

Одно из центральных мест в гематологических исследованиях занимают морфологические показатели крови, но комплексная

оценка интегральных гематологических индексов более информативна, чем изучение простой гемограммы, так как позволяет оценить развитие, течение и прогноз патологического процесса.

Из-за высокой лабильности гематологических показателей рыб наиболее достоверные результаты могут быть получены при проведении комплексных гемато-биохимических анализов, однако по ряду причин это не всег-

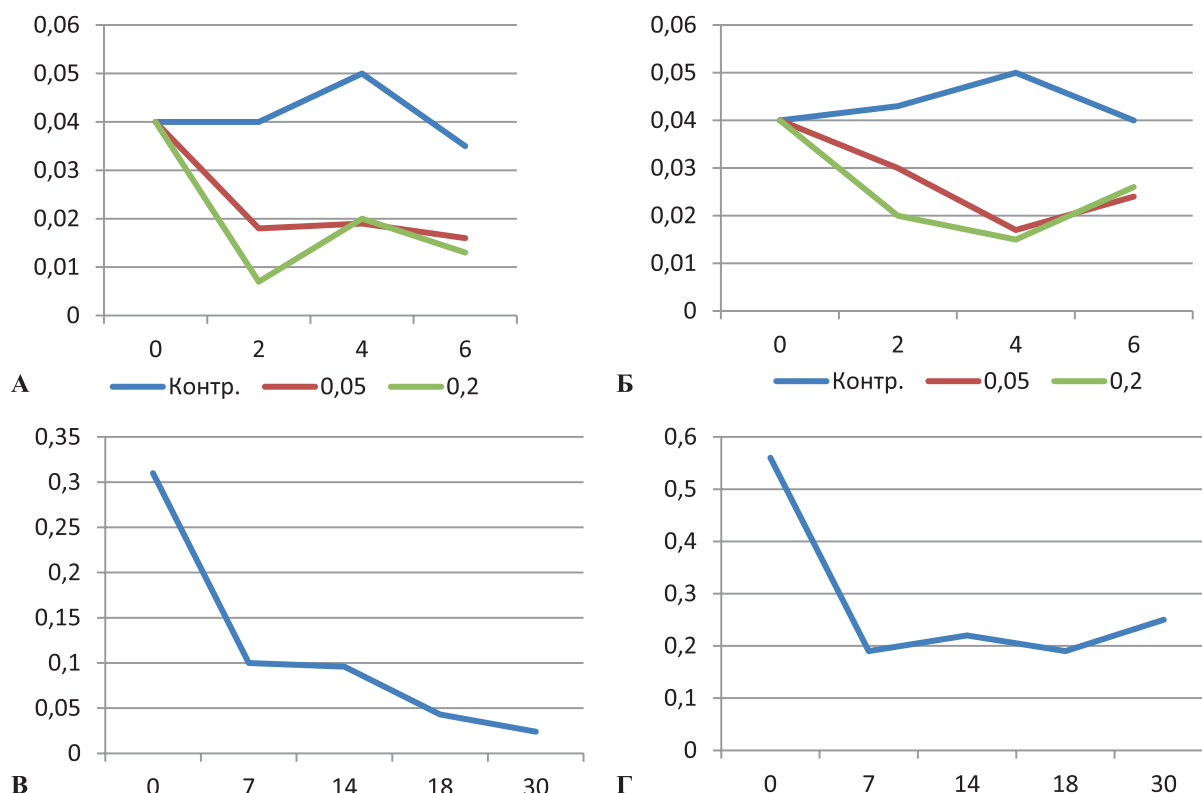


Рисунок 1. Динамика ИСНЛ рыб при интоксикации. А: Воздействие меди на карпа в концентрациях 0,05 и 0,2 мг/л, продолжительность 6 месяцев. Б: Воздействие ртути на карпа в концентрациях 0,05 и 0,2 мг/л, продолжительность 6 месяцев. В: Воздействие нефти на карпа в концентрации 1,0 мг/л, продолжительность 30 дней. Г: Воздействие нефти на осетра в концентрации 1,0 мг/л, продолжительность 30 дней

Figure 1. Dynamics of fish consumption during intoxication. А: the effect of copper on carp in concentrations of 0.05 and 0.2 mg/l, duration of 6 months. Б: exposure of mercury to carp in concentrations of 0.05 and 0.2 mg/l, duration of 6 months. В: the effect of oil on carp at a concentration of 1.0 mg/l, duration of 30 days. Г: the effect of oil on sturgeon at a concentration of 1.0 mg/l, duration of 30 days

да возможно, кроме того, следует учитывать, что при возрастании сложности исследований, в первую очередь страдает оперативность получения информации, что зачастую очень важно в условиях коммерческого культивирования рыбы. Поэтому исследования крови рыб являются по-прежнему актуальными и перспективными для определения стрессовых реакций рыб, обусловленных причинами как эндо-, так и экзогенной этиологии.

В настоящее время лабораторная практика располагает обширным арсеналом методов динамического контроля за ходом патологических процессов. Количественные показатели лейкоцитов крови и, особенно, показатели ее лейкоцитарной формулы являются методами исследования, имеющими

значение в диагностике самых разнообразных состояний. С целью объективизации оценки этих результатов в настоящее время предложен ряд индексов, позволяющих судить о течении патологического процесса в организме, однако данные показатели практически не применяются в практической ихтиологии и в рыбоводстве.

В связи с вышесказанным, цель нашего исследования состояла в изучении динамики интегральных гематологических индексов рыб на фоне хронической экспериментальной интоксикации.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Для изучения динамики и расчета интегральных гематологических индексов были использованы результаты экспери-

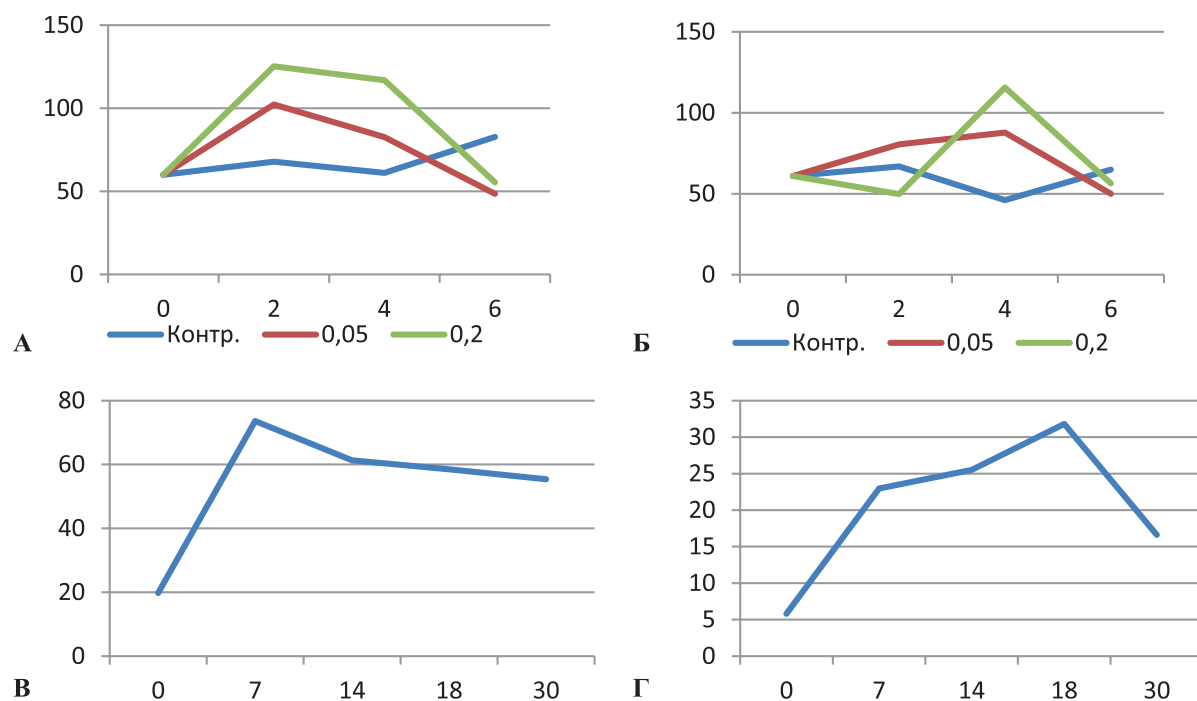


Рисунок 2. Динамика коэффициента Бредекка рыб при интоксикации. А: Воздействие меди на карпа в концентрациях 0,05 и 0,2 мг/л, продолжительность 6 месяцев. Б: Воздействие ртути на карпа в концентрациях 0,05 и 0,2 мг/л, продолжительность 6 месяцев. В: Воздействие нефти на карпа в концентрации 1,0 мг/л, продолжительность 30 дней. Г: Воздействие нефти на осетра в концентрации 1,0, продолжительность 30 дней

Figure 2. Dynamics of the Bredekka coefficient of fish during intoxication. А: the effect of copper on carp in concentrations of 0.05 and 0.2 mg/l, duration of 6 months. Б: exposure of mercury to carp in concentrations of 0.05 and 0.2 mg/l, duration of 6 months. В: the effect of oil on carp at a concentration of 1.0 mg/l, duration of 30 days. Г: the effect of oil on sturgeon in a concentration of 1.0, duration of 30 days

ментов, проводившихся ранее с разными видами рыб.

Для исследования использовались карп (беспородный чешуйчатый) *Cyprinus carpio* (L), русский осетр *Acipenser guldenstadti* Brand в возрасте 0+.

Рыбы содержались в аквариальном комплексе ООО «Эко-тропик» (созданном с участием Астраханского государственного технического университета). Объёмы аквариумов – от 60 до 500 литров. Все аквариумы были снабжены биофильтрами. Кормление осуществлялось полноценными комбикормами.

Для данной работы использовались результаты экспериментов, в которых, в качестве токсикантов, применялись медь и нефть. Контроль опытных концентраций осуществлялся соответствующими аналитическими методами. Содержание меди

контролировалось методом атомно-абсорбционной спектрофотометрии, содержание нефтяных углеводородов – методом инфракрасной спектроскопии.

Отбор крови в течение эксперимента осуществлялся прижизненно, путём пункции хвостового сосуда. При окончании опыта кровь отбирали методом каудэктомии.

Изучение гематологических показателей проводилось по методикам, рекомендованным Н.Т. Ивановой [2]. Предварительно приготовленные и зафиксированные мазки окрашивались азур-эозином по Романовскому-Гимза. Подсчет лейкоцитарной формулы крови проводили четырехпольным методом.

На основании полученных данных нами были определены следующие интегральные гематологические показатели:

- Индекс Кребса (отношение нейтрофилов к лимфоцитам);

- коэффициент Бредекка (отношение количества лимфоцитов к количеству палочко-ядерных нейтрофилов);
- лейкоцитарный индекс (отношение количества лимфоцитов к количеству нейтрофилов);
- индекс соотношения нейтрофилов и моноцитов;
- индекс соотношения лимфоцитов и моноцитов.

Весь опытный материал сравнивали с контролем. Данные количественного анализа обрабатывались биостатистическими методами [3]. Достоверность различий оценивалась по критерию Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Лейкоциты рыб, которые были задействованы в экспериментах, имели типичную форму.

Лимфоциты были наиболее многочисленной популяцией лейкоцитов. Это типичные клетки крови с ядрами разнообразной, чаще округлой формы, окрашенными по Романовскому в тёмный красно-фиолетовый цвет. Базофильная цитоплазма в виде тонкого ободка, но чаще в виде отдельных фрагментов вокруг ядра. Наблюдалась разноразмерность лимфоцитов. У лимфоцитов средних и крупных размеров ядра были менее плотно окрашены, был чётко выражен гетерохроматин. Отмечались немногочисленные голаядерные лимфоциты.

Моноциты – крупные клетки с округлыми или неправильной формы ядрами. Слабобазофильная цитоплазма занимала большую часть объёма клетки. Отмечались как зрелые моноциты, так и монобласты, которые отличались от зрелых клеток крупным ядром,

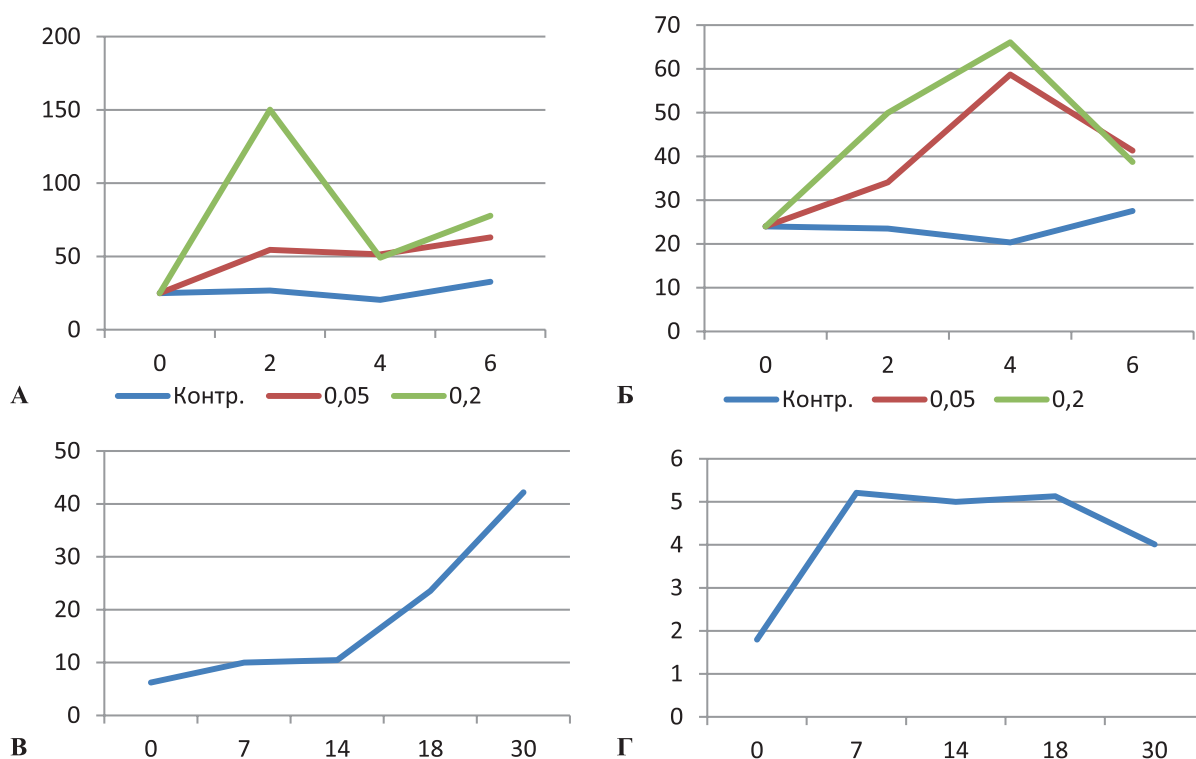


Рисунок 3. Динамика изменения лейкоцитарного индекса при интоксикации. А: Воздействие меди на карпа в концентрациях 0,05 и 0,2 мг/л, продолжительность 6 месяцев. Б: Воздействие ртути на карпа в концентрациях 0,05 и 0,2 мг/л, продолжительность 6 месяцев. В: Воздействие нефти на карпа в концентрации 1,0 мг/л, продолжительность 30 дней. Г: Воздействие нефти на осетра в концентрации 1,0 мг/л, продолжительность 30 дней

Figure 3. Dynamics of changes in the leukocyte index during intoxication. A: the effect of copper on carp in concentrations of 0.05 and 0.2 mg/l, duration of 6 months. B: exposure of mercury to carp in concentrations of 0.05 and 0.2 mg/l, duration of 6 months. Q: the effect of oil on carp at a concentration of 1.0 mg/l, duration of 30 days. D: the effect of oil on sturgeon at a concentration of 1.0 mg/l, duration of 30 days

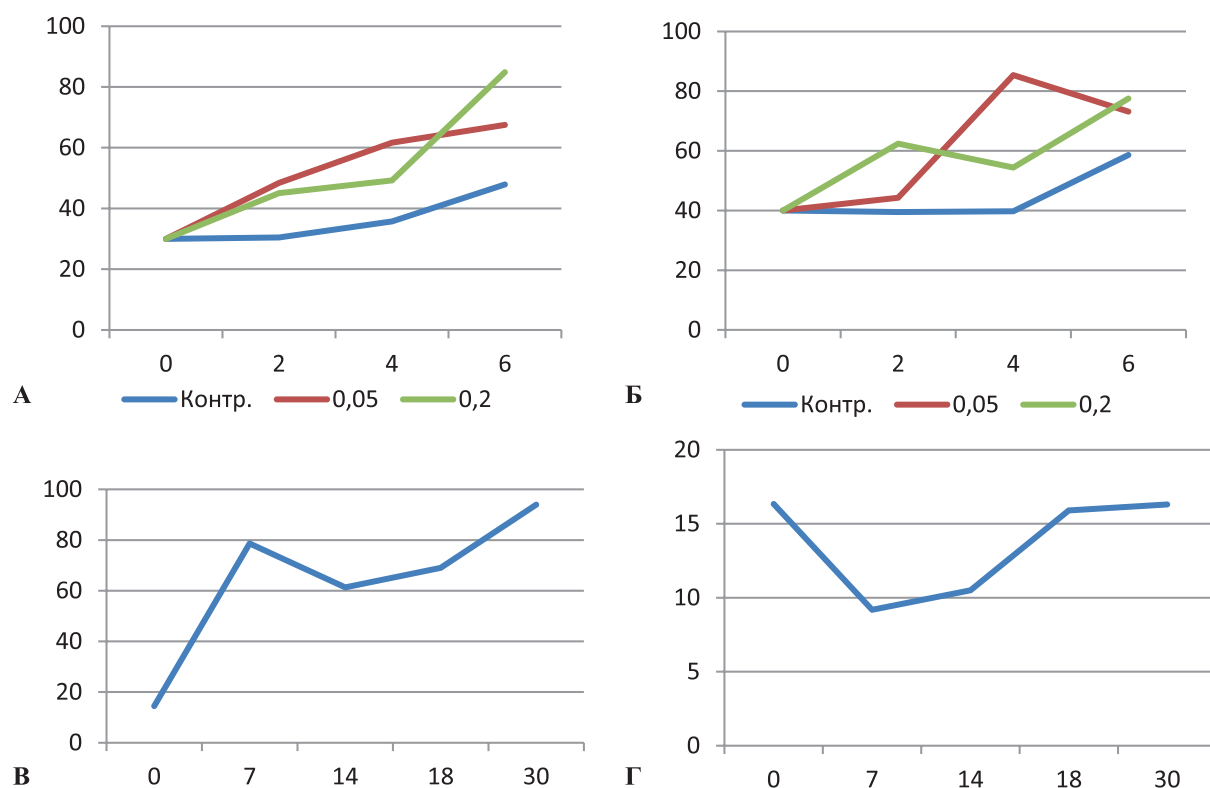


Рисунок 4. Динамика изменения лимфоцитарно-моноцитарного коэффициента при интоксикации. А: Воздействие меди на карпа в концентрациях 0,05 и 0,2 мг/л, продолжительность 6 месяцев. Б: Воздействие ртути на карпа в концентрациях 0,05 и 0,2 мг/л, продолжительность 6 месяцев. В: Воздействие нефти на карпа в концентрации 1,0 мг/л, продолжительность 30 дней. Г: Воздействие нефти на осетра в концентрации 1,0 мг/л, продолжительность 30 дней

Figure 4. Dynamics of changes in the lymphocyte-monocyte coefficient during intoxication. A: the effect of copper on carp in concentrations of 0.05 and 0.2 mg/l, duration of 6 months. B: exposure of mercury to carp in concentrations of 0.05 and 0.2 mg/l, duration of 6 months. V: the effect of oil on carp at a concentration of 1.0 mg/l, duration of 30 days. D: the effect of oil on sturgeon at a concentration of 1.0 mg/l, duration of 30 days

смещенным к периферии клетки. В цитоплазме можно было наблюдать вакуоли различной величины.

Гранулоциты у рыб обычно представлены пятью группами клеток, дифференцирующимися из миелобласта: нейтрофилами, базофилами, псевдо-базофилами, эозинофилами, псевдо-эозинофилами [2], которые по ходу созревания последовательно проходят через стадии миелоцита, метмиелоцита, палочко- и сегментно-ядерных клеток.

Нейтрофилы обнаруживались практически у всех исследованных рыб. Это крупные клетки с цитоплазмой, окрашенной по Романовскому в бледно-розовый цвет. Ядро располагалось, как правило, эксцентрично. Ядра сегментноядерных нейтрофилов обычно были рассечены на две доли.

Псевдо-эозинофилы (у карпа) и эозинофилы, при окраске по Романовскому, имели цитоплазму с оксифильным оттенком с зернистостью, имевшей фиолетовый оттенок. Клетки были округлой формы, форма ядер была характерной для определённой стадии зрелости лейкоцита.

Динамика изменения индекса соотношения нейтрофилов к лимфоцитам (коэффициент Кребса) в крови рыб при экспериментальной интоксикации показан на рисунке 1.

Коэффициент Кребса, при всех вариантах экспериментов, имел общую тенденцию к снижению. Это было отчётливо видно, как на примере карпа, так и при наблюдении за молодью русского осетра. Коэффициент, показывающий отношение количества нейтрофилов (на всех стадиях дифференциа-

ции) к лимфоцитам – это доступный показатель, отражающий соотношение клеток неспецифической (нейтрофилы) и специфической (лимфоциты) защиты, изменение в соотношении может отражать дисбаланс между различными звеньями иммунитета. Т.е., повреждающее воздействие, в данном случае хроническая интоксикация, проявляется в виде уменьшения значения коэффициента Кребса. Вместе с тем, прогностическое значение данного коэффициента для рыб требует уточнения, т.к. из практики клинической медицины, в частности, известно, что динамическое возрастание значения индекса может служить предиктором неблагоприятного прогноза при ряде патологических состояний [1].

Динамика изменения коэффициента Бредекка, отражающего соотношение лимфоцитов к палочкоядерным нейтрофилам у рыб в ходе эксперимента, показана на рисунке 2.

При воздействии меди, через 2 месяца было отмечено возрастание данного показателя, причём был выражен дозозависимый эффект – если при концентрации 0,05 мг/л произошло увеличение значения коэффициента Бредекка на 52,2%, то при концентрации 0,2 мг/л – на 84,5%. В дальнейшем наметилась тенденция снижения коэффициента, что привело к 6 месяцам наблюдений к достоверному падению значений ниже контрольного значения ($P < 0,05$).

Индекс Бредекка применяется как интегральный критерий оценки функционального состояния организма. Отмечается, что его увеличение свидетельствует о повышении уровня неспецифической резистентности организма, напротив, – снижение является признаком снижения общей резистентности [4].

Динамика изменения в ходе экспериментов лейкоцитарного индекса, представляющего собой отношение лимфоцитов к сумме всех форм нейтрофилов, представлена на рисунке 3.

Лейкоцитарный индекс (ЛИ), отражающий соотношение гуморального и клеточного составляющих иммунной системы, во всех вариантах опыта имел определённую тенденцию к росту в течение эксперимента. Наибольшее превышение, по сравнению с контролем, отмечалось у карпа, при воздействии нефти в концентрации 1,0 мг/л, через 30 дней хронической интоксикации – значе-

ние лейкоцитарного индекса возросло более чем 6,7 раза. Почти столь же значительное возрастание данного показателя было при воздействии меди в концентрации 0,2 мг/л по окончании второго месяца хронического опыта, в этом случае лейкоцитарный индекс вырос более чем в 5,5 раза. Следовательно, рост лейкоцитарного индекса может свидетельствовать о преимущественном угнетении гуморальной составляющей иммунитета по сравнению с клеточной.

Лимфоцитарно-моноцитарный коэффициент (ЛМК) или индекс соотношения лимфоцитов и моноцитов является отражением соотношения в организме аффекторного и эффекторного компонентов иммунного ответа, который в течение эксперимента имел тенденцию к возрастанию в большинстве групп (рис. 4).

Наиболее выраженными были изменения у карпов при воздействии нефти. Вместе с тем, при опытным влиянии нефти на русского осетра было отмечено сначала снижение лимфоцитарно-моноцитарного коэффициента ($P < 0,05$) при дальнейшем восстановлении значения до начального уровня. Моноциты, как и фагоциты крови, являются пулом клеток, которые реагируют на начальные стадии патологических процессов, сопровождающихся воспалительными реакциями. Отмечается, что при воспалении отмечается пролиферация промоноцитов, возрастает число монобластов в периферической крови рыб, далее прослеживается увеличение количественного пула моноцитов в крови. Увеличение значения лимфоцитарно-моноцитарного коэффициента может свидетельствовать как об угнетении неспецифического клеточного иммунитета, так и о возможном нарушении специфического иммунного ответа за счёт подавления функции первичного распознавания антигена и представления его в иммуногенной форме.

Таким образом, применение гематологических индексов у рыб может дать дополнительную информацию о течении токсического процесса и, несомненно, о течении патологических процессов другой этиологии. Поскольку эти индексы отражают отношения между различными классами лейкоцитов, определение интегральных лейкоцитарных индексов может быть дополнением или же альтернативой сложным иммунологическим и биохимическим исследованиям.



Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Вклад в работу авторов: **В.И. Егорова** – идея статьи, корректировка текста; **В.И. Егорова, И.В. Волкова** – подготовка обзора литературы, подготовка статьи и ее окончательная проверка; **В.И. Егорова** – сбор и анализ данных, подготовка статьи.

The authors declare that there is no conflict of interest.

Contribution to the work of the authors: **V.I. Egorova** – the idea of the article, text correction; **V.I. Egorova, I.V. Volkova** – preparation of a literature review, preparation of the article and its final verification; **V.I. Egorova** – data collection and analysis, preparation of the article.

ЛИТЕРАТУРА И ИСТОЧНИКИ

1. Бахчоян М.Р., Космачева Е.Д., Славинский А.А. Индекс соотношения нейтрофилов к лимфоцитам как предиктор неблагоприятного прогноза у пациентов с сердечной недостаточностью некоронарогенной этиологии // Клиническая практика. 2017. № 3. С. 48-52.
2. Иванова Н.Т. Атлас клеток крови рыб – М.: Легкая и пищевая промышленность. 1983. 184 с.
3. Лакин Г.Ф. Биометрия – М.: Высшая школа. 1973. 343 с.
4. Леонов В.В., Павлова О.Н., Гуленко О.Н. [и др.] Интегральные гематологические

индексы, как способ оценки реактивных изменений крови на нагрузку антиоксидантами / В.В. Леонов // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. 2022. № 4. С. 133-140.

LITERATURE AND SOURCES

1. Bakhchoyan M.R., Kosmacheva E.D., Slavinsky A.A. (2017). The index of the ratio of neutrophils to lymphocytes as a predictor of an unfavorable prognosis in patients with cardiac insufficiency of non-coronary etiology // Clinical practice. No. 3. Pp. 48-52. (In Russ.).
2. Ivanova N.T. (1983). Atlas of fish blood cells – M.: Light and food industry. 184 p. (In Russ.)
3. Lakin G.F. (1973). Biometrics – M.: Higher School. 343 p. (In Russ.).
4. Leonov V.V., Pavlova O.N., Gulenko O.N. [et al.] (2022). Integral hematological indices as a way to assess reactive blood changes to the load of antioxidants / V.V. Leonov // Bulletin of new medical technologies. Electronic edition. No. 4. Pp. 133-140. (In Russ.).

Материал поступил в редакцию/ Received 20.11.2023
Принят к публикации / Accepted for publication 12.01.2024