

УДК 597.556.33–111.11

Состав лейкоцитов органов кроветворения антарктического клыкача

И. И. Гордеев¹, Л. В. Балабанова², Т. А. Суворова²

¹ Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова (ФГБОУ ВО «МГУ им. М. В. Ломоносова»), г. Москва; Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии (ФГБНУ «ВНИРО»), г. Москва.

² Институт биологии внутренних вод им. И. Д. Папанина РАН (ФГБУН «ИБВВ им. И. Д. Папанина»), п. Борок
E-mail: gordeev_ilya@bk.ru

Состав лейкоцитов отражает видовые и экологические особенности рыб, а соотношение отдельных типов клеток — функциональное состояние организма и характер влияния биотических и абиотических стресс-факторов. Антарктический клыкач *Dissostichus mawsoni* — один из самых крупных и коммерчески значимых представителей нототениевых антарктических вод. Настоящая работа посвящена вопросам гемопоэза этого донного хищника — приведены новые данные о составе лейкоцитов гемопоэтических органов. Рыб отлавливали в январе — феврале 2012 г. в море Росса на глубине от 690 до 1183 м. Результаты исследования показали, что в лейкоцитарной формуле иммунокомпетентных органов антарктического клыкача преобладают лимфоциты, значительную часть составляют blastные формы и небольшой процент содержания гранулоцитов и моноцитов/макрофагов. Установленные различия зависят от структурно-функциональных особенностей органов: в почках, как основном органе кроветворения костистых рыб, отмечено более высокое содержание лимфоцитов, гранулоцитов и моноцитов/макрофагов, а в селезенке, выполняющей функцию «депо» крови — blastных форм клеток. Полученные данные представляются весьма важными для понимания направления морфофизиологических перестроек клеточного состава лейкоцитов в процессе адаптации рыб к глубоководным условиям обитания.

Ключевые слова: антарктический клыкач *Dissostichus mawsoni*, лейкоциты, почки, селезенка, АНТКОМ.

ВВЕДЕНИЕ

Лейкоциты — полиморфные и полифункциональные клетки крови — выполняют разнообразные физиологические и иммунологические функции [Заварзин, 1976; Микряков, Балабанова, 1979; Флоренсов, Пестова, 1990; Галактионов, 2005]. Эти клетки осуществляют защиту организма от чужеродных тел, обеспечивают адаптацию рыб к био-

тическим и абиотическим факторам и иммунитет к паразитам [Микряков, Балабанова, 1979; Микряков, 1991; Secombes, 1996; Van Muiswinkel, Vervoorn-Van Der Wal, 2006]. Основными типами клеток белой крови рыб являются лимфоциты, моноциты, нейтро-, эозино- и базофилы [Калашникова, 1976; Иванова, 1983; Головина, Тромбицкий, 1989; Флоренсов, Пестова, 1990; Точилина, 1994;

Серпунин, 2002; Грушко и др., 2009; Ellis, 1977; Parish et al., 1986; Yadov et al., 1986]. Состав лейкоцитов отражает видовые и экологические особенности рыб, а соотношение отдельных типов клеток — функциональное состояние организма и характер влияния биотических и абиотических стресс-факторов [Головина, Тромбицкий, 1989; Житенева и др., 1989; Точилина, 1994; Балабанова, 1998; Микряков и др., 2001; Ellis, 1977; Parish et al., 1986; Yadov et al., 1986]. В настоящее время состав лейкоцитов у рыб наиболее полно изучен у представителей различных систематических и экологических групп, обитающих в пресноводных, солоноватоводных, морских и океанических экосистемах, а также в искусственных условиях содержания [Иванова, 1983; Яхненко, 1984; Головина, Тромбицкий, 1989; Точилина, 1994; Серпунин, 2002; Грушко и др., 2009; Ellis, 1997].

Исследованиями показано, что лейкоциты рыб тонко реагируют изменением интенсивности лейкопоэза, перестройкой состава и величины содержания отдельных типов клеток на изменение физико-химических характеристик воды, воздействие разных по природе и происхождению биотических и абиотических стресс факторов. Сведения о составе лейкоцитов рыб, которые способны обитать на глубинах свыше 500–1500 м, совершать вертикальные миграции и преодолевать сильное гидродинамическое и гидростатическое сопротивление, в доступной литературе отсутствуют. Между тем, это представляется важным для понимания направления морфофизиологических перестроек клеточного состава лейкоцитов в процессе адаптации рыб к глубоководным условиям обитания.

Антарктический клыкач — один из самых крупных и коммерчески значимых представителей нототениевых антарктических вод. Обитает в антарктических и субантарктических водах на глубине от 100 до 2000 м. Его особи достигают возраста 30 лет и более, длины более 2 м и массы более 120 кг. Основные объекты питания — рыбы и кальмары; в желудках крупных особей встречаются кусочки кожи пингвинов и тюленей [Юхов, 1982; Шуст, Петров, 2009].

Цель данной работы — изучить состав лейкоцитов органов кроветворения глубоководного вида рыб на примере антарктического клыкача *Dissostichus mawsoni* Norman, 1937 (Perciformes: Nototheniidea).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Исследованные особи были выловлены в январе — феврале 2012 г. в море Росса в зоне действия Конвенции по сохранению морских живых ресурсов Антарктики (АНТКОМ), Подрайон 88.1 на глубине от 690 до 1183 м российским ярусоловом «Янтарь-31». Всего было изучено 12 особей. Длина тела варьировала от 81 до 141 см (средняя $115 \pm 5,19$ см), масса тела — от 7,42 до 41,32 кг (средняя $21,41 \pm 2,62$ кг).

Состав лейкоцитов определяли в мазках-отпечатках почек и селезенки, окрашенных по Романовскому-Гимза. В каждом мазке определяли относительное количество основных типов клеток под тринокулярным световым микроскопом «Биомед-6ПР1-ФК», просчитывая по 200 клеток в каждом препарате. Фотографии клеток и их измерения выполнены в пакете программы Digital microscope KEYENCE VHX-1000. Размеры определены на 10 клетках каждого типа.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Состав лейкоцитов антарктического клыкача представлен такими же типами лейкоцитов как и у пресноводных видов, за исключением базофилов [Иванова, 1983; Головина, Тромбицкий, 1989]. Основным органом кроветворения у костистых рыб — почки, а лимфогранулопоэз осуществляется также в селезенке [Остроумова, 1957; Иванова, 1983; Catton, 1951; Ellis, 1977; Zapata, 1979], здесь образуются лимфоциты, моноциты и гранулоциты [Купер, 1980; Иванова, 1983]. В селезенке диффузные скопления лимфомиелоидной ткани окружают артерии и меланомacroфагальные центры, а в почках эта ткань занимает область между почечными трубками. Так как кровь клыкача имеет лимфоидный характер [Гордеев и др., 2014], большую часть иммунокомпетентных клеток в почках и селезенке составляют лимфоциты ($73,05 \pm 2,0\%$ и $68,6 \pm 2,11\%$ соответственно), которые у позвоночных считаются

центральной фигурой иммунной системы [Петров, 1987; Хаитов и др., 2002; Галактионов, 2005]. По характеру выполняемых функций, содержанию мембранных иммуноглобулиновых рецепторов, продолжительности жизни и гистогенезу лимфоциты гетерогенны и подразделяются на две основные субпопуляции: Т- и В-лимфоциты [Микряков, 1991; Ройт и др., 2000; Van Muiswinkel, Vervorm-Van Der Wal, 2006]. Т- лимфоциты осуществляют функции распознавания чужеродных тел, разрушения антигена, формирования специфического иммунитета и адаптации рыб к паразитам и токсическим факторам [Микряков, 1991; Микряков и др., 2001]. Популяция В-лимфоцитов выполняет функцию синтеза антител, образования предшественников антителообразующих клеток и формирования клеток памяти. Размеры лимфоцитов клыкача $5,4 \times 5,0$ мкм, большую часть клетки занимает ядро, цитоплазма представлена узким ободком, иногда видны псевдоподии (рис. 1).

Поскольку лимфомиелоидная ткань продуцирует клетки крови, значительную часть лейкоцитарной формулы мазков-отпечатков почек и селезенки составляют бластные формы: $20,11 \pm 1,58\%$ и $27,8 \pm 2,24\%$ соответственно. Средние размеры этих клеток $11,8 \times 9,1$ мкм, основную часть составляет округлое ядро, окруженное узким слоем цитоплазмы (рис. 2).

У пресноводных видов бластные клетки могут составлять до 10%. Их доля в лейкограмме зависит от видовых и экологических особенностей рыб [Иванова, 1983; Головина, Тромбицкий, 1989].

Как и у большинства окунеобразных [Балабанова, 2002; Barber et al., 1981], у клыкача два типа гранулоцитов — нейтрофилы и эозинофилы. Они участвуют в фагоцитозе микроорганизмов, синтезе медиаторов иммунного ответа и неспецифических факторов иммунитета [Галактионов, 2005; Manning, Nakanishi, 1996].

Нейтрофилы (рис. 3) в почках составляют $2,22 \pm 0,42\%$, в селезенке $1,2 \pm 0,2\%$. Размеры клеток — $11,8 \times 9,1$ мкм. Морфологически нейтрофилы характеризуются эксцентрично расположенным округлым или двулопастным ядром и большим количеством гранул в цитоплазме.

Эозинофилы — клетки размером $12,7 \times 11,8$ мкм, имеют округлое эксцентрично расположенное ядро с многочисленными и более крупными, чем у нейтрофилов, гранулами (рис. 4). В почках клыкача насчитывается в среднем $2,72 \pm 0,52\%$ эозинофилов, в селезенке — $1,4 \pm 0,4\%$.

Моноциты/макрофаги — крупные клетки ($12,7 \times 10,0$ мкм) с эксцентрично расположенным округлым или бобовидным ядром. Большую часть клетки занимает цитоплазма, в которую могут быть включены вакуоли и мелкие гранулы (рис. 5).

В почках клыкача насчитывается $1,9 \pm 0,2\%$ этих клеток, в селезенке — $1,0 \pm 0,2\%$. 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 [Житенева и др., 1989].

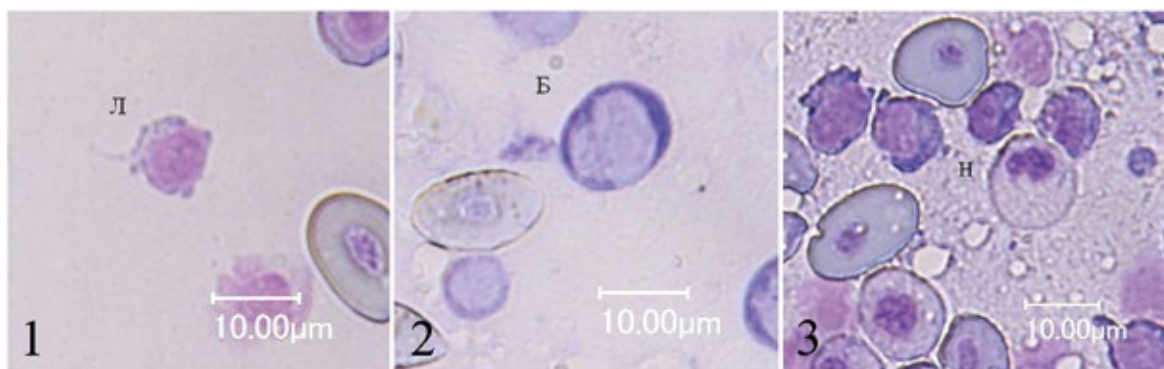


Рис. 1–3. Малый лимфоцит (Л), бластная клетка (Б), нейтрофил (Н).

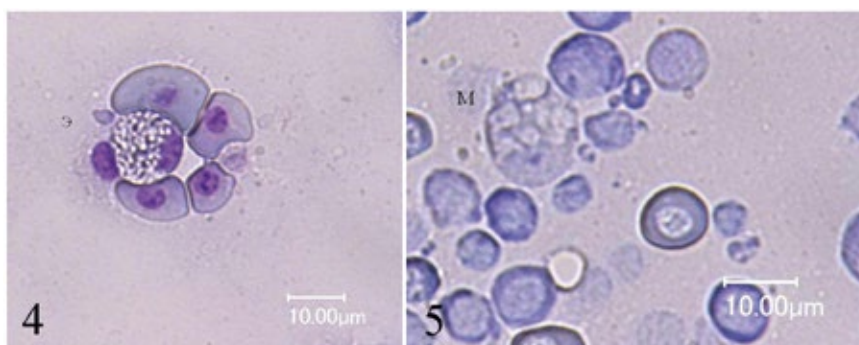


Рис. 4–5. Эозинофил (Э), макрофаг (М).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, результаты исследования лейкоцитов в органах кроветворения антарктического клыкача показали, что в составе лейкоцитов его гемопоэтических органов преобладают лимфоциты, значительную часть лейкоцитов составляют blastные формы клеток и небольшой процент содержания гранулоцитов и моноцитов/макрофагов.

ЛИТЕРАТУРА

- Балабанова Л.В. 1998. Влияние аммония и декальциации среды на ультраструктуру гранулоцитов карпа *Surgipus carpio* L. // Цитология. Т. 40. № 2/3. С. 144–146.
- Балабанова Л.В. 2002. Ультраструктура гранулоцитов некоторых видов окунеобразных рыб // Биол. внутр. вод. № 1. С. 79–84.
- Галактионов В.Г. 2005. Эволюционная иммунология: учебное пособие. М.: ИКЦ Академкнига. 408 с.
- Головина Н.А., Тромбццкий И.Д. 1989. Гематология прудовых рыб. Кишинев: Штиинца. 156 с.
- Гордеев И.И., Микряков Д.В., Балабанова Л.В., Микряков В.Р. 2014. Состав лейкоцитов периферической крови антарктического клыкача *Dissostichus mawsoni* (Nototheniidae) // Вопросы ихтиологии. Т. 54. № 4. С. 479–482.
- Грушко М.П., Ложниченко О.В., Федорова Н.Н. 2009. Гемопоз у осетровых рыб. Астрахань: Триада. 190 с.
- Житенева Л.Д., Полтавцева Т.Г., Рудницкая О.А. 1989. Атлас нормальных и патологически измененных клеток крови рыб. Ростов н/Д.: Ростовск. книж. изд-во. 111 с.
- Заварзин А.А. 1976. Основы частной цитологии и сравнительной гистологии многоклеточных животных. Л.: Наука. 411 с.
- Иванова Н.Т. 1983. Атлас клеток крови рыб. М.: Лег. и пищ. пром-сть. 184 с.
- Калашиникова Э.М. 1976. О классификации морфологических элементов крови рыб // Вопросы ихтиологии. Т. 16. В. 98. 510 с.
- Микряков В.Р. 1991. Закономерности формирования приобретенного иммунитета у рыб. Рыбинск: ИБВВ РАН. 153 с.
- Микряков В.Р., Балабанова Л.В. 1979. Клеточные основы иммунитета у рыб // Физиология и паразитология пресноводных животных. Л.: Наука. С. 57–64.
- Микряков В.Р., Балабанова Л.В., Заботкина Е.А., Лапирова Т.Б., Попов А.В., Силкина Н.И. 2001. Реакция иммунной системы рыб на загрязнение воды токсикантами и закисление среды. М.: Наука. 126 с.
- Остроумова И.Н. 1957. Показатели крови и кроветворение в онтогенезе рыб // Известия ГосНИОРХа. Т. 43. № 3. С. 69.
- Петров Р.В. 1987. Иммунология. М.: Медицина. 416 с.
- Ройт А., Бростовф Дж., Мейл Д. 2000. Иммунология. М.: Мир. 592 с.
- Серпунин Г.Г. 2002. Гематологические показатели адаптации рыб: Автореф. дис. ... докт. биол. наук. Калининград: КГТУ. 49 с.
- Точилина Л.В. 1994. Лейкоцитарная формула морских рыб // Гидробиологический журнал. Т. 30. № 3. С. 50–57.
- Юхов В.Л. 1982. Антарктический клыкач. М.: Наука. 114 с.
- Флоренсов В.А., Пестова И.М. 1990. Очерки эволюционной иммуноморфологии. Иркутск: ИГУ. 244 с.
- Хаитов Р.М., Игнатьева Г.А., Сидорович И.Г. 2002. Иммунология. М.: Медицина. 536 с.
- Шуст К.В., Петров А.Ф. 2009. О поимках пагубного клыкача *Dissostichus eleginoides* (Nototheniidae) в высокоширотной Антарктике // Вопросы ихтиологии. Т. 49. № 1. С. 142–144.
- Яхненко В.М. 1984. Морфологическая характеристика крови рыб озера Байкал. Новосибирск: Наука. 119 с.

- Barber D. L., Westermann J. E., White M. G. 1981. The blood cells of the Antarctic icefish *Chaenocephalus aceratus* Zönnberg: light and electron microscopic observations // J. Fish Biol. V. 19. № 1. P. 11–28.
- Catton W. 1951. Blood cell formation in certain teleost fishes // Blood. V. 6. № 6. P. 39–60.
- Ellis A. E. 1977. The leucocytes of fish: a review // Ibid. V. 11. № 5. P. 453–491.
- Manning M. J., Nakanishi T. 1996. The specific immune system: cellular defenses // The fish immune system: organism, pathogen and environment / Eds. Iwata G., Nakanishi T. London: Acad. Press. P. 160–206.
- Parish N., Wrathmell A., Hart S., Harris J. 1986. The leucocytes of the elasmobranch *Scyliorhinus vanicula* L. A morphological study // J. Fish. Biol. V. 28. № 5. P. 545–561.
- Secombes C. J. 1996. The nonspecific immune system: cellular defense // The fish immune system: organism, pathogen and environment / Eds. Iwama G., Nakanishi T. London: Acad. Press. P. 63–105.
- Van Muiswinkel W. B., Vervoorn-Van Der Wal B. 2006. The immune system of fish // Fish diseases and disorders. V. 1. / Ed. Woo P. T. K. U. K. Wallingford: CABI. P. 678–701.
- Yadov D. P., Banaijee V., Banaerjee M. 1986. Haematology of genus channa: leucocytes // Comp. Physiol. and Ecol. V. 11. № 4. P. 226–232.
- Zapata A. 1979. Ultrastructural study of the teleost fish kidney // Devel. And Comp. Immun. V. 3. P. 55–65.
- REFERENCES**
- Balabanova L. V. 1998. Vliyanie ammoniya i dekal'cinacii sredy na ul'trastrukturu granulocitov karpa *Cyprinus carpio* L. [The effect of ammonium and decalcination of the environment on ultrastructure of carp *Cyprinus carpio* L.] // Citologiya. T. 40. № 2/3. S. 144–146.
- Balabanova L. V. 2002. Ul'trastruktura granulocitov nekotoryh vidov okuneobraznyh ryb [Ultrastructure of granulocytes of some species of Perciformes] // Biol. vnutr. vod. № 1. S. 79–84.
- Galaktionov V. G. 2005. Ehvolucionnaya immunologiya: uchebnoe posobie [Evolutionary Immunology: The Manual]. M.: IKC Akademkniga. 408 s.
- Golovina N. A., Trombickij I. D. 1989. Gematologiya prudovyh ryb [Hematology of Pond Fish]. Kishinev: Shtiinca. 156 s.
- Gordeev I. I., Mikryakov D. V., Balabanova L. V., Mikryakov V. R. 2014. Sostav lejkocitov perifericheskoy krovi antarkticheskogo klykacha *Dissostichus mawsoni* (Nototheniidae) [Composition of Leucocytes in Peripheral Blood of Antarctic Toothfish *Dissostichus mawsoni* (Nototheniidae)] // Voprosy ihtiologii. T. 54. № 4. S. 479–482.
- Grushko M. P., Lozhnichenko O. V., Fedorova N. N. 2009. Gemopoehz u osetrovyyh ryb [Hemopoiesis in Sturgeons]. Astrahan': Triada. 190 s.
- Zhiteneva L. D., Poltavceva T. G., Rudnickaya O. A. 1989. Atlas normal'nyh i patologicheskii izmenennyh kletok krovi ryb [Atlas of normal and pathological changes in blood cells of fish]. Rostov n/D.: Rostovsk. knizh. izd-vo. 111 s.
- Zavarzin A. A. 1976. Osnovy chastnoj citologii i sravnitel'noj gistologii mnogokletochnyyh zhivotnyh [Fundamentals of special cytology and comparative histology of metazoans]. L.: Nauka. 411 s.
- Ivanova N. T. 1983. Atlas kletok krovi ryb [The Atlas of Blood Cells of Fish]. M.: Leg. i pishch. prom-st'. 184 s.
- Kalashnikova Z. M. 1976. O klassifikacii morfologicheskikh ehlementov krovi ryb [About classification of morphological elements of fish blood] // Voprosy ihtiologii. T. 16. V. 98. 510 s.
- Mikryakov V. R. 1991. Zakonomernosti formirovaniya priobretnennogo immuniteta u ryb [Patterns of Formation of Acquired Immunity in Fish]. Rybinsk: IBVV RAN. 153 s.
- Mikryakov V. R., Balabanova L. V. 1979. Kletochnye osnovy immuniteta u ryb [Cellular basis of fish immunity] // Fiziologiya i parazitologiya presnovodnyh zhivotnyh. L.: Nauka. S. 57–64.
- Mikryakov V. R., Balabanova L. V., Zabolotkina E. A. i dr. 2001. Reakciya immunnogo sistema ryb na zagryaznenie vody toksikantami i zakislenie sredy [The Response of Fish Immune System to Water Pollution by Toxicants and Acidification of the Environment]. M.: Nauka. 126 s.
- Ostroumova I. N. 1957. Pokazateli krovi i krovotvorenie v ontogeneze ryb [Blood indices and hematopoiesis in the ontogenesis of fish] // Izvestiya GosNIORHa. T. 43. № 3. S. 69.
- Petrov A. F. 2011. Raspredelenie i biologicheskie harakteristiki dveh vidov klykachej roda *Dissostichus* (sem. Nototheniidae) ostrova Buveh [Distribution and biological characteristics of two species of toothfish of the genus *Dissostichus* (family Nototheniidae) of Buve Island] // Voprosy ihtiologii. T. 51. № 6. C. 848–853.
- Petrov R. V. 1987. Immunologiya [Immunology]. M.: Medicina. 416 s.
- Rojt A., Brostoff Dzh., Mejl D. 2000. Immunologiya [Immunology]. M.: Mir. 592 s.
- Serpunin G. G. 2002. Gematologicheskie pokazateli adaptacij ryb: Avtoref. dis. ... dokt. biol. nauk. [Hematological parameters of fish adaptation, Extended Abstract of Doctor Sci. (Biol) Dissertation]. Kaliningrad: KGTU. 49 s.

- Tochilina L. V. 1994. Lejkocitarnaya formula morskih ryb [Leukocyte formula of marine fish] // Gidrobiologicheskij zhurnal. T. 30. № 3. S. 50–57.
- Yuhov V. L. 1982. Antarkticheskij klykach [Antarctic toothfish]. M.: Nauka. 114 s.
- Florensov V. A., Pestova I. M. 1990. Ocherki ehvolyucionnoj immunomorfologii [Essays of Evolutionary Immunomorphology]. Irkutsk: IGU. 244 s.
- Haitov R. M., Ignat'eva G. A., Sidorovich I. G. 2002. Immunologiya [Immunology]. M.: Medicina. 536 s.
- Shust K. V., Petrov A. F. 2009. O poimkah patagonskogo klykacha *Dissostichus eleginoides* (Nototheniidae) v vysokoshirotnoj Antarktike [On captures of Patagonian toothfish *Dissostichus eleginoides* (Nototheniidae) in the high-latitude Antarctic regions] // Voprosy ihtiologii. T. 49. № 1. S. 142–144.
- Yahnenko V. M. 1984. Morfologicheskaya harakteristika krovi ryb ozera Bajkal. [Morphological characteristic of fish blood in Lake Baikal]. Novosibirsk: Nauka. 119 s.

Поступила в редакцию 21.07.2017 г.
Принята после рецензии 27.07.2017 г.

Composition of leukocytes in the hematopoietic organs of Antarctic toothfish

I. I. Gordeev¹, L. V. Balabanova², T. A. Suvorova²

¹M. V. Lomonosov Moscow State University (FSBEI HE «MSU»), Moscow; Russian Research Institute of Fisheries and Oceanography (FSBSI «VNIRO»), Moscow.

²I. D. Papanin' Institute for Biology of Inland Waters RAS (FSBSI «IBIW RAS»), Borok.

The composition of leukocytes reflects the species and ecological characteristics of fish, and the ratio of cell types — functional state of organism and influence of biotic and abiotic stress factors. Antarctic toothfish *Dissostichus mawsoni* is one of the largest and valuable representatives of the Nototheniidae in the Antarctic. The present work is devoted to the hemopoiesis of this bottom predator. New data on the composition of leukocytes of hemopoietic organs are given. Specimens were caught in January-February, 2012 in the Ross Sea between 690 and 1183 meters depth. The results of the study showed that the leukocyte formula of the Antarctic toothfish's immunocompetent organs is dominated by lymphocytes, a significant proportion of blast forms and a small percentage of granulocytes and monocytes / macrophages. In kidneys, as the main organ of hematopoiesis of bony fishes, the content of lymphocytes, granulocytes and monocytes / macrophages is higher, and blast cell forms in the spleen, which performs the function of the «depot» of blood. The data obtained are very important for understanding the direction of morphophysiological reconstructions of the cellular composition of leukocytes in the process of adaptation of fish to deepwater habitats.

Key words: antarctic toothfish *Dissostichus mawsoni*, leukocytes, kidney, spleen, CCAMLR.