**ЛЕЙКОЦИТАРНЫЙ СОСТАВ КРОВИ
СЕРЕБРЯНОГО КАРАСЯ, ЗАРАЖЕННОГО
LIGULA (DIGRAMMA) INTERRUPTA (CESTODA:
PSEUDOPHYLLIDEA)**

Мазур О. Е.¹,

кандидат биологических наук,

научный сотрудник лаборатории паразитологии и экологии гидробионтов

olmaz33@yandex.ru

Кутырев И. А.^{1,2},

доктор биологических наук,

старший научный сотрудник лаборатории паразитологии

и экологии гидробионтов

Дугаров Ж. Н.¹,

кандидат биологических наук,

старший научный сотрудник лаборатории паразитологии

и экологии гидробионтов

Аннотация

Ленточный червь *Ligula interrupta* рода *Ligula* (Digramma) (Cestoda: Pseudophyllidae) – специфичный паразит пресноводных карповых рыб, плероцеркоиды которого локализуется в полости тела, вызывая тяжелую паразитарную патологию. При паразитозах важную роль в регуляции патологического процесса отводится участникам защитных реакций организма, среди которых выделяют особый пул иммунокомпетентных клеток – лейкоцитов. В литературе находятся единичные данные о гемо- и иммунопоезе серебряного карася при диграммозе. В нашей работе получены новые данные по лейкоцитарному составу крови серебряного карася *Carassius auratus* (Linnaeus, 1758), зараженного *L. interrupta* в условиях нативного ареала (оз. Шилен и оз. Черемуховое, бассейн оз. Байкала). Выборка рыб состояла из неводных уловов, одного размерно-возрастного состава, незараженных и зараженных *L. interrupta* особей (возраст +3...+5, длина тела соответственно 145–237 и 150–180 мм, масса

¹ ФГБУН Институт общей и экспериментальной биологии Сибирского отделения Российской академии наук (670047, Россия, г. Улан-Удэ, ул. Сахьяновой, д. 6)

² Иркутский государственный университет, НИИ биологии (664003, г. Иркутск, ул. Ленина, 3)

– 100–184 и 120–174 г). Гематологические исследования проводили согласно Сборнику [2]. Для количественной оценки отдельных видов лейкоцитов подсчитали лейкоцитарный профиль, выраженный в абсолютных величинах. В крови всех особей карася выявлены три группы клеток: бластные формы, гранулоциты (нейтрофилы, псевдобазофилы) и агранулоциты (лимфоциты, моноциты). Установлено снижение в крови зараженных рыб общего числа лейкоцитов и различных их видов на всех стадиях развития, нарушение пролиферации и дифференцировки лимфоидных и гранулоцитарных элементов, образование вакуолизированных и атипичных клеток, отсутствие циркулирующих базофилов и эозинофилов. Показано, что в этой паразитарной системе отношения партнеров сводятся к запуску *L. interrupta* механизмов, регулирующих защитные иммунологические процессы хозяина по типу ингибирования острой воспалительной реакции и развития слабого хронического воспаления.

Ключевые слова: *Ligula interrupta*, *Carassius auratus*, кровь, лейкоциты.

COMPOSITION OF LEUKOCYTES IN BLOOD OF GOLDFISH INFECTED BY *LIGULA* (DIGRAMMA) *INTERRUPTA* (CESTODA: PSEUDOPHYLLIDEA)

Mazur O. E. ¹

Candidate of Biology Sciences, Researcher
of the Laboratory Ecology and Parasitology Hydrobionts
olmaz33@yandex.ru

Kutyrev I. A. ^{1,2},

Doctor of Biology Sciences, Senior Researcher
of the Laboratory Ecology and Parasitology Hydrobionts

Dugarov Zh. N. ¹,

Candidate of Biology Sciences, Senior Researcher
of the Laboratory Ecology and Parasitology Hydrobionts

Abstract

The tapeworm *Ligula interrupta* of the genus *Ligula* (Digramma) (Cestoda: Pseudophyllidea) is a specific parasite of freshwater cyprinid fish; its plerocercoids are localized in the body cavity causing heavy parasitic pathology. With parasitosis, an important role in the regulation of the pathological process is assigned to the participants of the organism's protective reactions, among which a special pool of immunocompetent cells – leukocytes – is distinguished. In the literature, there are

¹ Institute of General and Experimental Biology, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (6, Sakhyanova st., Ulan-Ude, 670047, Russia)

² Institute of Biology at "Irkutsk State University" (3, Lenin st., Irkutsk, 664003, Russia)

single data on hemo- and immunopoiesis goldfish with digrammosis. In our work, new data were obtained on the leukocyte composition of the blood of goldfish *Carassius auratus* (Linnaeus, 1758), infected with *Ligula interrupta* in conditions of the native range (Shilen Lake and Cheremukhovo Lake, Lake Baikal basin). All fish specimens caught with seine nets, both infested and noninfested with *L. interrupta*, were identical by the size and age composition (age +3...+5, body length 145–237 and 150–180 mm, respectively, weight 100–184 and 120–174 g). Hematological studies were carried out according to the Sbornik [2]. To quantify the individual types of leukocytes, the leukocyte profile, expressed in absolute terms, was calculated. Three groups of cells were revealed in the blood of all goldfish species: blast forms, granulocytes (neutrophils, pseudobasophils) and agranulocytes (lymphocytes, monocytes). The decrease in the blood of infected fish of the total number of leukocytes and their various types at all stages of development, the violation of the proliferation and differentiation of lymphoid and granulocytic elements in the studied organs, the formation of vacuolated and atypical cells, the absence of circulating basophils and eosinophils were established. It has been shown that in this parasitic system, partner relations are reduced to the launch of *L. interrupta* mechanisms that regulate the host's protective immunological processes by the type of inhibition of the acute inflammatory response and the development of mild chronic inflammation.

Keywords: *Ligula interrupta*, *Carassius auratus*, blood, leucocytes.

Введение. Ленточный червь *Ligula interrupta* рода *Ligula* (Digramma) – специфичный паразит серебряного карася *Carassius auratus* (Linnaeus, 1758), который является его вторым промежуточным хозяином. Во время роста и жизнедеятельности цестода вызывает дисфункции и атрофию внутренних органов хозяина. Больная рыба теряет способность нормально держаться в толще воды, всплывает на поверхность и гибнет, становясь легкой добычей рыбоядных птиц.

В регулировании патологического процесса при паразитозах особую роль отводится участникам защитных реакций организма, среди которых выделяют важнейший пул иммунокомпетентных клеток – лейкоцитов, образующихся в иммунных органах и циркулирующих в сосудистом русле. Сведения о патогенном воздействии плероцеркоидов рода *Ligula* на карповых рыб, в основном вида *Ligula intestinalis*, отражены во многих исследованиях. Однако данные о функционировании иммунологических механизмов гомеостаза рыб, зараженных *L. interrupta*, единичны.

Цель работы – изучить лейкоцитарный профиль крови и его изменений у караса серебряного, зараженного *L. interrupta*, в условиях нативного ареала.

Материалы и методы. Объект исследования – серебряный карась, выловленный из озер Шилэн Еравнинского р-на и Черемуховое Кабанского р-на Республики Бурятия (бассейн оз. Байкал). Морфобиологические и паразитологические исследования были проведены по общепринятым в ихтиологии методикам. Выборка рыб состояла из неводных уловов, одного размерно-возрастного состава, незараженных и зараженных *L. interrupta* особей (возраст +3...+5, длина тела соответственно 145–237 и 150–180 мм, масса – 100–184 и 120–174 г). Незараженные особи были представлены половозрелыми самцами и самками в соотношении 1:1; у зараженных рыб пол не был определен в связи с паразитарной кастрацией. Гематологические исследования проводили согласно Сборнику [2]. Кровь отбирали из кровеносного сосуда после каудоэктомии. Общее число лейкоцитов подсчитывали меланжерным методом в 1 мм³ в камере Горяева. Мазки крови окрашивали по Паппенгейму. Популяционный состав лейкоцитов (лейкоцитарный профиль) определяли по окрашенным мазкам крови путем подсчета 200 клеток с последующим перерасчетом в абсолютные числа. Клетки крови идентифицировали до вида по классификации Ивановой (1983), основанной на тинкториальных свойствах клеточных структур. Результаты исследований статистически обрабатывали с помощью пакета программ Statistica 6.0 с использованием критерия Манна–Уитни.

Результаты исследований. Лейкоциты, главные эффекторные клетки иммунной системы рыб, образуясь в иммунных органах и циркулируя в кровеносном русле, обеспечивают развитие врожденного и адаптивного иммунного ответа на антигенное воздействие [3, 4]. В литературе отсутствуют данные о клеточном составе крови рыб при дигаммозе.

В крови всех особей карася выявлены три группы клеток: бластные формы, гранулоциты и агранулоциты. Обнаружено два типа агранулоцитов – моноциты и лимфоциты. Моноцитарный ряд представлен только созревающими моноцитами, абсолютное число которых было значительно ниже (в 33,3 раза) такового у незараженных особей.

В крови всех исследуемых групп рыб наряду с бластными элементами, имеющими четкие цитохимические признаки лимфобластов, выявлялись недифференцируемые бластные клетки. Их число у зараженных особей было ниже таковых незараженных рыб в 8,7 раза ($p < 0,01$).

Лимфоцит в ответ на антигенное воздействие в процессе пролиферации и дифференцировки проходит стадии лимфобласта, большого, среднего и малого функционально зрелого лимфоцита. В крови карасей, зараженных *L. interrupta*, на фоне снижения общего числа лейкоцитов (в 2,3 раза) ($p < 0,0001$) было отмечено, по сравнению с незараженными особями, значимо низкое содержание всех форм лимфоцитов: малых (2,2 раза), средних (3,3 раза), больших (5,8 раза). Среди нейтрофилов крови зараженных рыб, по сравнению с таковыми у незараженных, отмечено снижение числа низкодифференцированных (в 2 раза), палочкоядерных ($p < 0,01$) и сегментоядерных форм ($p < 0,001$). В крови всех исследуемых карасей не выявлена циркуляция эозино- и базофилов, а в крови зараженных рыб — псевдобазофилов.

В крови зараженных рыб обнаружено повышение числа вакуолизированных клеточных элементов (в 2,4 раза) ($p < 0,01$), по сравнению с таковым незараженных особей, и появление атипичных лимфоцитов с расщепленными ядрами.

Заключение. В наших исследованиях инвазия *L. interrupta* приводит к значительной лейкопении и дислейкопозу. Выявленные патологические эффекты свидетельствуют о системном нарушении пролиферативной активности и дифференцировки лимфоидной, моноцитарной и нейтрофильной клеточных линий и указывают, очевидно, на подавление этих процессов в иммунокомпетентных органах. Ранее было установлено Кутыревым и др. [1], что в пронефросе уменьшается число бластных форм лейкоцитов, палочкоядерных нейтрофилов, псевдобазофилов, зрелых лимфоцитов на фоне увеличения незрелых их форм. Отсутствие циркулирующих в крови и иммунокомпетентных органах [1] базофилов и эозинофилов также указывает на ингибирование их клеточной продукции у зараженных особей. Дисбаланс клеточных процессов, инициируемый ремнецами, приводит к морфофункциональным изменениям в виде появления цитоплазматической вакуолизации и расщепления ядер, что обусловлено молекулярными нарушениями контроля созревания клеток.

Таким образом, отношения партнеров в этой паразитарной системе сводятся к запуску *L. interrupta* механизмов, регулирующих защитные иммунологические процессы хозяина по типу ингибирования острой воспалительной реакции и развития слабого хронического воспаления.

Работа выполнена в рамках программы № АААА-А17-117011810039-4 и при финансовой поддержке РФФИ (грант 19-04-00666) и Минобрнауки (№ темы госзадания FZZE-2020-0026).

Литература

1. Кутырев И.А., Пронин Н.М., Дугаров Ж.Н. Лейкоцитарный состав головного отдела почки карася серебряного *Carassius auratus gibelio* (Cypriniformes: Cyprinidae) и влияние на него инвазии цестоды *Digamma interrupta* (Cestoda: Pseudophyllidae) // Известия РАН. Серия биологическая. 2011. № 6. С. 759–763.
2. Сборник инструкций по борьбе с болезнями рыб / под общ. ред. Н.А. Яременко. М.: Агро-Вестник, 1999. Ч. 2. 236 с.
3. Nathan C. Neutrophils and immunity: challenges and opportunities // Nature Reviews Immunology. 2006. № 6. P. 173–182.
4. Scapigliati G., Fausto A.M., Picchietti S. Fish lymphocytes: an evolutionary equivalent of mammalian innate-like lymphocytes? // Front. Immunol. 2018. Vol. 9. № 971. P. 1–8. DOI: 10.3389/fimmu.2018.00971

References

1. Kuttyrev I.A., Pronin N.M., Dugarov Zh.N. Composition of leucocytes of the head kidney of the goldfish *Carassius auratus gibelio* (Cypriniformes: Cyprinidae), as affected by invasion of cestode *Digamma interrupta* (Cestoda: Pseudophyllidae). *Proceedings of the Russian Academy of Sciences. Biological series*. 2011; (6):759–763. (In Russ.)
2. Sbornik instruksii po bor'be s boleznyami ryb [Collection of Instructions for Control of Fish Diseases]. Yaremenko N.A. (Ed.). Moscow: Agrovestnik, 1999. Part 2. 236 p. (In Russ.)
3. Nathan C. Neutrophils and immunity: challenges and opportunities. *Nature Reviews Immunology*. 2006; (6):173–182.
4. Scapigliati G., Fausto A.M. and Picchietti S. Fish Lymphocytes: An Evolutionary Equivalent of Mammalian Innate-Like Lymphocytes? *Front. Immunol*. 2018; 9:971. DOI: 10.3389/fimmu.2018.00971