

МОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ КРОВІ РИБ РОДИНИ GOBIIDAE ЗА КРИПТОКОТИЛЬОЗУ

С. Л. ГОНЧАРОВ, кандидат ветеринарних наук, старший викладач
кафедри зоогігієни та ветеринарії, [https:// orcid.org/ 0000-0001-7464-6689](https://orcid.org/0000-0001-7464-6689)
Миколаївський національний аграрний університет
E-mail: sergeyvet85@ukr.net

Анотація. У статті наведено дані дослідження морфологічних змін у крові бичкових риб за трематодозного паразитарного захворювання – криптокотильозу. Дослідження проведено у період 2016–2017 рр. Виявлено, що вміст гемоглобін, серед риб, що були інвазовані вірогідно зменшувався на 12,8 г / л, а саме на 15,72 % ($p < 0,05$), тоді як кількість еритроцитів у крові дослідної групи бичків зменшувалась на 1,26 Т / л, тобто на 38,8 % ($p < 0,05$), відповідно. Водночас загальна кількість лейкоцитів у крові дослідної групи бичків збільшувалась на 9,2 Г / л, що склало на 18,47 % ($p < 0,05$) більше порівняно з контролем. У бичкових риб дослідної групи під час морфологічного дослідження крові було виявлено значне збільшення кількості базофілів та псевдобазофілів (на 33,08 %, $p < 0,05$) у порівнянні з контрольною групою, еозинофілів та псевдоеозинофілів (на 88,11 %, $p < 0,05$) порівняно з рибами, що були вільні від цієї інвазії. За проведення випробувань було відмічено збільшення кількості паличкоядерних нейтрофілів у крові бичкових риб дослідної групи на 23,71 % ($p < 0,05$) порівняно з контрольною групою, а сегментоядерних нейтрофілів – на 68,42 % ($p < 0,05$) відповідно. Під час проведення морфологічних досліджень крові бичків було встановлено, що рівень лімфоцитів у крові інвазованих риб зменшувався на 10,63 % ($p < 0,05$) порівняно з контрольною групою, а кількість моноцитів у дослідній групі, навпаки, збільшувалась на 34,0 % ($p < 0,05$) у порівнянні з групою риб, що була вільною від зараження даним збудником..

Ключові слова: морфологічні дослідження крові, криптокотильоз, гемоглобін, еритроцити, лейкоцити, екстенсивність інвазії, Дніпро-Бузький лиман, Миколаївська та Одеська області.

Актуальність.

Риби є типовими представниками водних екосистем та займають верхівку у трофічній системі водойм. Вони мають відносно довготривалий період життя, тому можуть інформативно відображати

наслідки хронічних захворювань різного генезу та інші впливи на їх організм. Різноманітні біохімічні та патофізіологічні порушення можуть бути виявлені у різних водних організмів, як наслідок впливу патогенного агента на гомеостаз гідробіонтів [6].

Аналіз останніх досліджень та публікацій.

Переферійна кров, як і система крові в цілому, володіє вираженими трофічною та захисною функціями. Завдяки нейрогуморальній регуляції та іншим факторам клітинний склад переферійної крові підтримується на певному рівні та у відповідних співвідношеннях. Зміни у системі крові є відповідною реакцією організму риб на зміни внутрішніх та зовнішніх чинників. Таким чином, морфологічний аналіз крові є одним із об'єктивних методів контролю за фізіологічним станом організму риб [3].

Мета дослідження – визначення морфологічних показників крові як елемента оцінки фізіологічного стану організму риб за інвазійних хвороб, зокрема за криптокотильозу. До того ж відомості змін показників крові риб за паразитозів є доволі обмеженими та іноді суперечливими.

Матеріали та методи дослідження.

Відбирали рибу під час проведення планових контрольних обловів. Відловлювали її вудочками, а також купували у рибалок на місці вилову. Відбір зразків риби проводили вздовж берегової лінії Чорного моря, а також у ділянці Дніпро-Бузького лиману, в адміністративних межах Миколаївської області (мис Аджігол, місто Очаків, село Рибаківка, Березанського району) та у частині акваторії Чорного моря, що адміністративно розташована в Одеській області (поблизу міст Южне, Одеса, Чорноморськ).

Упродовж 2016–2017 років було піддано клініко-діагностичному дослідженню 572 бички трьох видів:

Mesogobius batrachocephalus Pallas, 1814, *Neogobius melanostomum* Pallas, 1814, *Neogobius fluviatialis* Pallas, 1814. Визначення морфологічних показників крові проводили у 20 особин, інвазованих збудником криптокотильозу та 20 вільних від цієї інвазії бичків кожного виду. Риба, що піддавалась дослідженню була статевозрілою, переважно вікових категорій 1+ – 4+. Вік бичків визначали за отолітами. Кров відбиралась на місці вилову риби шляхом каудоектомії.

З метою отримання відповідних репрезентативних даних для морфологічного дослідження крові риб родини Gobiidae обиралися методики проведення цих випробувань[5].

Результати дослідження та їх обговорення.

Як відомо, кров є однією з найбільш лабільних і таких, що швидко реагують на різні чинники навколишнього середовища, тканин організму. Тому саме гематологічні випробування найбільш об'єктивно відбивають стан організму, його фізіологічні показники та реакцію впливу ксеногенного об'єкта на організм риб [1].

За проведення досліджень крові бичкових риб було встановлено, що вміст гемоглобіну серед риб, що були інвазовані метацеркаріями, трематод родини *Heterophyidae* вірогідно зменшувався на 12,8 г / л, а саме на 15,72 % ($p < 0,05$) порівняно з контрольною групою (табл.).

Оскільки гемоглобін виконує ряд важливих функцій, основною серед яких є участь у тканинному газообміні, можна дійти висновку про істотний токсичний вплив збудника криптокотильозу на організм проміжного хазяїна – бичків, – а саме на окис-

**Морфологічні показники крові бичкових риб за криптокотильозу,
n = 120, M ± m; p < 0,05**

Показник	Група риб	
	контрольна	дослідна
Гемоглобін, г/л	81,4 ± 1,41	68,6 ± 1,23
Еритроцити, Т/л	3,24 ± 0,13	1,98 ± 0,63
Лейкоцити, Г/л	36,2 ± 1,16	44,4 ± 1,58
Лейкограма, %		
Псевдобазофіли, базофіли	0,87 ± 0,84	1,3 ± 0,59
Псевдоеозинофіли, еозинофіли	0,44 ± 0,41	3,7 ± 1,78
Нейтрофіли:		
юні	-	-
паличкоядерні	2,8 ± 0,23	3,67 ± 0,91
сегментоядерні	1,8 ± 0,48	5,7 ± 0,26
Лімфоцити	91,12 ± 2,8	81,43 ± 1,92
Моноцити	2,97 ± 0,37	4,2 ± 0,77

но-відновлювальні процеси в організмі цих риб.

Кількість еритроцитів у крові дослідної групи бичків зменшувалася на 1,26 Т / л, тобто на 38,8 % (p < 0,05), в порівнянні з групою риб, що не була інвазована метацеркаріями трематоди родини Heterophyidae. Еритроцити перебувають в тісному функціональному зв'язку з гемоглобіном, тому зниження їх кількості відображає порушення дихання на рівні тканинної оксигенації. Окрім участі у тканинному диханні еритроцити виконують ряд важливих функцій, зокрема, беруть участь у формуванні гемоглобінової буферної системи крові; володіють детоксикуючими властивостями, здійснення яких, можливе за абсорбції токсинів на їх поверхні; еритроцити виконують також транспортну функцію, переносячи на своїй поверхні білки різних фракцій та

білкові субстанції, що виконують захисні функції. Такі порушення, імовірно, виникають внаслідок впливу продуктів життєдіяльності паразита на організм риб [3, 4].

Основною серед функцій лейкоцитів є захисна, яка реалізуються завдяки надзвичайному фізіологічному явищу – фагоцитозу. Захисна функція лейкоцитів проявляється також іншими способами: запуском ряду факторів, що негативно впливають на новоутворення, у тому числі і на паразитів; участю у формуванні як клітинного, так і гуморального імунітету [1, 7]. Дослідженнями встановлено, що загальна кількість лейкоцитів у крові дослідної групи бичків збільшилась на 9,2 Г / л, що склало на 18,47 % (p < 0,05) більше порівняно з контролем. На нашу думку, збільшення загальної кількості лейкоцитів свідчить про присутність запального

процесу у бичкових риб за інвазування їх збудником криптокотильозу.

Загальновідомо, базофіли впливають на агрегатний стан крові за рахунок виділення таких речовин, як гістамін, гепарин та серотонін. Вони ж регулюють місцевий кровотік та проникність судин. Ці клітини крові беруть участь у запальних процесах місцевого характеру, в місцях проникнення чужорідного агента. Активно задіяні в алергічних реакціях негайного та сповільненого типу. Серед риб відзначають споріднену популяцію клітин – псевдобазофілів [1, 3, 5]. У риб родини *Gobiidae* дослідної групи під час морфологічного дослідження крові було виявлено значне збільшення кількості псевдобазофілів (на 33,08 %, $p < 0,05$) у порівнянні з контрольною групою. Це свідчить про те, що збудник криптокотильозу у процесі інвазування спричинює значний алергічний вплив на організм хазяїна – бичків. Також має місце і пошкодження поверхневих тканин тіла риб: шкірні покриви, зябра, плавці, що призводить на перших етапах зараження до локальних запальних процесів. У разі травмування тканин риби реалізується й інокуляторний вплив збудника паразитарної хвороби на організм риб, тобто, пошкодження відкриває «ворота інфекції» для вторинної мікрофлори, що підсилює запальний процес.

Еозинофіли, як клітини крові, також приймають активну участь у алергічних процесах. У своєму складі вони містять фермент гістаміназу, яка руйнує гістамін та знижує місцеву запальну реакцію. Ці представники білої крові є основними захисними клітинами проти личинок паразитів, оскільки комплекс «еозинофіл – комплімент та Ig E – тучна клітина» представляє собою спе-

ціалізовану імунну ефекторну або чутливу систему, яка необхідна для захисту організму від великих паразитів, які не піддаються фагоцитозу [2, 4]. У крові інвазованих бичків відмічали збільшення окремої популяції клітин – псевдоеозинофілів на 88,11 % ($p < 0,05$) порівняно з рибками, що були вільні від цієї інвазії. Це явище пов'язано з тим, що за паразитарної інвазії на фоні алергізації організму риб продуктами життєдіяльності метацеркаріїв трематоди родини *Heterophyidae*, руйнується велика кількість псевдобазофілів і тучних клітин. Як наслідок цього процесу у кров вивільняється велика кількість гістаміну, для нейтралізації якого потрібні псевдоеозинофіли, які й несуть у собі гістаміназу.

Нейтрофіли – є мультифункціональними клітинами білої крові, що виконують ряд важливих функцій: є основними фагоцитами вірусів та бактерій; ними утворюються та транспортуються протеїни системи компліменту, цитокіни та інші; виконують провідну роль у гемостазі та лізисі фібрину [1, 3]. Вони першими з'являються у вогнищі запалення та пошкодження тканин. Їх поява у вогнищі запалення зумовлена їхньою здатністю до активного руху та переміщення. Випускаючи псевдоподії, нейтрофіли, проходять крізь стінку капілярів та активно переміщуються в тканинах у місцях проникнення мікроорганізмів та чужорідних тіл [5]. Нейтрофіли не здатні до антитілоутворення, але адсорбуючи їх на своїй поверхні, вони транспортують останні до вогнища запалення [4]. Під час проведення досліджень було відмічено збільшення кількості паличкоядерних нейтрофілів у крові бичкових риб дослідної групи на 23,71 % ($p < 0,05$) порівняно

з контрольною групою, а сегментоядерних нейтрофілів – на 68,42 % ($p < 0,05$) відповідно. Юних нейтрофілів не було встановлено а ні в дослідній, а ні в контрольній групах. На нашу думку, істотне підвищення рівня паличкоядерних та сегментоядерних нейтрофілів у крові дослідної групи пов'язане з виникненням значних запальних процесів у тканинах зовнішніх покривів: шкірі, зябрах та плавцях, під час інвазування бичкових риб збудником криптокотильозу.

Найбільшою групою лейкоцитарного ряду – є лімфоцити крові. Тому кров має «лімфоцитарний» характер. Вони представляють понад 90 % усіх клітин білої крові [1]. Лімфоцити є постійними представниками лімфи. Здатні до міграції з кровоносного русла до лімфатичної системи, і навпаки. Беруть активну участь в антитілоутворенні, забезпечують ряд специфічних імунологічних реакцій в організмі риб, відіграють значну роль у «реакціях відторгнення» [2]. Лімфоцити риб не здатні до фагоцитозу, тому цю функцію з виконують нейтрофільні гранулоцити різного ступеня зрілості. Ця найбільша група клітин крові – представників лейкоцитів є попередниками макрофагальних клітин та клітин фібробластів, які також приймають активну участь у запаленні та процесах регенерації пошкоджених тканин. Більша частина популяцій лімфоцитів відносяться до таких, що довготривалий час перебувають у кровоносному руслі риб, а строк життя деяких популяцій – дорівнює строку життя індивіда [4]. За проведення морфологічних досліджень крові бичкових риб було встановлено, що рівень лімфоцитів у крові інвазованих риб зменшувався на 10,63 % ($p < 0,05$) порівняно з

контрольною групою. Ми вважаємо, що зниження рівня лейкоцитів у крові інвазованих бичків пов'язане із суттєвим токсичним впливом збуднику криптокотильозу на організм проміжного хазяїна. Відомо, що місцем диференціації та наступної спеціалізації лімфоцитів є органи імунної системи, такі як селезінка, тимус, спеціалізовані клітини нирок, тощо [6]. Тому слід припустити, що продукти життєдіяльності паразита значною мірою пригнічують функціонування органів антитілоутворення та інші імунокомпетентні органи, безпосередньо впливаючи на швидкість та стан дозрівання лімфоцитів. Оскільки лімфоцити активно сприяють формуванню стану несприйнятливості та стійкості до агресивних компонентів «мікрооточення», то інвазованість бичкових риб збудником криптокотильозу значно знижує природну опірність та резистентність останніх до патогенних вірусів, мікроорганізмів та грибів.

У крові заражених риб сімейства *Gobiidae* відмічали збільшення кількості моноцитів крові. Моноцити приймають активну участь у фагоцитозі, фагоцитуючи не лише бактерії, а і продукти аутолізу та розпаду тканин організму, що виникають під впливом несприятливих факторів навколишнього середовища [3]. Вони активно виділяють у міжклітинне середовище лізосим, який накопичується в них у міру дозрівання. Лізосоми моноцитів, що містять в собі первинні та вторинні ферменти мають вирішальну роль у загибелі та наступному лізисі інфекційних агентів, що потрапили у середину моноцитів під час фагоцитозу [7]. Моноцити крові здійснюють напрацювання антитіл, приймаючи участь у регуляції імуногенезі та гра-

нулопоезі. Також, моноцити виробляючи окремі спеціальні ферментні групи речовин, які інактивують токсини, реалізуючи дезінтоксикаційну функцію цих клітин [4].

У риб моноцити дають початок макрофагам. Частина моноцитів, що потрапила із органів моноцитопоезу у кров, зберігає здатність до проліферації. В результаті останнього проходить диференціювання моноцитів у сторону макрофагів.

Тканинні макрофаги, які є похідними клітинами від моноцитів приймають участь в утворенні популяції клітин, що виконують захисні функції, особливо у локальних вогнищах запалення. Цими популяціями клітин-захисників є клітини Купфера гепатопанкреаса, тканинні гістіоцити, макрофаги тимусу, селезінки, мікрогліальних клітин нервової системи, тощо [1].

Згідно отриманих нами даних, у крові заражених збудником криптокотильозу бичків спостерігали збільшення кількості моноцитів на 34,0 % ($p < 0,05$), у порівнянні з групою риб, що була неінвазована даним збудником. Ми вважаємо, що збільшення кількості моноцитів у крові інвазованих риб пов'язано, в першу чергу, із тим, що під час зараження церкаріями трематод відбувається травмування поверхневих тканин риб, яке в подальшому призводить до утворення великої кількості локальних вогнищ запалення, особливо на перших етапах інвазування бичків. До того ж, сапрофітна мікрофлора, що проникає у пошкодженні тканини під час механічного впливу паразита на організм хазяїна, ускладнює протікання запального процесу та поглиблює його за рахунок патогенного впливу. З метою недопущення генералізації запалення моноцити крові приймають активну

участь у процесах місцевого фагоцитозу, знешкоджують та нейтралізують продукти життєдіяльності не лише паразитів, а і результати їх вторинного впливу – продукти життєдіяльності мікроорганізмів, цим самим підтримуючи природню резистентність та опірність організму риб.

Висновки та перспективи.

Отже, за результатами морфологічних досліджень крові інвазованих метацеркаріями бичків виявляли вірогідні зміни ряду показників як еритроцитів та лейкоцитів, так і значні зрушення у показниках лейкоформули. Так, найбільш характерним було зменшення кількості загального числа лейкоцитів, базофілів та псевдобазофілів, еозинофілів та псевдоеозинофілів, нейтрофільних гранулоцитів: паличко- та сегментоядерних, а також моноцитів. Водночас відзначали зменшення вмісту гемоглобіну та кількості еритроцитів і лімфоцитів крові риб. Такі зміни у крові інвазованих риб свідчать про значний алергізуючий, токсичний, інокуляторний та патогенний впливи збудника криптокотильозу на організм другого проміжного хазяїна – бичкових риб.

References

1. Zharikova, N. A., Zharikova, O. L. (1981). Makrofagi krovetvornykh organov ryb. Funktsional'naya morfologiya organov i sistem v norme i pri patologii. [Macrophages of the blood-forming organs of fish. The functional morphology of organs and systems in health and disease]. Minsk, 98.
2. Zhiteneva, L. D. (1999). Ekologicheskiye zakonomernosti ikhtiogematologii [Ecological laws of ichthyogematology]. Rostov-na-Donu: AzNIIRKH, 56.

3. Ivanova, N. T. (1983). Atlas kletok krovi ryb. Sravnitel'naya morfologiya i klassifikatsiya formennykh elementov krovi ryb [Atlas of blood cells of fish. Comparative morphology and classification of blood formed elements of fish]. Moscow: Legkaya i pishchevaya prom-st', 110.
4. Ivanova, N. T. (1995). Sistema krovi. Materialy k sravnitel'noy morfologii sistemy krovi cheloveka i zhivotnykh. [Blood system. Materials to the comparative morphology of the blood system of humans and animals]. Rostov na Donu, 154.
5. Kudryavtsev, A. A., Kudryavtseva, L. A., Privol'nev, T. I. (1969). Gematologiya zhivotnykh i ryb [Hematology of animals and fish]. Moscow: Kolos, 320.
6. Moiseyenko, T. I. (2009). Vodnaya ekotoksikologiya. [Aquatic ecotoxicology]. Moscow: Nauka, 400.
7. Pravdin, I. F. (1976). Rukovodstvo po izucheniyu ryb (preimushchestvenno presnovodnykh) [Guide to the study of fish (mostly freshwater)]. Moscow: Pishchevaya promyshlennost', 376.
8. Goncharov, S., Soroka, N., Pryma, O., Dubovy, A. (2017). Distribution of trematodes *Cryptocotyle Lühе, 1899* (Trematoda: Heterophyidae) in fish of the family Gobiidae in estuary waters and the Black Sea in Southern Ukraine. *Vestnik zoologii*. 51 (5).393 – 400.

S. Honcharov, (2018). Morphological changes in the blood of the fishes of gobiidae family during cryptocytosis. *Ukrainian Journal of Veterinary Sciences*, 9 (1): 12–19, <https://doi.org/10.31548/ujvs2019.01.012>.

Summary. This article describes morphological changes in blood of Gobiidae family fish infected with *Cryptocotyle* trematodes. Study was conducted in 2016-2017. It was found, that haemoglobin concentration in the blood of infected fish compared to control group was lower in by 12.8 g / L or 15.72 % ($p < 0.05$), and erythrocyte count was lower by $1.26 \cdot 10^{12}/L$ or 38.8% ($p < 0.05$). Since hemoglobin performs a number of important functions, the main among which is to learn tissue gas exchange, it can be concluded that the significant toxic effects of the cryptocytosis agent on the organism of the intermediate host – bullfish – namely, the oxidative-reducing processes in the organism of these fish. Total leukocyte count was higher in fish infected with *Cryptocotyle* trematodes by $9.2 \cdot 10^9/L$ or 18.47 % ($p < 0.05$), with increase in basophils and pseudobasophils by 33.08% ($p < 0.05$), eosinophils and pseudo-eosinophils by 88.11 % ($p < 0.05$), and monocyte by 34 % ($p < 0.05$). In our opinion, an increase in the total number of leukocytes indicates the presence of inflammatory process in the bullfish for the invasion of their causative agent of cryptocytosis. This indicates that the pathogens of cryptocytosis in the process of invasion causes a significant allergic effect on the host organism – bullfish. Also, there is and damage to the surface tissues of the body of fish: skin, gills, fins, which leads to the first stages of infection with local inflammatory processes. In the case of injury to tissue of fish, the inoculatory effect of the parasitic pathogen agent on the organism of fish is realized, that is, the damage opens the "gate of infection" for the secondary microflora, which enhances the inflammatory process. The phenomenon is due to the fact that for a parasitic invasion against the background of allergy to fish organisms, the products of the life of metacarcas, the trematodes of the Heterophyidae family, destroy a large number of pseudobasophilia and mast cells. As a result of this process, a large amount of histamine is released into the blood, and the neutralization of which requires pseudo-eosinophils, which also have a histamine. Another change, observed in full blood count was higher percentage of banded and segmented neutrophils in infected fish by 23.71 % ($p < 0.05$) and 68.42 % ($p < 0.05$) respectively. In our opinion, a substantial increase in the level of rod-and-nucleus and segmental neutrophils in the blood of the experimental group is associated

with the appearance of significant inflammatory processes in the tissues of the outer surfaces: skin, gills and swimmers, while invading the bullfish by the cryptocytosis agent.. At the same time, proportion of lymphocyte was decreased in infected fish by 10.63 % ($p < 0.05$) Therefore, it must be assumed that the products of vital activity of the parasite to a large extent inhibit the functioning of antibodies and other immunocompetent organs, directly affecting the rate and state of maturation of lymphocytes. Since lymphocytes actively contribute to the formation of the state of immunity and resistance to aggressive components of the microenvironment, the invasiveness of bullfish by the cryptocytosis agent greatly reduces the natural resistance and resistance of the latter to pathogenic viruses, microorganisms and fungi. We believe that an increase in the number of monocytes in the blood of invasive fish is primarily due to the trauma of surface tissue tissues of the fish during the infection with cercaria trematodes, which in the future leads to the formation of a large number of local inflammatory foci, especially in the first stages of invasion of bulls. In addition, saprophytic microflora, which penetrates into tissue damage during mechanical influence of the parasite on the organism of the host, complicates the course of the inflammatory process and deepens it due to pathogenic effects. In order to prevent the generalization of inflammation of monocytes of blood take an active part in the processes of local phagocytosis, neutralize and neutralize the products of life not only of parasites, but also the results of their secondary effects – products of vital activity of microorganisms, thereby maintaining the natural resistance and resistance of the organism of fish.

Keywords: *hematological research, blood morphology, cryptocotylosis, hemoglobin, erythrocytes, leukocytes, Dnipro-Bug estuary, Mykolayiv and Odessa region*
