

НОВОСИБИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

ГЕМАТОЛОГИЯ ПРЕСНОВОДНОЙ РЫБЫ
Учебное пособие

Новосибирск 2002

УДК
ББК
П

Рецензент профессор Р.Б.Козин

Пищенко Е.В. Гематология пресноводной рыбы: Учебное пособие/ Новосиб. гос. аграр. ун-т.- Новосибирск, 2002.-с.

В учебном пособии подробно описаны основные форменные элементы крови и патология крови рыб при различных заболеваниях.

Приведены методики определения форменных элементов крови.

Учебное пособие предназначено для студентов зооинженерного факультета, изучающих курсы «Рыбоводство» и Физиология животных»

Утверждено и рекомендовано к изданию методической комиссией зооинженерного факультета Новосибирского государственного аграрного университета

© Пищенко Е.В., 2002

©Новосибирский государственный аграрный университет, 2002

I. КРОВЬ, ЕЁ СОСТАВ И ОСНОВНЫЕ ФУНКЦИИ

В систему крови входят: кровь, циркулирующая по сосудам; органы в которых происходит образование клеток крови и их разрушение; регулирующий нейро-гуморальный аппарат.

Кровь состоит из форменных элементов и жидкой части — плазмы. Форменные элементы крови разделяются на 3 группы: эритроциты (красные кровяные тельца), лейкоциты (белые кровяные тельца) и тромбоциты (кровяные бляшки).

Количество форменных элементов более или менее постоянно у одного и того же вида животных, но может значительно изменяться при заболевании организма. Поэтому определение количества форменных элементов является важным диагностическим признаком при заболевании человека или животных.

Количество тех или иных форменных элементов принято выражать содержанием их в 1 л крови.

Нормой для человека является содержание $4,5-6 \times 10^{12}$ л эритроцитов и $6-8 \times 10^6$ л лейкоцитов. У рыб количество форменных элементов различно для разных видов. Так, например, у ручьевой и радужной форели эритроцитов в среднем $1,1 \times 10^{12}$ л, у карпа - 1,5, у щуки — 1,9 млн.; количество лейкоцитов у них соответственно равняется $25-35 \times 10^6$ л, 35-85 и 37×10^6 л.

Морфология системы крови

Кроветворение (гемопоз) как процесс гистогенеза является ответной реакцией ряда тканевых систем организма рыбы на изменение как внешних, так и внутренних факторов. Систематизация клеток крови и понимание гемопоза возможны лишь на основе глубокого и всестороннего изучения морфологии системы крови. Исследование органов, участвующих в гемопозе рыб, позволяет установить качественный состав и структурные особенности клеток крови на разных этапах развития. Кроветворными органами рыб являются жаберный аппарат, кишечник, селезенка, почки и др. О характере и степени кроветворной активности жаберного аппарата и других органов свидетельствуют данные, представленные в табл. 1.

Рядом авторов [7] установлено, что **жаберный аппарат** у современных осетровых и костистых рыб, являясь пограничным органом, наряду с дыхательной и другими функциями участвует и в кроветворении.

Рассматривая жаберный аппарат как орган, участвующий в кроветворении, следует подчеркнуть, что из эпителия спинной части жаберных мешков развивается еще один орган эндокринной системы рыб - **вилочковая железа** (зобная) - *Glandula thymus*. Она состоит из соединительнотканной стромы и лимфоцитов, заключенных в эпителиальную капсулу. Сверху железа прикрыта плот-

ной соединительной тканью. У рыб тимус имеет различную форму и расположение. Во время роста и развития железа сильно увеличивается, в неё врастают соединительная ткань, кровеносные сосуды, и она разделяется на две лопасти. К концу метаморфоза в ней можно различать корковый и мозговой слои. Лимфоциты сосредоточены в основном в мозговом слое. Позднее железа делится на части и обрастает жировой тканью. В настоящее время установлено, что кроме общеизвестных функций в вилочковой железе животных и человека образуются Т-лимфоциты, составляющие основную массу иммунных клеток.

Таблица 1

Содержание форменных элементов в сосудистой крови и органах, исследованных на гемопоэз (в %)

Клетки	Жаберный аппарат	Кишечник	Сердце	Почки	Селезенка	Сосудистая кровь	Лимфоидный орган
Эритробласты	7,6		2,5	3,3	2,5	1,0	3,3
П-эозинофилы	2,0	-	-	-	5,0	2,0	—
Гемоцитобласты	1,0	-	-	2,9	3,0	1,5	2,5
Миелобласты	1,0	-	-	2,0	2,0	1,0	-
Промиелобласты	2,5	-	1,0	2,2	2,5	3,5	1,0
Миелоциты	3,6	-	2,5	3,4	5,2	2,7	7,0
Метамиелоциты	3,0	2,0	2,1	4,8	5,2	4,0	3,5
Палочкоядерные гранулоциты	6,5	2,0	5,0	9,6	9,1	10,6	20,0
Сегментоядерные гранулоциты	4,0	1,0	12,2	11,6	9,9	12,2	3,5
Эозинофилы	3,5	1,0	8,0	6,6	15,2	1,8	18,2
Лимфоциты	61,3	93,5	65,0	53,6	38,4	54,7	39,0
Моноциты	4,0	0,5	1,7	-	2,0	5,0	2,0

Другим органом кроветворения являются **лимфатические фолликулы**. Они представляют собой очаговые образования кроветворной ткани, способной к постоянному продуцированию форменных элементов крови. В слизистой кишечника исследуемых видов рыб подэпителиальные лимфатические участки являются своего рода резервуарами, за счет которых происходит постоянное пополнение форменных элементов белой крови, преимущественно агранулоцитов, в том числе лимфоцитов, которые в основном расходуются при выполнении защитной и ферментативной функций. У рыб всякий пограничный орган, независимо от специальной функции, если судить по составу форменных элементов крови, несёт и функцию защиты. Указания о том, что слизистая желудка у костно-хрящевых, двудышащих и поперечноротых приобретает характер лимфоидной ткани, имеются у Е.К. Суворова [17], И.И. Шмальгаузена

[23] и др. Данные Ивановой Н.Т. [8] указывают на наличие лимфоидных образований в слизистой пищеварительных органов не только осетровых, но и костистых рыб.

Следующий кроветворный орган - **селезенка**. Кроветворная ткань в ней представлена парными телами овальной формы. Основу этих органов составляют ретикулярный синцитий и множество форменных элементов крови, в том числе молодых.

Многие авторы [7,23] считают, что селезенка у рыб служит органом эритропоэза. Данные Н.Т.Ивановой [8] показывают, что кроме эритропоэза в селезенке рыб осуществляется и лимфогранулопоэз.

По данным зарубежных и отечественных гематологов, одним из основных органов кроветворения у рыб являются **почки**. У многих рыб они представлены двумя лентами, тянущимися вдоль позвоночника. У взрослых особей гистологическая структура почек включает ретикулярную ткань. Стенки мочевыделительных канальцев построены из однослойного цилиндрического эпителия. Мочевыделительные канальцы разделены прослойками ретикулярной ткани. В составе этой промежуточной массы содержатся кровеносные сосуды и форменные элементы крови всех категорий, на разных стадиях развития.

Сердце, кроме функции центрального органа кровообращения, считается у рыб одним из очагов гемопоэза. У зародыша из ткани, отделившейся от спинного сомита, в первую очередь формируются сердце и кровеносные сосуды, по которым первоначально течет бесцветная кровь, лишенная клеток [24]. Через некоторое время появляются форменные элементы крови. Источники развития форменных элементов крови и взаимоотношение клеток крови пока изучены слабо. Лишь общность происхождения всех форменных элементов крови из единого источника является общепризнанной.

Основную массу сердца составляет миокард. Он состоит из продольных и радиально разветвленных мышечных поперечно-полосатых пучков [17]. Внутренние полости желудочков и предсердий выстланы эндокардом, в состав которого входят тончайшие эластичные волокна и клетки однослойного плоского эпителия, составляющие основную массу внутренней выстилки сердца. По материалам А.А. Заварзина [7] и др., эпителиальный слой сердца и эндотелий сосудов служит источником образования клеток крови в этой системе органов. Поверхностный слой - эпикард - состоит из соединительно-тканых эластических волокон и клеток плоского эпителия.

Кроме того, у рыб имеются **специальные кроветворные (лимфоидные) органы** в виде парных тел овальной формы. Основу этих органов составляют ретикулярный синцитий и множество форменных элементов крови, в том числе молодых. Относительная масса этих органов нередко больше относительной массы почек и селезенки, вместе взятых, что одновременно с подсчетами форменных элементов крови всех категорий указывает на их мощность. Возникновение этих специальных органов произошло, вероятнее всего, одновременно со

сменой первичных почек вторичными. Как показывает расположение лимфоидного органа, отщепление и метаморфоз предпочки произошли раньше, чем окончательно сформировалась черепная коробка. Поэтому эти кроветворные органы у хрящевых и костно-хрящевых рыб, оказались под крышкой черепа над продолговатым мозгом.

Содержание форменных элементов крови в органах, исследованных на гемопоэз (жаберный аппарат, кишечник, сердце, почки, селезенка, лимфоидный орган), в сосудистой крови и распределение по классам свидетельствуют о том, что наряду с основными функциями в них осуществляется нормальный процесс гемопоэза за счет кроветворной ткани, входящей в состав этих органов.

Среди ученых, исследовавших кроветворение и органы кроветворения у рыб, нет единого мнения, какой орган считать основным в процессе кроветворения, а какой - второстепенным. Некоторые авторы отдают предпочтение почкам, некоторые селезенке. Ряд авторов [8,14] предполагает равноценную роль этих двух органов в процессе гемопоэза.

У рыб преобладающей формой клеточных элементов всегда являются лимфоциты, нередко составляющие 90% и более. В период активного питания резко возрастает количество гранулоцитов.

Гемопоэз и классификация форменных элементов крови рыб

Понимание процессов развития клеточных структур системы крови является той основой, без которой невозможно правильное представление о самоподдержании клеточных структур в определенных соотношениях и на определенном онтогенетически и филогенетически обусловленном уровне.

Ранее существовало несколько различных теорий кроветворения (унитарная, дуалистическая, триалистическая и полифилетическая). В настоящее время полное признание получила унитарная теория А.А. Максимова (1909), который на экспериментальном материале эмбрионального и постэмбрионального периодов кроветворения показал, что все кроветворные клетки развиваются из единого начала. Родоначальниками всех клеток, по его мнению, являются индифферентные мезенхимные клетки-лимфоциты. Экспериментальными и клиническими исследованиями медицинской гематологии в костном мозгу было установлено наличие самоподдерживающихся мультипотентных стволовых единиц. Эти единицы являются подвижными, циркулируют с кровью и могут образовывать колонии. Многие представители морфофункционального направления в гематологии считают, что колониеобразующие клетки являются мелкими лимфоидно-ретикулярными клетками.

В исследованиях Н.Т.Ивановой [8] построение классификации форменных элементов крови различных эколого-биологических и систематических групп рыб осуществлено в соответствии с унитарной теорией, учтены опаль-

ные характеристики, использованные в медицине для построения современных морфофункциональных клеток крови человека. Первый класс полипотентных стволовых, способных к самоподдержанию клеток крови рыб, морфологически не идентифицирован. Из ранних фаз развития в ретикулярной ткани органов, исследованных на гемопоэз, выявлены клетки, которые до последнего времени в медицине именовались как гемогистобласты и гемоцитобласты. Второй класс пролиферирующих клеток (митотический пул) представлен такими клетками, как миелобласты, промиелоциты, миелоциты, монобласты, проэритробласты. Третий класс созревающих клеток у рыб является самым многочисленным. Эти клетки утратили способность к пролиферации, но еще полностью не дифференцированы, к ним относятся метамиелоциты, нормобласты, лимфоциты. Четвертый класс зрелых специфически функционирующих клеток содержит дифференцированные элементы всех категорий красной и белой крови, способные к выполнению специальных функций.

Гемогистобласт - тканевая клетка лимфоидно-ретикулярного ряда, обладающая потенциальными кроветворными функциями.

У рыб ретикулярный синцитий выявлен в системе почти всех органов, исследованных на кроветворную функцию (кроме печени). У человека эти структуры составляют основу костного мозга. В них различают два рода клеток. Одни клетки находятся в составе ретикулярного синцития и обладают крупным нежносетчатым красно-фиолетовым ядром. Слабобазофильная цитоплазма образует тончайшие отростки, связывающие эти клетки в единую синцитиальную структуру, в которой обособлены лишь околядерные участки цитоплазмы. Другие клетки лежат свободно и не связаны между собой. Свободно лежащие гемогистобласты имеют крупное нежносетчатое красно-фиолетовое ядро. Слабобазофильная цитоплазма контурирована не резко. Форма клеток изменчива, что, по-видимому, связано с их функциональным состоянием. Субмикроскопические исследования показывают, что эргастоплазма и другие органоиды развиваются слабо. Иногда базофилия усиливается за счет увеличения количества рибосом. По величине их разделяют на малые и большие ретикулярные клетки. Малые ретикулярные клетки по своей структуре напоминают лимфобласт. Большие ретикулярные клетки, или клетки Феррата, считаются типичными гемогистобластами, которые отдельные гематологи аналогизируют с макрофагами.

Макрофаги. По данным И. Тодорова [19] и других, размеры этих клеток у человека достигают 20—40 мкм. Ядерный хроматин отличается своеобразным змеевидным переплетением с наличием 2-4 ядрышек. Слабобазофильная цитоплазма резких контуров не образует, но иногда содержит тонкую пылевидную зернистость. Впервые функции макрофагов были изучены И.И. Мечниковым. В 1882 г. он установил, что эти клетки отличаются активным фагоцитозом. Их цитоплазма часто содержит различные включения (белки, жиры, пигменты, бактерии, эритроциты, распавшиеся лейкоциты, паразиты и т. д.).

Вследствие накопления в них поглощенных веществ размер клетки может быть резко увеличен.

Исследованиями Gottlieb и Waldraan [28] отмечено участие макрофагов в процессах специфического иммунного механизма. Из данных Ellis [27] следует, что макрофаги в результате активного поглощения антигена могут предотвращать иммунный паралич. Они участвуют в захвате и переносе антигена в процессах, приводящих к образованию антител. Макрофаги способствуют факторам, которые увеличивают активность лимфоцитов. Они взаимодействуют между Т-, В-лимфоцитами и их подразделениями. Макрофаги подобно интерферону усиливают действие вспомогательных защитных функций организма. Обладая хемотаксисом, макрофаг реагирует на вещества, выделяемые лимфоцитами.

Плазматические клетки. Они также являются элементами ретикулярного ряда. По имеющимся данным, они стоят на втором месте после макрофагов (гемоцитобластов или клеток Феррага). Красно-фиолетовое ядро этих структур имеет облаковидную, иногда колесовидную структуру [19]. Широкий слой цитоплазмы окрашивается в густой темно-синий цвет. Есть перинуклеарное пространство. В цитоплазме чаще, чем в других клетках, содержатся вакуоли. Плазматические клетки качественно различны. Так, И. Тодоров [19] и другие отмечают, что эти клетки неодинаковы по происхождению и имеют различное клиническое значение. Что касается цитогенеза, то пока известны две четко выраженные стадии развития: плазмобласт и плазмоцит. В работе Ellis [27] отмечается, что плазматические клетки птиц и млекопитающих образуются из В-лимфоцитов и участвуют в образовании гуморальных антител. По данным этого автора, функционально эти клетки характеризуются большим количеством иммуноглобулина, который быстро синтезируется и выделяется. У рыб обнаружены крупные розоподобные клетки, внешне похожие на клетки плазмы млекопитающих. Предполагают, что такие клетки выделяют антитела. Однако, как указывает Ellis [27], розоподобные клетки рыб и клетки, содержащие внутри цитоплазменный иммуноглобулин, больше похожи на крупные лимфоциты, чем на клетки плазмы. Ellis [27] предполагает, что у рыб большая часть иммуноглобулина выделяется лимфоцитами, которые частично дифференцируются в клетки плазмы.

Гемоцитобласт. Средние размеры этих клеток 8,24-11,76 нкм для осетровых, для костистых - 7,98-13,45 мкм. Нежное красно-фиолетовое ядро гемоцитобласта занимает почти всю клетку. В ядре просматриваются 2 и более ядрышек. На долю резко базофильной цитоплазмы приходится узкий ободок. Эндоплазматическая сеть и комплекс Гольджи развиты слабо. В цитоплазме много рибосом и полисом. Встречаются вакуоли с гранулярным содержанием. Ядро очень крупное с одним или несколькими ядрышками.

Клеточные элементы зернистого ряда

Клетки этого ряда представлены миелобластами, промиелоцитами, миелоцитами, палочкоядерными и сегментоядерными гранулоцитами.

Миелобласт. Это родоначальная клетка всех гранулоцитов. Средние размеры ее больше, чем у гемоцитобласта, и колеблются у осетровых от 12,40 до 20,14 мкм, у костистых - соответственно от 11,31 до 19,82 мкм. Красно-фиолетовое ядро пятнистой структуры занимает большую часть клетки. На долю базофильного, как бы губчатого слоя цитоплазмы приходится незначительная часть. По данным современной медицины, субмикроскопическая структура миелобласта человека характеризуется обилием рибосом, что обуславливает резкую базофилию этой клетки. Отмечено много различной формы митохондрий (круглые, овальные, удлинённые). Высокой степени развития достигает комплекс Голджи, представленный системой мелких пузырьков. В цитоплазме иногда содержится мелкая зернистость. Слаборазвитая эндоплазматическая сеть представлена укрупненными канальцами. Круглое ядро содержит 1-2 ядрышка. Нередко они примыкают к ядерной мембране.

Промиелоцит. Крупная клетка неправильной овальной формы, у осетровых 10,86-16,85 мкм. Среди клеточных элементов крови рыб это самая крупная клетка средним размером от 12,39 до 18,93 мкм. Красно-фиолетовое ядро более плотной структуры, чем у миелобласта. Хроматиновые нити образуют некоторые утолщения. В ядре располагаются от 2 до 4 ядрышек, которые на стадии зрелости становятся малозаметными. В это время в структуре ядра появляются рыхлые глыбки хроматина. Слабобазофильная, почти бесцветная цитоплазма на этой стадии содержит вполне различимую специфическую зернистость. Количество свободных рибосом уменьшается.

Миелоцит. Средние размеры этих клеток у костистых рыб - 11,25-15,26 мкм. Таким образом, эта клетка уступает по своим размерам промиелоциту. Относительно крупное красно-фиолетовое ядро не содержит ядрышек и обладает более плотной структурой, чем ядро клетки его предстadium. Ядерный хроматин имеет глыбчатое строение. Широкий слой цитоплазмы содержит нейтрофильную и эозинофильную зернистость у осетровых, нейтрофильную, эозинофильную, псевдоэозинофильную, псевдобазофильную, базофильную – у костистых рыб.

Метамиелоцит. Обладает плотным, несколько вытянутым ядром, диаметр которого по всей длине ядра одинаков. Хроматин имеет пятнистую структуру. В цитоплазме содержится ясно различимая специфическая зернистость. У осетровых отмечено два вида зернистости – нейтрофильная и эозинофильная.

Палочкоядерный лейкоцит. Отличается от своей предстadium (метамиелоцита) тем, что красно-фиолетовое ядро подвергается изменениям: становится более плотным, и на нем у большинства видов рыб появляются сужения. У донской сельди, линя и некоторых других видов рыб такие изменения не

наблюдаются, и до стадии полного созревания клетки ядро остается округлым. Главными отличительными свойствами метамиелоцита от палочкоядерного лейкоцита являются ровный, гладкий контур и одинаковая толщина ядра.

Сегментоядерный гранулоцит – конечная стадия клеток развития зернистого ряда. Отличается яркой сегментацией ядра. В составе гранулоцитов можно выделить нейтрофилы, псевдоэозинофилы, псевдобазофилы.

Нейтрофилы. Средние размеры конечных стадий развития у осетровых 11,41 - 14,84 мкм, у костистых 10,48-15,20 мкм. Гранулы и цитоплазма этих клеток окрашиваются основными и кислыми красителями без преобладания какого-нибудь одного, поэтому цитоплазма зрелых нейтрофилов бесцветна или почти бесцветна. Гранулы видны лишь на живых клетках с применением метода фазового контраста. У осетровых красно-фиолетовое ядро плотной структуры, у ряда костистых (сома, рыба и др.) обладает резкой рассечённостью, а у таких рыб, как сельдь, линь и другие, ядра нейтрофилов относительно округлы.

Незрелые клетки содержат округлые гранулы (первичные). В зрелом гранулоците гранулы в основном удлиненные (80%). Содержимое зерен однородно. Однако встречаются гранулы, внутри которых имеются плотные включения. Контур зерен окаймлены однослойной мембраной. Первичные гранулы появляются уже в промиелоците, вторичные - в миелоцитах. По мере созревания клетки количество круглых гранул уменьшается, а продолговатых - увеличивается. Концентрация указанных структур происходит у аппарата Гольджи. В зрелой клетке образование зернистых культур не наблюдается.

Биохимическими исследованиями установлено наличие в составе нейтрофильных гранулоцитов, белков с бактерицидными свойствами. Многие авторы [18, 20, 27] считают нейтрофилы основными фагоцитными клетками.

Псевдоэозинофилы - другая категория амфотерных гранулоцитов крови рыб. Средние размеры этих клеток 10,94-12,49 мкм. Их гранулы окрашиваются основными и кислыми красителями с преобладанием ацидофилии. Такие клетки имеют розовую зернистость с фиолетовым оттенком и не могут быть отнесены к эозинофилам в классическом понимании. Они считаются промежуточной формой между нейтрофилами и эозинофилами [8]. Гранулы особенно хорошо видны при фазово-контрастной микроскопии. Красно-фиолетовые ядра этих клеток разделены не более чем на две доли. Цитоплазма конечных фаз развития почти нейтральна. Впервые они встречены у сазана, а позднее и у других карповых (рыбец).

Псевдобазофилы. К третьей категории амфотерных клеточных структур крови рыб относятся зернистые лейкоциты, гранулы которых окрашиваются основными и кислыми красителями с преобладанием базофилии. Красно-фиолетовое ядро плотной структуры, округлое у линя, у других рыб отличается слабой рассечённостью. Чаще ядро разделено на две доли, соединенные между собой протоплазматическими мостиками. Цитоплазма часто резко оксифильна, имеет фиолетовый оттенок. Такие структуры рассматриваются некоторыми ав-

торами как псевдобазофилы [8]. Размеры этих клеток колеблются от 11,30 до 14,49 мкм.

Эозинофилы Размеры их колеблются у осетровых от 11,4 до 15,54 мкм, у костистых они встречаются реже. Слабобазофильная цитоплазма зрелых клеток заполнена крупной оранжево-красной зернистостью. Плотное красно-фиолетовое ядро часто разделено на сегменты. Форма гранул округлая, овальная или сильно удлинённая. Форма кристаллов гранул прямоугольная, иногда трапециевидная. Некоторые гранулы заострены наподобие тонких игл [18]. Каждая гранула окружена плотной мембраной. Кристаллоподобная структура гранул непостоянна: периодически меняется в параллельном или концентрическом расположении пластинчатых образований. Внутри гранулы имеется кристалл, который по плотности превосходит ядро гранулы.

Эозинофильные гранулоциты, не содержащие в своей зернистости соответствующих кристаллов, считаются незрелыми. Сведений о свойствах и функциях этих клеток весьма мало. Однако наличие фагоцитоза отмечено рядом авторов.

Базофилы. Это самая малочисленная категория лейкоцитов. На полное отсутствие базофилов у многих исследованных рыб обращают внимание разные авторы. Возможно, это связано с низким содержанием базофилов в крови. У высших позвоночных и человека их число в крови также невелико. Основными отличительными чертами этих клеток служат крупные красно-фиолетовые зерна, расположенные на слабо оксифильном фоне цитоплазмы.

Клеточные элементы лимфоидного ряда

Лимфобласт. Клетка с крупным нежно-сетчатым ядром красно-фиолетового цвета. В ядре плохо просматривается ядрышко. Часто выражено перинуклеарное пространство. Узкий слой цитоплазмы обладает резкой базофилией.

Субмикроскопические исследования этих клеток у человека показали, что в них находится много рибосом, митохондрий. Эндоплазматический ретикулум и комплекс Гольджи развиты слабо. В округлом ядре на фоне пятнисто расположенного хроматина отмечено одно ядрышко.

Пролимфоциты. Последующая стадия развития клеток этого ряда. От своей предстadium - лимфобласта - отличается сглаженностью тонкопетливой структуры хроматина. Иногда наблюдаются остатки ядрышек. От своей последующей стадии - лимфоцита - отличается заметно более нежным ядром. По данным современной гематологии, наличие пролимфоцитов свидетельствует о воспалительных процессах в лимфатических узлах. Цитоплазма отличается резкой базофилией.

Лимфоциты. Средние размеры этих клеток для осетровых колеблются от 7,10 до 9,70 мкм, для костистых - соответственно от 4,80 до 8,60 мкм. Плот-

ное красно-фиолетовое, часто децентрированное ядро имеет разнообразную форму - от округлой до почковидной и дольчатой. Хроматин в нем образует постепенные переходы от более плотных к менее плотным участкам, и, наоборот, на окрашенных препаратах образуется облаковидная структура, свойственная зрелым формам этих клеток. Узкий слой резкобазофильной цитоплазмы не всегда образует сплошное обрамление вокруг ядра. Иногда имеются выпуклости наподобие псевдоподий, они придают клетке амебоидную форму. Такая форма связана с особо высокой подвижностью и функциональной деятельностью такого вида клеток. Субмикроскопическая структура лимфоцитов человека и животных показывает, что крупное ядро занимает основную часть клетки. Хроматин ядра образует неравномерные скопления. Единственное ядрышко ограничительной мембраны не содержит. В цитоплазме находятся свободнолежащие рибосомы. Различной формы митохондрии или разбросаны по всей цитоплазме, или собраны в углублении ядра, если оно почковидное. Иногда в цитоплазме располагаются своеобразные вакуоли сложного строения [18]. Они же являются специфическими для лимфоцитов, но в них встречаются наиболее часто. Цитоплазма содержит небольшое количество гранул с осмиефильной внутренней субстанцией.

Лимфоциты позвоночных представляют собой далеко не однородную группу клеточных элементов. Они состоят из Т-, В-лимфоцитов и др. Установлено, что одна из этих групп - Т-лимфоциты - сосредоточена в тимусе (отсюда их называют Т-лимфоцитами). Они составляют 80% всех имеющихся в организме лимфоцитов. Остальные 20% относятся к В-лимфоцитам [8]. Название В-лимфоциты происходит от Бурса Фабрициус (Фабрициева сумка - лимфоидный орган птиц, в котором концентрируются и размножаются В-лимфоциты).

При исследовании эндокринной системы рыб на концентрацию лимфоцитов (сезонные, возрастные и другие изменения) в тимусе обратил внимание Е.К. Суворов [17].

Впервые образование лимфоцитов в зубной железе описано Маурером (1886), а сама железа, по его мнению, является единственным источником образования лимфоцитов. Deansley [26] и другие авторы считают, что у рыб родоначальные клетки поступают в тимус и там развиваются до Т-лимфоцитов. После опытов с лягушками Turpen с соавторами [29] сделали заключение о том, что у низших позвоночных тимус является единственным источником образования Т- и В-лимфоцитов. По данным Ellis [27], у костистых рыб разделения на Т- и В-лимфоциты не установлено.

Согласно исследованиям ученых лаборатории иммунологии Института биофизики Министерства здравоохранения СССР, роль В-лимфоцитов сводится к выработке антител, нейтрализации чужеродных белков и микробных ядов. Однако В-лимфоциты успешно выполняют свою функцию только в присутствии Т-лимфоцитов. Обладая высокой подвижностью, Т-лимфоциты проникают во все уголки тела, распознают чужеродные клетки и обезвреживают их

путем мобилизации всех резервов. Т-лимфоциты как бы побуждают клетки белой крови различных категорий и стадий развития усилить свои исторически сложившиеся функции. Стволовые клетки, например, обладая способностью к миграции, перемещаются в кровь или те органы кроветворения, где в них есть необходимость. При этом темп миграции, поселение с последующим размножением стволовых клеток зависит от интенсивности развития чужеродных белков. Параллельно с этим надо отметить, что у Т-дефицитных особей этого не происходит. У них развивается дисгармония и прежде всего нарушается нормальное, исторически сложившееся соотношение клеточных элементов крови (60% эритроитных структур, 30% лейкоцитных и 5% тромбоцитоидных).

Таким образом, лимфоциты крови и лимфоидных органов являются той иммунной системой, которая ограждает организм от чужеродных влияний и сохраняет его генетическое постоянство.

Клеточные элементы моноцитоидного ряда

Монобласт. Наиболее ранним предшественником моноцита является монобласт. Клетка содержит крупное, чаще всего неправильной формы (подковообразной, бобовидной) красно-фиолетовое ядро. Широкий слой цитоплазмы имеет слабобазофильную окраску.

Промоноцит. Является ближайшей предстадией моноцита. Красно-фиолетовое ядро этой клетки обладает рыхлой облаковидной структурой с остатками ядрышек. Слабобазофильная цитоплазма имеет дымчатый оттенок.

Моноцит. Представляет собой клетку, средние размеры которой колеблются у осетровых от 12,78 до 16,58 мкм, у костистых от 11,15 до 15,25 мкм. Относительно крупное, часто неправильной формы красно-фиолетовое ядро обеднено хроматином. Цитоплазма окрашена в дымчатый цвет.

Клеточные элементы эритроидного ряда

Эритробласт. В числе других клеток эритробласт является последующей стадией развития после лимфоидно-ретикулярных элементов. Средние размеры этой клетки у осетровых колеблются от 9,36 до 13,52 мкм, у костистых - от 9,68 до 12,93 мкм. Крупное, резко очерченное красно-фиолетовое ядро расположено в центре клетке. Ядерный хроматин распределяется относительно тонким слоем, образуя характерное для ядер этого типа равномерное сплетение. В ядре содержится 2-4 ядрышка. Узкий слой резкобазофильной цитоплазмы образует выпуклости. В пределах одной клетки базофилия распределяется неравномерно: усиливается от центра к периферии. По мере уменьшения и уплотнения ядра базофилия цитоплазмы клеток этого ряда теряется, клетка переходит в последующую стадию - пронормобласт, а затем в нормобласт (базофильный, полихроматофильный, оксифильный) и в эритроциты.

Базофильный нормобласт. Производное пронормобласта. Это различные по величине клетки. Центральное-расположенное, несколько более плотное, чем у пронормобласта, красно-фиолетовое ядро обладает резкой очерченностью. Узкий слой цитоплазмы постепенно теряет базофилию.

Полихроматофильный. Хроматин резко очерченного ядра расположен радиально. Заметно выражено перинуклеарное пространство. Относительно широкий слой цитоплазмы окрашивается в грязно-розовый цвет.

Оксифильный нормобласт. Красно-фиолетовое округлое ядро плотной структуры. Широкий слой цитоплазмы обладает окофилией.

Эритроцит. Клетка с плотным, вытянутым по ее длине красно-фиолетовым ядром и широким слоем оранжево-красной цитоплазмы. Поперечный диаметр этой клетки для осетровых колеблется от 9,84 до 14,00 мкм, продольный - соответственно от 10,16 до 16,75 мкм. У костистых рыб продольный диаметр этой клетки равен 9,90-18,32 мкм, поперечный 5,28-11,05 мкм. В ядрах эритроцитов особое распределение хроматина - в виде больших скоплений глыбок. Ядрышки не ограничены мембраной, эндоплазматическая сеть развита крайне слабо. В цитоплазме содержатся митохондрии, комплекс Гольджи, полисомы и другие структуры. Нормобласты характеризуются слабым развитием структур эндоплазматической сети. Число митохондрий, комплекса Гольджи и рибосом по мере дифференцировки клеток уменьшается. Ядра становятся все плотнее и меньше.

Эритроциты крови человека и рыб являются переносчиками кислорода. Однако в последнее время установлено, что они выполняют более сложные и разнообразные функции. Так, оболочка эритроцита, являясь динамическим образованием, избирательно проницаема для различных газов и других веществ, тогда как строма эритроцита, в состав которой входит гемоглобин, играет большую роль в антигенных свойствах и групповой принадлежности крови. Материалы медицинской гематологии свидетельствуют о том, что помимо дыхательной функции эритроциты участвуют в регуляции кислотно-щелочного равновесия организма, адсорбции токсинов, а также в ряде ферментативных процессов. Процессы созревания эритроцитов находятся под сложным влиянием гуморальных и нервных факторов. Ведущее значение имеет гуморальный фактор, связанный с насыщением крови кислородом. Установлено, что кислородное голодание приводит к активности эритропоэза, тогда как избыток кислорода снижает эритропоэз. Постоянство эритроцитов в крови, регулируется вегетативной нервной системой.

Клеточные элементы тромбоцитоидного ряда

Молодые формы этого ряда у рыб изучены слабо. Тромбоциты рыб имеют круглую веретеновидную, амебоидную, удлинненную и другие формы. Цитоплазма по Романовскому-Гимза окрашивается в грязно-розовый тон. Плотное

ядро окрашено в густой красно-фиолетовый, почти в черный цвет. Известно, что тромбоциты легко утрачивают цитоплазму. Поэтому клетки типа голоядерных скорее могут оказаться тромбоцитами, а не лимфоцитами, что следует учитывать.

Многие авторы отмечают многообразие форм и трудности отличий тромбоцитов от лимфоцитов. Особенно много внимания в литературе уделено вопросу происхождения тромбоцитов. Предшественником тромбоцитов считается малый лимфоцит, что в свете общепризнанной, унитарной теории кроветворения выглядит вполне вероятным. Развитие тромбоцитов проходит в селезенке, основной функцией этих клеток является свертывание крови. Основной функцией тромбоцитов считается свертывание крови.

Морфология клеток крови карпа *Cyprinus carpio* (L.)

в норме и при заболеваниях

Успешное развитие рыбоводства у нас в стране связано с выращиванием традиционного объекта разведения - карпа, который подвержен многим инфекционным, инвазионным и незаразным болезням. Поэтому при оценке физиологического состояния рыбы и диагностике заболеваний необходимо знать картину в норме и при заболеваниях.

Состав и морфология клеток крови у здорового карпа

После перехода личинок на активное питание у карпа отличают различные стадии созревания вторичных эритроцитов [8]. Наличие миелобластов, промиелоцитов, монобластов, а также нейтрофильных и эозинофильных миелоцитов свидетельствует о том, что кроветворные органы начали функционировать. У 20-дневных личинок встречается большое число эозинофилов и лимфоцитов. Кроме того, в небольшом количестве присутствуют промиелоциты, а также псевдоэозинофильные в нейтрофильные миелоциты.

Лейкоцитарная формула карпов стабилизируется уже на первом году жизни. Впервые её удается просчитать у 30-дневных мальков. У них в крови встречаются все группы лейкоцитов. Из гранулоцитов наиболее многочисленны нейтрофилы ($14,8 \pm 1,8\%$) и псевдобазофилы ($6,1 \pm 1,8\%$), из агранулоцитов - лимфоциты ($63,3 \pm 3,3\%$) и моноциты ($5,1 \pm 1,6\%$). Активность лейкопоеза зависит от активности рыбы, а, следовательно, и от температуры воды. Поэтому летом лейкоцитарная формула сеголетков карпа представлена всеми группам клеток белой крови [5]. Наиболее многочисленны лимфоциты, отчего кровь носит лимфоидный характер. Из гранулоцитов больший процент приходится на нейтрофилы и псевдоэозинофилы. К осени число гранулоцитов снижается, а

моноцитов возрастает; кровь зимующего сеголетка представлена тремя группами лейкоцитов: нейтрофилами, моноцитами и лимфоцитами (табл. 2) [21]. Лейкоцитарная формула у двухлетков отличается от таковой у сеголетков отсутствием в летний период бластных форм и увеличением процента гранулоцитов и моноцитов [5].

В крови алтайского зеркального карпа количественные показатели эритроцитов колебались в пределах от 1,1 до $2,67 \times 10^{12}/\text{л}$, а гемоглобина 74,0 – 118,6 г/л. Следует предположить, что некоторое увеличение содержания эритроцитов в крови алтайского зеркального карпа связано с его адаптированностью к более низким температурам Западной Сибири [15].

Общее количество лейкоцитов в крови алтайского зеркального карпа седьмого поколения селекции достигает $27,0 \times 10^9/\text{л}$. В крови двухлетков наиболее многочисленны лимфоциты (74,03%). Лейкоцитарная формула у двухлетков алтайского карпа в осенний период характеризуется наличием бластных форм – миелоцитов, палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов, агранулоцитов – моноцитов и лимфоцитов. Количество миелоцитов колебалось от 3 до 10%, палочкоядерных - от 2,02 до 7, сегментоядерных - от 5 до 15,4, агранулоцитов: моноцитов – от 0,7 до 4,85, лимфоцитов от 42,7 до 84,15%.

Таблица 2

Лейкоцитарная формула сеголетков и двухлетков карпа в норме, %

Возраст	Месяц	Бластные формы					Нейтрофилы			Эозинофилы и псевдоэозинофилы	Базофилы и псевдобазофилы	Агранулоциты	
		гемоцитобласты	миелобласты	промиелоциты	миелоциты	мегамиелоциты	палочкоядерные	сегментоядерные	всего			моноциты	лимфоциты
0+	Июль	0,3	1,2	3,0	1,0	1,0	0,5	0,5	3,0	12,5	1,3	3,0	85,1
0+	Август	0,54	0,0	0,08	0,46	0,37	0,38	0,25	1,46	4,2	3,4	4,1	84,5
0+	Сентябрь	0,0	0,0	0,0	1,1	0,2	1,4	1,3	4,0	0,0	1,2	8,7	82,2
0+	Октябрь	0,0	0,17	1,5	0,83	0,42	0,41	0,42	3,1	4,0	0,75	16,7	74,2
0+	Январь	0,0	0,0	1,0	1,0	1,0	0,0	4,0	6,0	0,0	0,0	15,0	78,8
0+	Март	0,0	0,0	1,0	1,0	1,0	2,0	1,0	5,0	0,0	2,0	2,0	89,0
1+	Июнь	0,0	0,0	0,0	1,5	1,2	2,0	1,5	6,3	3,6	6,2	4,0	80,5
1+	Июль	0,0*	0,0*	0,0*	3,3	4,3*	5,1*	1,5	14,5*	4,9*	1,3	2,7	76,7
1+	Август	0,0*	0,0*	0,0*	1,2	2,9*	2,3*	2,3*	7,7*	3,6	9,2*	9,6*	70,2

*Показатель достоверно различается с таковым у сеголетков.

Морфологическая характеристика клеток белой крови карпа

После того как кроветворные органы карпа начинают функционировать, морфология различных групп лейкоцитов остается неизменной и не зависит от возраста рыбы [5]. В крови карпа различают 7 групп лейкоцитов на различных стадиях цитогенеза: 5 групп гранулоцитов (клетки миелоидного ряда) - нейтрофилы, эозинофилы, псевдоэозинофилы, базофилы, псевдобазофилы и 2 группы агранулоцитов - моноциты и лимфоциты. Кроме того, в крови встречаются бластные формы: гемоцитобласт, миелобласт, промиелоцит Нейтрофилы

карпа в своем цитогенезе проходят 4 стадии: миелоцита, метамиелоцита, палочкоядерную и сегментоядерную формы, которые также дифференциально учитываются. Таким образом, в крови карпа насчитывается 13 форм лейкоцитов.

Гемоцитобласты. Нежное красно-фиолетовое ядро занимает почти всю клетку. В ядре просматриваются ядрышки. На долю нежно-голубой цитоплазмы приходится незначительная часть. Скопление этих клеток отмечали в очагах гемопоэза. Слабобазофильная цитоплазма миелобластов окружает нежно-сетчатое ядро более широким слоем, чем у предыдущей стадии. Клетка крупная. В ядре имеются ядрышки. В периферической крови эти клетки очень редки.

Промиелоциты - клетки овальной формы, значительно больших размеров, чем предыдущие стадии. Эксцентрично расположенное нежное красно-фиолетовое ядро содержит ядрышки. У более поздних стадий в цитоплазме видна специфическая зернистость.

Нейтрофильные гранулоциты. Содержат в цитоплазме мелкую, почти бесцветную специфическую зернистость. В цитогенезе они проводят 4 различные стадии. Эти стадии различаются между собой по структуре и форме ядра. У миелоцитов оно относительно круглое, рыхлое, красно-фиолетового цвета. У метамиелоцита оно более плотное, эксцентрично расположенное, овальное или слегка вытянутое. Палочкоядерные формы имеют красно-фиолетовое продолговатое, часто почкообразное ядро. У сегментоядерных форм оно рассечено, как правило, на две доли.

Эозинофильные гранулоциты. Представляют собой округлые клетки с плотным овальным или округлым ядром. Цитоплазма заполнена лежащими гранулами с абсолютной ацидофилией. В цитоплазме псевдоэозинофилов находятся мелкие игольчатые гранулы малинового цвета. Ядро округлое. В цитоплазме базофилов в небольшом количестве содержатся крупные равномерные гранулы красно-фиолетового цвета. Ядро округлой или овальной формы красно-фиолетового цвета.

Псевдобазофилы по форме ядра и клетки близки к эозинофилам, но резко отличаются от зернистости. Вся цитоплазма псевдобазофилов заполнена разнородной красно-фиолетовой зернистостью. Из незернистых лейкоцитов преобладают лимфоциты, имеющие различную форму клетки - округлую, овальную или вытянутую. Резкобазофильная цитоплазма узким кольцом окружает плотное красно-фиолетовое ядро. Цитоплазма может быть едва заметной, тогда клетки кажутся как бы безъядерными.

Моноциты имеют эксцентрично расположенное, красно-фиолетовое ядро округлой, вытянутой или лопастной формы с характерным рисунком. Гомогенная цитоплазма серовато-голубоватого цвета.

Патологические структурные изменения в клетках крови

При заболеваниях происходят некоторые изменения в картине крови. Наиболее характерные из них показаны в табл. 3, 4.

Таблица 3

Показатели красной крови карпа при различных заболеваниях

Состояние рыбы	Возраст	Гемоглобин, г/л	Гематокрит, л/л	Общий белок, г/л	Содержание гемоглобина в эритроцитах, пг	СОЭ, мм/ч	Число эритроцитов, млн в 1 мкл	Число лейкоцитов, тыс. в 1 мкл
Бранхиомикоз								
начало	1+	48	0,337	20	40	5,4	1,2	170
конец	1+	40	0,333	23	57,1	4,2	0,7	71
Дактилогироз	1+	55	0,32	24	19	-	1,4	49
Здорова [11]	1+	96	0,40	44	53,3	4,0	1,8-2,3	25-80
Ихтиофтириоз	0+	34	0,112	16	40,7	4,5	0,75	86
Здорова [11]	0+	80-125	0,40	44	57	4,0	1,4-1,8	50

Таблица 4

Изменение лейкоцитарной формулы карпа при различных заболеваниях, %

Заболевание	Возраст рыб	нейтрофилы					Эозинофилы и псевдоэозинофилы	Базофилы и псевдобазофилы	Моноциты	Агранулоциты
		Миелоциты	Метамиелоциты	Палочкоядерные	Сегментоядерные	Всего				
Бранхиомикоз										
начало	1+	0,8	0,8	2,0	0,0*	3,6*	3,6	1,4	10,5	82,0
конец	1+	1,6	5,5	5,8	1,0	13,9	2,5	2,3	5,5*	74,7
ВПП	1+	0,5	0,07*	1,8*	1,6	4,6*	0,5*	4,4	8,2*	84,3
	0+	2,6*	4,5*	5,9*	3,8	16,8*	6,5	4,7	3,1	77,1*
Дактилогироз	1+	1,2	2,4	1,1	0,5	5,2	17,1*	0*	8,4	70,9
ГПБ	1+	1,0*	1,8	1,6*	1,45	5,8*	3,9*	1,0	2,5	83,6
Хилодонеллез										
зимний	0+	2,4*	0,40	0,40*	0,47*	3,5	3,97		2,3	83,3
летний	0+	18,8*	14,5*	6,7*	6,7*	54,2*	5,1		6,3	29,6*
Ихтиофтириоз	0+	4,3	7,9*	8,6*	1,6	22,4*	12,0*	2,5	10,6	53,6*
Кавиоз	0+	0,5	0,44	0,83	1,22	3,04	2,44*	1,89*	8,89	83,87

* Показатель достоверно различается с таковым у здоровой рыбы.

При различных патологических состояниях в крови можно встретить морфологически измененные клеточные элементы (как эритроциты, так и лейкоциты).

Гиперсегментация ядра. Ядро разделяется на несколько соединенных между собой сегментов.

Хроматинолиз. Возникает при распаде хроматина: он теряет свою нормальную структуру, растворяется. Ядро окрашивается в светлый цвет, контуры его сохраняются.

Кариолиз. Растворение лишь части ядра с сохранением его нормальной структуры. В местах растворения ядро теряет способность окрашиваться. Контуры его нечеткие, размытые

Пикноз. Уплотнение хроматина ядра. Ядро при этом становится темным, бесструктурным. Процесс пикнотизации распространяется либо на все ядро, либо на отдельные его участки.

Кариорексис. Распад ядра на отдельные части обычно сочетается с пикнозом. При этом образуются не связанные между собой округлые, бесструктурные темно-вишневые образования.

Цитолиз (или лизис). Распад клетки. Цитоплазма может отсутствовать. Ядро теряет свою обычную структуру, контуры его расплывчатые.

Вакуолизация. Встречается как в ядре, так и в цитоплазме. Объясняется расстройством внутри клеточного обмена. Наличие ее в ядре указывает на тяжесть патологического процесса. Вакуолизация может сочетаться с другими структурными изменениям клеток.

Изменение **зернистости** у гранулоцитов. Возникает при различных заболеваниях. При этом могут меняться форма, размер и цвет гранул .

Сапролегниоз икры карпа

Сапролегниоз - грибковое заболевание, которое вызывается *Saprolegnia parasitica* , *S. monoica* и др. Анализ морфологической картины крови эмбрионов (на стадии пигментации вдоль спины), развивающихся в пораженных и здоровых икринках, показал наличие в ней проэритробластов, первичных эритробластов и нормобластов, гемоцитобластов, миелобластов, промиелоцитов и лимфоидных элементов [5]. Замечено, что в крови эмбрионов, развивающихся в пораженных икринках, миелоидные клеточные структуры встречаются в единичных экземплярах, тогда как в крови они довольно часты, что свидетельствует о задержке развития. В крови таких эмбрионов имеются бластные клетки на стадии митотического деления. Отмечена вакуолизация ядра.

Бранхиомикоз двухлетков карпа

Бранхиомикоз у карпов протекает довольно быстро. При этом первые дни болезни проходят бессимптомно, однако клетки *Branchiomyces sanguinis* можно увидеть под микроскопом. Затем появляются характерные клинические признаки заболевания, и наступает гибель рыбы.

Гематологические показатели при бранхиомикозе изучали многие авторы [2; 12; 6]. Исследование красной крови больных рыб показало, что в начале заболевания происходит снижение числа эритроцитов, гемоглобина, гематокрита. Количество общего белка в плазме СОЭ, наоборот, возрастает. Резко увеличивается общее число лейкоцитов. В лейкоцитарной формуле отмечено уменьшение числа нейтрофилов и увеличение числа моноцитов. При усилении заболевания происходит дальнейшее снижение показателей красной крови, что приводит к ярко выраженной анемии. Нарушена проницаемость оболочки эритроцитов. На мазках видно, как под действием фиксаторов и красителей гемоглобин диффундирует из клеток и концентрируется вокруг них. В то же время общее число лейкоцитов и лейкоцитарная формула находятся в пределах нормы, хотя морфология лейкоцитов изменена. Так, цитоплазма нейтрофилов часто вакуолизирована, а у базофилов и отдельных нейтрофилов имеются цитоплазматические выросты типа псевдоподий. В крови гибнущей от бранхиомикоза рыбы идут необратимые процессы изменения клеточных структур.

У эритроцитов, лимфоцитов и нейтрофилов отмечен отек ядра. Ядерная оболочка разрывается, и содержимое ядра располагается в цитоплазме.

Лейкоцитарный профиль показывает, что в начале заболевания лейкоцитоз вызван увеличением в крови лимфоцитов и моноцитов. У рыб с яркой клиникой болезни число лимфоцитов снижается до нормы, а моноцитов в крови еще несколько больше, чем у здоровых рыб. Очевидно, причиной столь резкого и быстрого снижения числа лейкоцитов могут быть те дегенеративные процессы, которые возникают в лейкоцитах под действием инфекции.

Воспаление плавательного пузыря (ВПП)

Воспалению плавательного пузыря (ВПП) подвержены карпы всех возрастных групп. Оно протекает в острой, хронической и бессимптомной формах. Гематологические показатели при ВПП изучали ряд авторов [13, 27, 24]. В лейкоцитарной формуле сеголетков при острой форме ВПП отмечается увеличение числа нейтрофилов и базофилов за счет снижения лимфоцитов и исчезновения бластных форм. Бессимптомное и хроническое течение болезни вызывают аналогичные изменения в лейкоцитарной формуле, однако процентное значение показателей несколько ниже. У двухлетков карпа, больных острой формой ВПП, гематокритная величина составила 0,27 л/л, что значительно ниже нормы (0,40 л/л). Содержание гемоглобина, числа эритроцитов уменьшилось в 2, а общего белка - в 1,5 раза.

Изменения в лейкоцитарной формуле двухлетков носят иной характер, чем у сеголетков с аналогичным течением болезни. У двухлетков происходит

снижение как псевдоэозинофильных, так и нейтрофильных гранулоцитов. Следует отметить резкое уменьшение молодых форм нейтрофилов (миелоцитов и метамиелоцитов) и при одновременном увеличении почти в 3 раза моноцитов. Ядро и цитоплазма миелоцита часто вакуолизированы, отмечено появление в ядре типичных для карпа нейтрофилов с повышенной сегментацией ядра и сегментоядерных базофилов. Однако лейкоцитарный профиль показывает, что изменение числа лейкоцитов этих групп незначительно.

Ихтиофтириоз сеголетков карпа

Ихтиофтириоз сопровождается усиленным расселением и инфузории *Idithyophytius mitifiliis* на теле и жабрах.

Исследование красной крови показало, что при заболевании происходит снижение в 2-3 раза гемоглобина и числа эритроцитов. В периферической крови появляются лихроматофильные нормобласты (до 24,5%), что приводит к **анизоцитозу и полихроматофилии [17]**.

Общее число лейкоцитов увеличивается до 86 тыс. в 1 мкл вместо 50 тыс. в 1 мкл у здоровых рыб. В лейкоцитарной формуле отмечен сдвиг клеточных элементов: число лимфоцитов уменьшается, а нейтрофилов, наоборот, возрастает за счет палочкоядерных и сегментоядерных форм [5]. Лейкоцитарный профиль показывает, что увеличение числа лейкоцитов происходит за счет роста числа нейтрофилов, эозинофилов, псевдоэозинофилов и моноцитов. У больных ихтиофтириозом среди нейтрофилов довольно часто (67%) встречаются клетки с резкой базофилией отдельных участков цитоплазмы [8]. У псевдоэозинофилов отмечается увеличение размеров гранул, которые иногда из игольчатых становятся копьевидными. Кроме того, выявлены дегенеративные (необратимые) изменения моноцитов. Эти клетки вакуолизированы и имеют не свойственную им темно-синюю цитоплазму.

Хилодонеллез сеголетков карпа

Возбудитель хилодонеллеза *Chilodonfilla cyprini* легко адаптируется к температурам воды от 0 до 30°C, поэтому это заболевание регистрируют как зимой, так и летом [5].

Зимой при хилодонеллезе отмечается увеличение числа эритроцитов с 1,5 до 1,8 млн в 1 мкл, но средний объем эритроцитов уменьшается с 322 до 238 мкм³, в связи с чем снижалась гематокритная величина (с 0,48 до 0,43 л/л). Это объясняется появлением в крови молодых форм эритроцитов, базофильных нормобластов (до 12%), тогда как в норме они встречаются в единичных экземплярах. В крови происходит снижение в 2 раза палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов и псевдоэозинофилов, в то время как количество лимфоцитов возрастает с 75,4 до 83,3%.

Летом рядом исследователей выявлена другая картина. Показатели красной крови находятся в пределах нормы. Количество лейкоцитов возрастает почти в 2 раза (с 19,2 до 32,2 тыс. в 1 мкл). В лейкоцитарной формуле почти в 3 раза увеличивается число всех групп нейтрофилов (как молодых, так и зрелых форм) и моноцитов, а число лимфоцитов уменьшается (с 75,9 до 29,6%). Отмечается полисегментация ядер нейтрофилов и псевдоэозинофилов. Таким образом, зимняя и летняя формы хилодонеллеза вызывают различные изменения в картине крови. Зимой она характеризуется полихромазией и лимфоцитозом, тогда как лейкоцитоз, отмеченный летом, вызван увеличением числа нейтрофилов [8].

Дактилогироз карпа

Дактилогироз карпа вызывается моногенетическими сосальщиками рода *Dactylogyrus*, паразитирующими на жаберных лепестках рыб. Гематологические показатели при дактилогирозе изучали ряд исследователей [1, 18, 5]. Изучение показателей красной крови показывает, что содержание гемоглобина и эритроцитов снижается незначительно, резко уменьшается показатель СОЭ. Это объясняется увеличением в крови до 41% молодых форм эритроцитов, следствием чего являются полихроматофильная анемия и анизоцитоз. В лейкоцитарной формуле происходят существенные изменения: число лимфоцитов постепенно уменьшается, а моноцитов, напротив, возрастает. Происходит постепенное увеличение числа гранулоцитов за счет количества эозинофилов, отсутствующих в норме. Эозинофилия является единственным процессом, характеризующим лейкоцитоз при дактилогирозе. Среди лейкоцитов отмечены клетки, морфологически отличающиеся от типичных форм. Очень часто встречаются моноциты с вакуолизированным ядром и цитоплазмой. В группе лимфоцитов имеются клетки с комковатой и груботяжистой структурой ядра, встречаются лимфобласты. Цитоплазма отдельных нейтрофильных гранулоцитов окрашена в серовато-дымчатый цвет, гранулы четко просматриваются и сконцентрированы у края цитоплазмы. Подобные изменения в морфологии лейкоцитов обычно появляются при анемиях.

Кавиоз сеголетков карпа

Кавиоз - гельминтозное заболевание, вызываемое паразитированием в кишечнике карпа гвоздичника *Khawia sinensis*. Известно, что невысокие интенсивности инвазии (до 10 гельминтов) существенно не отражаются на содержании гемоглобина, числе эритроцитов и лейкоцитов [9, 3, 10]. Однако лейкоцитарная формула таких рыб отличается от таковой у незараженных рыб. В крови зараженной рыбы полностью отсутствуют базофилы (у незараженной рыбы 2,5%) и, наоборот, имеются псевдоэозинофилы (1,89%), которые отсутствуют у незараженных рыб. Почти в 2 раза возрастает число псевдоэозинофилов, а в

соотношении молодых и зрелых нейтрофилов у зараженных рыб отмечается сдвиг в сторону последних (0,94 и 2,05% вместо 1,17 и 0,8%).

Газопузырьковая болезнь карпа

Газопузырьковая болезнь карпа - незаразное заболевание, вызываемое нарушением равновесия растворенных в воде газов. Оно проявляется в образовании газовых пузырьков под кожей на теле и плавниках, жаберных дугах и крышках, в заглазничном пространстве, в различных внутренних органах, в том числе и органах гемопозза: почках, тимусе, селезенке и сердце [4]. Гематологические исследования больных двухгодовиков карпа показали снижение числа эритроцитов у больных рыб с 1,8 до 1,2 млн. в 1 мкл и гематокрита с 0,47 до 0,41 л/л. Содержание гемоглобина в одном эритроците возрастает (с 51,1 до 77,5 пг), вследствие чего общее содержание гемоглобина остается без изменения (95 г/л) и начальный период заболевания в крови карпа происходит снижение числа лейкоцитов с 76,6 до 53,3 тыс. в 1 мкл. С развитием процесса возникает лейкопения, сопровождающаяся снижением почти в 2 раза числа нейтроформ. Отмеченные эритро- и лейкопения являются функциональными, так как связаны с подавлением функции гемопозза в измененных под действием болезни кроветворных органах.

II. МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЙ КРОВИ РЫБ

1.ОБОРУДОВАНИЕ.

Наблюдения за изменением морфологического состава крови помогают контролировать физиологическое состояние организма рыбы, что крайне важно при проведении различных ихтиологических, ихтиопатологических и других исследованиях. Для сбора материала при морфологическом анализе крови рыб в полевых условиях необходимо иметь элементарную походную лабораторию, в составе которой могут находиться складной рабочий столик любой конструкции и небольшой ящик с материалами и оборудованием. Для забора крови необходимы шприцы типа "Рекорд" с иглами. Для безмеланжерного взятия крови используют серологические пробирки, заранее заполненные соответствующими растворами и закрытые резиновыми пробками. Кроме того, необходимо иметь набор инструментов и реактивов, дорожный микроскоп, предметные стекла, которые следует тщательно подготовить.

Обработка предметных стекол. Микроскопические исследования форменных элементов крови рыб, как и других позвоночных и человека, проводят на окрашенных препаратах с применением иммерсионного объектива. Следовательно, кроме знаний морфологического строения клеток крови рыб успех работы зависит еще и от того, как приготовлены препараты, каково их

качество, насколько они удачно зафиксированы и окрашены. Большое значение в этой работе имеют качество предметных стекол, их толщина, обработка.

Предметные стекла, используемые для изготовления мазков крови и отпечатков органов, исследуемых на гемопоэз, готовят и тщательно обрабатывают заранее. Препараты, изготовленные на толстых предметных стеклах, для работ с иммерсионным объективом малопригодны. Качественные мазки получаются только в том случае, если стекла хорошо обезжирены. Не бывшие в употреблении новые стекла рекомендуется заливать не менее чем на 1 сутки насыщенным раствором двуххромовокислого калия в технической серной кислоте (хромовая смесь). По истечении срока указанный раствор сливают в другой сосуд, а стекла тщательно отмывают от хромовой смеси в течение 2 ч и более сильной струёй водопроводной воды. Затем стекла тщательно просушивают чистой хлопчатобумажной салфеткой и, переложив бумажными прокладками, упаковывают небольшими пачками по 5-10 шт. в каждой. Чтобы избежать загрязнения стекол при самой обработке, их следует брать только пинцетом, а при протирке и других операциях держать только за ребра, не касаясь их рабочих поверхностей.

Остававшуюся хромовую смесь используют многократно до полного расходования. При повторном использовании обработку предметных стекол начинают с освобождения их от иммерсионного и другого масла, применявшегося при работе иммерсией. Эти масла легко снимают с помощью эфира, ксилола, толуола, бензина. Дальнейшая обработка не отличается от уже описанной. За неимением хромовой смеси стекла кипятят в мыльном растворе. Затем с помощью щетки для рук их отмывают, тщательно прополаскивают сильной струёй водопроводной воды и протирают насухо чистым полотенцем или простой чистой тряпочкой. Для полного обезжиривания предметные стекла заливают смесью спирта с эфром 1:1 на 2-3 суток, можно и дольше - вплоть до употребления. Предметные стекла, предназначенные для фазово-контрастных исследований, стерилизуют при высокой температуре в термостате или духовом шкафу при температуре не ниже 70°C. Герметизируют предметные стекла, заклеивая их в бумажные пакеты по 5-10 шт.

2.ВЗЯТИЕ КРОВИ

Существует несколько методов взятия крови у рыб. Так, ее получают непосредственно из сердца с помощью шприца [11]. При этом инъекционную иглу, наклоненную в сторону головы, рекомендуется вводить по средней линии тела между грудными плавниками (рис.1). Из хвостовой артерии кровь берут иглой Франка. У сеголетков кровь получают из подкожной артерии также инъекционной иглой или пастеровской пипеткой. Прокол проводят в точке пересечения средней горизонтальной и вертикальной линии, идущей от передней части анального плавника (рис.2).

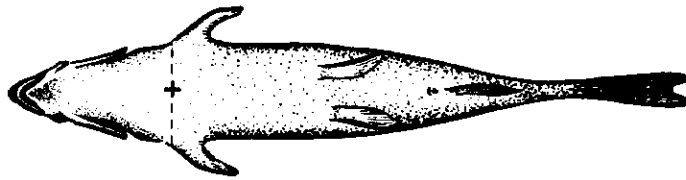


Рис. 1 Место введения иглы при взятии крови из сердца рыб по Кудрявцеву и др., 1969)

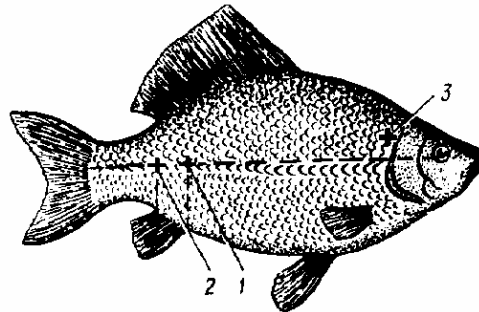


Рис. 2 Место прокола для получения крови и кроветворной ткани у рыб (по Кудрявцеву и др., 1969): 1- у сеголетков; 2- у рыб старшего возраста; 3 -место прокола для взятая кроветворной ткани у костистых рыб

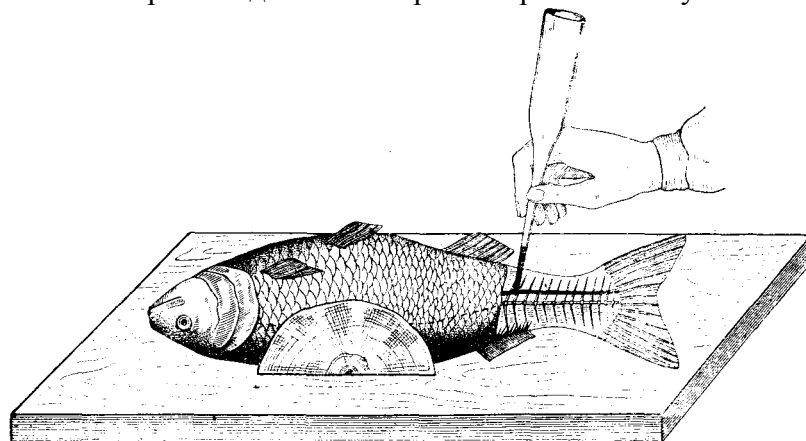


Рис. 3 Взятие крови у рыб.

У рыб старших возрастных групп кровь берут из хвостовой артерии. Иглу от шприца или пастеровскую пипетку вводят в точке пересечения средней продольной линии и линии, идущей перпендикулярно ей от задней границы анального плавника (см. рис. 2). Из жаберной и хвостовой артерии кровь забирают иглой от шприца или системы забора крови в зависимости от возраста рыбы. Позади анального плавника вытирают полотенцем покрывающую кожу слизь, в этом месте делают препаровальной иглой прокол кожи, в который вводят иглу или пастеровскую пипетку вглубь тканей под углом 45° по направлению несколько вперед к голове до встречи с позвоночным столбом. Здесь проходит ствол хвостовой артерии. Наклоненную вперед иглу вращают до поступления в нее крови. Во всех случаях полученную кровь переносят на часовое стекло, из которого ее берут микропипеткой для дальнейших анализов.

Кровь можно получить и путем отсечения хвостового стебля. Для при-

жизненного исследования кроветворной ткани рыб также используют шприц, снабженный прочной иглой с относительно широким просветом, или специальную иглу, применяемую в медицине для взятия костного мозга. У хрящевых и костных ганоидов кроветворные органы располагаются под крышей черепа над продолговатым мозгом в месте его перехода в спинной мозг. У костных рыб кроветворная ткань концентрируется в затылочной части черепа с внешней стороны. Так, у щуки кроветворные органы расположены от второго до шестого позвонка. В этой же области органы гемопоэза концентрируются у ряда различных представителей карповых и многих других костистых рыб. Они надежно защищены мышечной, соединительной и другими тканями.

Полученную каплю пунктата помещают на предметное стекло. Препарат изготавливают и обрабатывают подобно мазку сосудистой крови.

Свойства крови в зависимости от способа ее взятия. Состав крови рыб различается в зависимости от способа ее взятия. При пункции сердца получают венозную кровь в конце ее полного круга обращения. Из жаберной артерии получают ту же кровь, что и из сердца, но после ее обогащения кислородом в жабрах и частичного освобождения от метаболитов. Кровь, взятая пастеровской пипеткой из гемального канала хвостового стебля, — это артериальная кровь вместе с некоторой примесью венозной; при этом разрушаются хвостовая артерия, хвостовая вена и сосуды хвостовой мускулатуры. При взятии крови путем отрезания хвостового стебля к ней примешивается тканевая жидкость, что может исказить показатели. Так, в крови, взятой у карпов путем отсечения хвоста, была выше активность глутамат-токсало-ацетат-трансаминазы, лактат-дегидрогеназы; выше содержание креатина, неорганического фосфора; ниже активность кислой фосфатазы. Не зависят от способа взятия крови содержание белка, глюкозы, мочевины, холестерина, креатинина, магния, активность глутамат-пируват-трансаминазы, щелочной фосфатазы, лейцин-аминопептидазы, амилазы, холинэстеразы.

После взятия крови в количестве 1% от массы тела в плазме форели отмечено увеличение содержания калия и уменьшение общего белка, холестерина, фосфора, кальция, магния. Анализируемая кровь должна быть свежес выпущенной, жидкой. Для получения сравнимых результатов исследования необходимо проводить в сходных условиях. Общее количество крови у рыб варьирует от 1,1 до 7,3% [14].

Стабилизация крови, ее причины. Для предотвращения свертывания взятой крови применяют стабилизаторы. Кровь, лишенная способности свертываться, называется стабилизированной. Стабилизаторы устраняют ионы кальция и препятствуют образованию тромбина. При взятии крови для обработки инструментов используются следующие водные растворы: лимоннокислого натрия (цитрат) или щавелевокислого натрия (оксалат) - 0,2%-й, гепарин (антикоагулянт быстрого действия) — 1000 ЕД/мл. Гепарин используют для обра-

ботки гематокритных капилляров, и для этой же цели применяют раствор Геллера и Пауля: 1,2% оксалата аммония в смеси с оксалатом калия — 0,8%. Кроме того, можно применять с целью стабилизации раствор трилона Б.

При получении плазмы кровь сразу же смешивают со стабилизатором из расчета на 100 мл крови 0,3 г цитрата или 0,15 оксалата, однако лучше пользоваться гепарином (примерно 0,01%). Можно проводить стабилизацию полученной крови посредством омывания пробирок несколькими каплями трилона Б с последующей их просушкой. При обработке рабочих игл гепарином непосредственно перед взятием крови, как правило, дополнительных средств для стабилизации не требуется.

Сыворотку крови получают без стабилизации, когда образовался сгусток (фибрин + форменные элементы), путем ее отсасывания после отстаивания или центрифугирования. Сыворотка — это дефибрированная плазма. Быстрое отделение от клеточной массы — непереносимое условие максимального сохранения свойств плазмы (сыворотки).

Для полного отделения форменных элементов крови от плазмы на обычных центрифугах достаточно центрифугирования в течение 10 мин при 3000 об/мин. Используются и другие режимы с учетом фактора разделения.

Плазма имеет плотность 1,022-1,029 г/см³. Ее можно хранить несколько месяцев при температуре —20°С и до года - при температуре —80°С, однако при повторном замораживании и оттаивании происходит денатурация и выпадение в осадок белка. Следует учитывать, что верхний слой сыворотки после оттаивания и центрифугирования не содержит белка, а в нижнем его в 1,5-2 раза больше, чем в не замороженной. Этим можно пользоваться для его концентрирования.

Количество плазмы варьирует в зависимости от условий сезона.

Гемолиз и выход содержимого эритроцитов в плазму (сыворотку) происходит при ряде отравлений и заболеваний, стрессе рыб, длительном (более суток) хранении сыворотки на сгустке крови в обычном холодильнике, а также небрежном взятии и обращении с кровью и по другим причинам. Гемолиз искажает результаты электрофореза (усиление в области -глобулинов) увеличивает значение общего белка при рефрактометрии; изменяет показатели электролитного состава вызывает (даже следы) повышенное содержание ферментов. Во избежание гемолиза кровь разбавляют *физиологическими растворами* - чаще изотоничными растворами хлористого натрия различных концентраций.

Осмотическая резистентность эритроцитов (ОРЭ) такова, что в норме они выносят разбавление плазмы до солености, эквивалентной 0,33-0,39%-му раствору хлористого натрия.

3. ПОДСЧЕТ КРАСНЫХ И БЕЛЫХ КРОВЯНЫХ ТЕЛЕЦ

Для подсчета форменных элементов требуются счетная камера, смеситель для разбавления крови (или же пробирки с градуированными пипетками),

специальная игла для взятия крови, растворы для ее разбавления и спирт с ваткой для обеззараживания кожи.

Счетная камера состоит из толстого предметного стекла, на котором в середине приклеены три стеклянные пластинки. Средняя пластинка ниже боковых на 0,1 мм. Если на пластинки положить шлифованное покровное стеклышко, то между ним и средней пластинкой образуется пространство высотой 0,1 мм.

На поверхность средней пластинки нанесена тонкая сетка, которую можно видеть под микроскопом. Сетка составлена из мелких и более крупных квадратиков. Каждая сторона мелких квадратиков равняется 0,1 мм и, следовательно, площадь составляет $\frac{1}{400}$ мм². Площадь больших квадратиков, предназначенных для подсчета белых кровяных телец, составляет $\frac{1}{25}$ мм². Есть несколько видов счетных камер, которые различаются расположением на сетке больших и малых квадратов (рис.4). Площадь же маленьких и больших квадратов везде остается одинаковой.

В камере Тома каждый пятый ряд мелких квадратиков имеет дополнительную линию, проходящую по его середине. Благодаря этому каждые 16 маленьких квадратиков образуют как бы большой квадрат, площадь которого равна $1/20 \times 1,20 = 400$ мм². Сетка в камере Тюрка, кроме того, по углам имеет еще большие квадраты. В камере с сеткой Горяева мелкие и большие квадраты расположены отдельно на всем протяжении сетки, что гарантирует меньшую ошибку при подсчетах. Ошибка может происходить из-за неравномерного распределения кровяных телец в разных участках сетки.

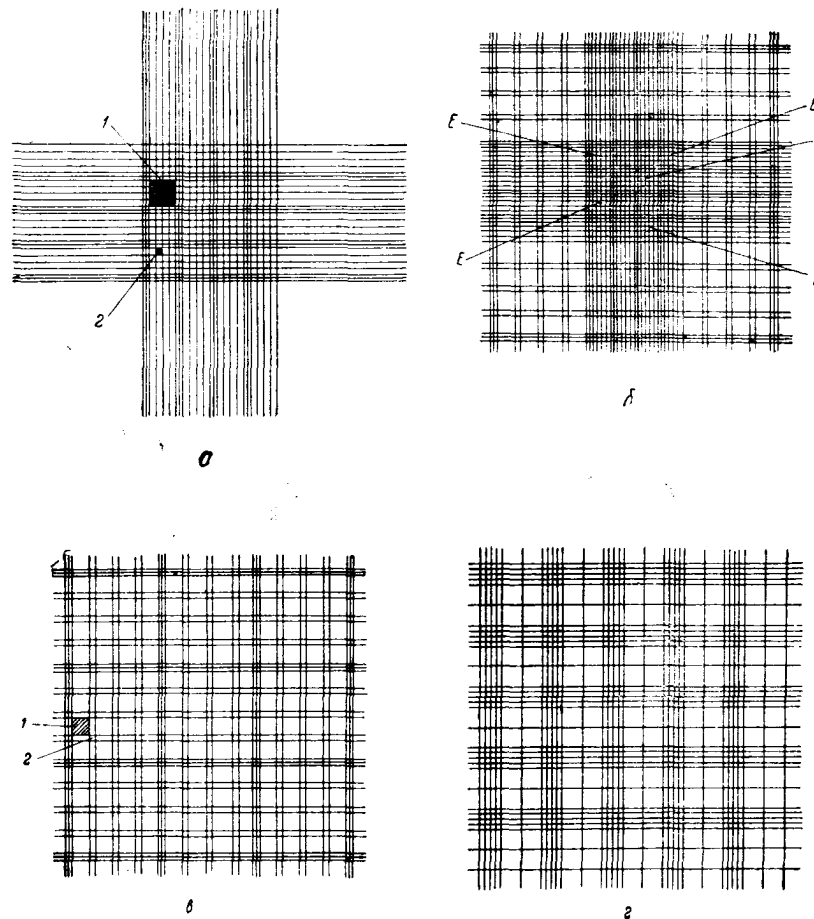


Рис. 4 Камеры для подсчета клеток крови : а) Тома: 1— большой квадрат, 2 - малый квадрат; б) Тюрка: Е - большие квадраты; в) Бюркера: 1—большой квадрат, 2 — малый квадрат; г) Горяева.

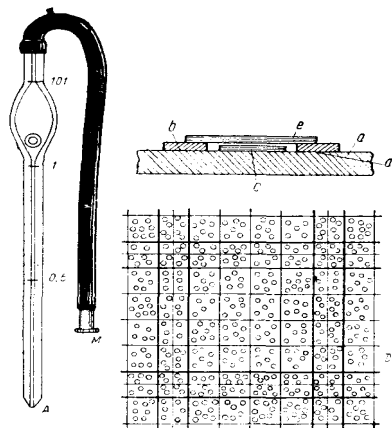


Рис. 5 Прибор для подсчета форменных элементов: Л — смеситель; М — резиновая трубка; а—счетная камера сверху; с, d —стеклянные пластинки, е— покрывное стекло, D— картина наполнённой камеры под микроскопом

Если под покрывное стекло ввести каплю жидкости, то она в силу капиллярности распределится по пространству между покрывным стеклом и средней пластинкой, имеющей сетку.

Рассматривая под микроскопом сетку, мы видим жидкость как бы разделенной на кубики высотой $\frac{1}{10}$ мм и площадью $\frac{1}{400}$ или $\frac{1}{25}$ мм²; следовательно, объем их будет равен $\frac{1}{4000}$ или $\frac{1}{250}$ мм³.

Перед подсчетом в камере кровь должна быть разбавлена, иначе кровя-

ные тельца располагаются настолько густо, что подсчитать их невозможно. Для подсчета эритроцитов обычно кровь взятую у рыб разбавляют в 200 (или 100), а для подсчета лейкоцитов в 10-20 раз специально приготовленными красителями. Разбавление проводят в смесителе для кровяных телец - меланжере (рис. 5), который представляет собой капиллярную трубочку с отметками, расширяющуюся далее в ампулу. Внутри расширенной части для облегчения смешивания имеется стеклянный шарик. Далее ампула вновь суживается в капилляр, на котором нанесена отметка. На этот конец смесителя для удобства насасывания крови и разбавляющего раствора надевают резиновую трубочку.

При подсчете количества лейкоцитов млекопитающих кровь разбавляют раствором уксусной кислоты, но этот способ не применим для определения количества лейкоцитов в крови рыб, так как ядра эритроцитов не растворяются в нем и затрудняют подсчет в камере, поэтому пользуются методом прижизненной - витальной окраски клеток крови. При этом отпадает необходимость разбавления эритроцитов и лейкоцитов в различных смесителях, красные и белые кровяные тельца могут быть подсчитаны в одной камере.

Для витальной окраски форменных элементов крови рыб применяют два раствора:

Раствор А:

Нейтральрот.	25 мг
Хлористый натрий	0,6 г
Дистиллированная вода	100 мл

Раствор В:

Кристалл-виолет	12 мг
Лимоннокислый натрий	3,8 г
Формалин	0,4 мл
Дистиллированная вода	100 мл

Растворы готовятся *ex tempore*, для лучшей растворимости каждый следующий компонент раствора добавляют после растворения предыдущего. Эти растворы нестойки. Раствором А можно пользоваться только одни сутки. Раствор В может храниться около недели.

Для разбавления крови применяют смеситель (меланжер), позволяющий разбавлять кровь в 100 раз. Кровь набирают до отметки 1,0. После этого в смеситель набирают раствор А до половины расширения смесителя (приблизительно), а затем кончик смесителя переносят в чашечку с раствором В и наполняют смеситель до отметки 101. После этого смесителю придают горизонтальное положение и вращают пальцами для перемешивания крови. Перемешивание нужно проводить в течение 1½—2 мин. После перемешивания крови с красками оставляют смеситель на 5—10 мин в покое, вновь перемешивают и затем, стряхнув, как обычно, первые 2—3 капли из смесителя, следующую каплю вносят в счетную камеру.

Кроме меланжерного способа, можно разводить кровь в пробирках. Пробирочный способ как более надежный был предложен Н.М.Николаевым. При этом способе меланжеры заменяются микропипетками и серологическими пробирками. Для забора крови используются микропипетки от гемометра Сали градуированные на 20 мкл. Кроме того, нужны 2 химические микропипетки объемом 2 мл.

Для разбавления крови в 200 раз заранее подготовленные серологические пробирки заливают 2 мл раствора А. В тот же раствор заливают кровь из пипетки гемометра, тщательно перемешав содержимое пробирки, добавляют в нее 1,98 мл раствора Б.

Для подсчета количества красных и белых кровяных телец у рыб лучше всего брать кровь из хвостовой артерии.

После разведения крови в 200 (или 100) раз подсчитывают форменные элементы.

Покровное стекло на пластинки счетной камеры следует наложить заранее; оно должно прилегать к боковым пластинкам как можно плотнее. В этом можно убедиться по появлению радужных полосок (ньютоновых колец). Если подвести каплю к покровному стеклу в том месте, где имеется пространство между ним и средней пластинкой, капля смеси заполнит пространство в силу капиллярности.

Эритроциты и лейкоциты, имеющиеся в смеси, спустя несколько минут осядут на дно сетки.

Далее счетную камеру ставят под микроскоп, находят сетку и подсчитывают эритроциты в каждом малом квадратике. В эритроцитах слабо окрашены только ядра. Ядра лейкоцитов окрашиваются в темный фиолетово-красный цвет, а протоплазма их - в розоватый цвет. Благодаря этому эритроциты и лейкоциты в камере легко отличимы.

Тельца, расположенные на линиях квадрата, подсчитывают так: эритроциты, лежащие на верхней и левой линии, причисляют к общему количеству; эритроциты, лежащие на правой и нижней линии квадрата, не считают, так как их подсчитывают в соседних квадратах. Всего просматривают 80 малых квадратиков, суммируют просчитанные клетки, получают среднюю и умножают на разведение (100 или 200) и на 4000.

Лейкоциты подсчитывают в той же счетной камере, что и эритроциты, но не в малых, а в больших квадратах. Площадь этих квадратов, как уже указывалось, равна $\frac{1}{25}$ мм². Подсчитывают 5—6 квадратов. Полученное среднее число умножают на 250 и на разведение.

4. ИЗГОТОВЛЕНИЕ МАЗКОВ, ФИКСАЦИЯ, ОКРАСКА ПРЕПАРАТОВ

Изготовление мазков. Для изготовления тонкого мазка крови на край предметного стекла наносят небольшую каплю крови, перед которой ставится

под углом 45° другое отшлифованное стекло, которое отодвигают назад до соединения с каплей крови так, чтобы она растеклась между краем шлифованного и поверхностью предметного стекла. Затем медленным движением производят мазок. Чтобы он был равномерным, большой и указательный пальцы, скользя по краям предметного стекла, должны слегка опираться на них. При таком положении рука достигает достаточной устойчивости и мазок получается равномерным. Считают, что при правильном изготовлении препарата (рис. 6) мазок должен заканчиваться, не достигая 1,5-2,0 см до края стекла.

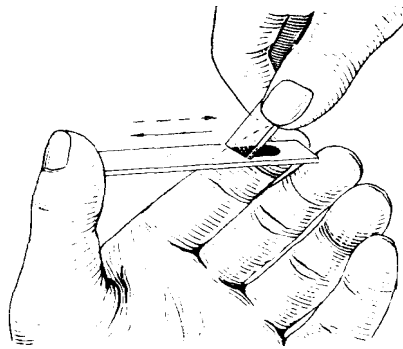


Рис. 6 . Получение мазка крови.

Изготовление отпечатков органов, исследуемых на кроветворную функцию. Для получения отпечатков органов, исследуемых на гемопоэз, берут небольшое количество ткани из разных частей исследуемого органа. Перед изготовлением препарата кусочек почки или другого кроветворного органа, осушают с помощью фильтровальной бумаги, марлевой салфетки или бинта. Затем орган по линии разреза легко и осторожно многократно прикладывают к предметному стеклу. Из жаберных лепестков сначала производят соскоб скальпелем, а затем делают мазок. При этом надо помнить, что только на тонких мазках можно хорошо видны все морфологические особенности клеток. На толстых препаратах форменные элементы крови высыхают медленно и поэтому деформируются, а следовательно, и трудно поддаются определению. Чаще всего на толстом мазке ничего нельзя разобрать. Только на тонком препарате можно хорошо рассмотреть все морфологические особенности форменных элементов крови. Для любого вида морфологического исследования от каждого органа следует брать не менее 2-3 мазков или отпечатков органов гемопоэза. На каждом препарате с обратной стороны специальным карандашом по стеклу отмечают порядковый номер, название органа, дату. Длину тела рыбы, массу и другие данные заносят в полевой журнал.

Фиксация препаратов. Подписанные мазки крови и отпечатки органов, исследуемых на кроветворную функцию, ставят в специальные штативы для просушки, после чего производят фиксацию и окраску препаратов. В качестве фиксаторов используют жидкости типа Май-Грюнвальд, Лейшман, этиловый и

метиловый спирт и др. Хорошо просушенные препараты попарно мазками наружу ставят на узкое ребро стекла в небольшой прямоугольный, иногда в округлый сосуд или специальные стаканчики и заливают готовым не разведенным фиксатором. Через 3-5 мин препараты освобождают от фиксатора и споласкивают дистиллированной водой. После этой операции докрашивают азур-эозином по Романовскому - Гимза. При массовой окраске препаратов используют большие кюветы.

Окраска препаратов. Окраску, как и фиксацию препаратов следует проводить сразу после изготовления и просушки мазка. Готовый краситель азур-эозин, по Романовскому, предварительно разбавляют дистиллированной водой из расчета одна капля красителя на 1 мл дистиллированной воды. Время окраски 20-30 мин. После окраски препараты хорошо прополаскивают сначала дистиллированной, а затем простой водой и снова ставят в штативы для просушки. Рабочий раствор красителя готовят непосредственно перед употреблением. Для выявления зернистости на ранних стадиях развития гранулоцитов пользуются особой окраской - пероксидазной реакцией, по методу Сато и Секиа или по Грехему и Кнолю. В последнем случае лимфоциты не окрашиваются. Моноциты дают слабую положительную реакцию. С помощью этой реакции отличают молодые формы гранулоцитов от молодых форм лимфоцитов, а также взрослых лейкоцитов. В качестве фиксатора при этой реакции служит раствор, состоящий из одной части 40%-го раствора формалина и 9 частей 95° спирта-ректификата.

Реактив состоит из 2,1 мл 40%-го раствора этилового спирта с добавлением 2,9 мл воды и 0,02 мл 3%-го раствора перекиси водорода и нескольких крупинок бензидаина до получения желтого цвета (в случае помутнения реактива при хранении в него добавляют 0,1 мл спирта). Время, необходимое для фиксации, 5 мин. По истечении указанного времени препарат освобождают от фиксатора и помещают в реактив, чаще всего реактив наливают прямо на препарат в количестве 1-2 капель. Через 4-6 мин мазки, докрашивают жидкостью Лейшмана [8].

Готовые сухие препараты перекладывают бумагой каждый в отдельности. При длительном хранении их складывают на ребра в специально приготовленные коробки, так как в таком виде их лучше и безопаснее транспортировать. Хранят препараты в темном месте. При этом надо помнить, что они не только бьются, но и могут прийти в негодность и при резкой смене температур. Поэтому при перенесении материала с холода в тепло не надо спешить с распаковкой, в противном случае пары воды будут осаждаться на стекло и произойдет гемолиз клеток. Следует помнить, что при окраске препаратов как крови, так и органов гемопоэза большое значение имеет качество воды. Хорошо окрашенные мазки и отпечатки получаются только в том случае, когда реакция воды будет нейтральной или слабощелочной. Реакцию воды определяют с помощью кристаллов гематоксилина. Для этого наливают в обыкновенную пробирку не более 10 мл воды и бросают в нее 1-2 кристаллика гематоксилина.

Немедленное окрашивание воды в розовый цвет указывает на ее щелочность. Если вода окрасится позже чем через 5 мин, реакция ее кислая. В том случае, если после опускания кристаллика гематоксилина вода начнет окрашиваться не раньше чем через 1 мин и не позже чем через 5 мин, она пригодна для работы. Если реакция воды кислая, её можно нейтрализовать 1%-м раствором пищевой соды, прибавляя жидкость по каплям сначала к небольшому объему воды, а затем расход содового раствора переводится на весь запас. Нейтрализуют воду под контролем гематоксилина. При щелочной реакции вода принимает оранжевый оттенок, при слабокислой - рубиновый. Для нейтрализации воды часто пользуются жидкостями состоящими из буферных фосфатов. Подробная таблица расчет соотношений смеси растворов фосфатов для нейтрализации воды приведена в книге А.А. Кудрявцева и др. (1969).

5.ТЕХНИКА МИКРОСКОПИРОВАНИЯ

Микроскопируют окрашенные препараты под обыкновенным световым микроскопом МБИ-1, МБИ-2 и др. с применением иммерсионного объектива. Наибольшая четкость изображения достигается при использовании окуляра x7, а разрешающая способность увеличивается с применением окуляра x15 и более. Удобен при камеральной обработке гематологического материала большой биологический бинокулярный микроскоп с наклонным тубусом. Исследуют мазки при дневном свете с применением плоского зеркала или и использованием электрической подсветки с светофильтром. Вогнутым зеркалом пользуются при искусственном освещении (рекомендуется при микрофотографии и другой микроскопии с большими увеличениями). Осветителями служат ОИ-24 и ОИ-Ти др. Микрофотографирование производят с помощью микрофотонасадок различных конструкций: МФН-1, МФН-12 и др., а также с помощью специального микроскопа с вмонтированным в него фотоаппаратом (модель "Ультрафот" Цейса) и др. Нужные зарисовки делают с помощью рисовального аппарата, который прикрепляют к верхней части тубуса микроскопа. Благодаря наличию особой кубической линзы, состоящей из двух прямоугольных линз, склеенных особым образом, видимое исследователем изображение сбрасывается на бумагу, расположенную на рабочем столе рядом с микроскопом, или же на особую подставку, покрытую бумагой. При таком положении увеличенные контуры изучаемого предмета можно довольно точно обвести карандашом. Для установления правильного соотношения освещенности бумага и аппарата служат сменные светофильтры, заключенные в барабане рисовального аппарата. Из других приспособлений к обыкновенному световому микроскопу удобно поставить окуляр с указательной стрелкой. Можно рекомендовать бинокулярную насадку, фазово-контрастное устройство и др.

6.ПОДСЧЕТ СООТНОШЕНИЯ ОТДЕЛЬНЫХ ВИДОВ

ЛЕЙКОЦИТОВ КРОВИ (ЛЕЙКОЦИТАРНАЯ ФОРМУЛА)

Техника подсчета лейкоцитарной формулы заключается в приготовлении мазка крови, его окраске и подсчете различных форм лейкоцитов в мазке. Мазок делают на тщательно вымытом и обезжиренном (путем погружения в смесь спирта с эфиром) предметном стекле. Чтобы сделать мазок, берут в правую руку чистое покровное стеклышко, касаются одним краем капли крови и, затем, наклонив его на 45° , приводят в соприкосновение с предметным стеклом. Капля крови растекается в силу капиллярности по краю покровного стекла. После этого покровное стекло ведут вдоль предметного. Необходимо, чтобы капля крови тянулась за покровным стеклом, а не находилась впереди его. Мазок не должен быть ни слишком тонким, ни слишком толстым.

После того как мазок подсохнет, его фиксируют, опуская на 3 минуты в метиловый спирт. Осушив мазок от спирта, его окрашивают.

Для окраски препаратов краску Романовского разводят дистиллированной водой из расчета 1—2 капли краски на 1 мл воды. Вода должна иметь pH 7. Для этой цели к дистиллированной воде добавляют фосфатный буфер. Краску разводят непосредственно перед окраской. Затем разведенную краску берут пипеткой и покрывают ею зафиксированный мазок. В зависимости от температуры воздуха и от качества краски мазок окрашивают от 2 до 40 мин. После этого краску сливают, мазок промывают водопроводной водой и высушивают, осторожно промокая фильтровальной бумагой.

Мазок рассматривают под микроскопом с иммерсией. Для получения правильных результатов подсчет ведут по краям мазка зигзагообразно (от края мазка вглубь на три-четыре поля зрения и обратно).

Всего подсчитывают 200 лейкоцитов, по 50 шт. на четырех краях мазка.

Все обнаруженные формы лейкоцитов записывают в таблицу, а затем суммируют в отдельности по формам. Для удобства записи и последующего расчета встречающиеся формы лейкоцитов отмечают в специальной таблице, составленной по следующему образцу.

Каждый раз встречая в мазке какую-нибудь форму лейкоцита, отмечают её в соответствующей строке палочкой. Записав 10 лейкоцитов в вертикальной графе, начинают запись в следующей вертикальной графе. Верхняя цифра в вертикальной графе показывает сумму подсчитанных лейкоцитов. После того как все 12 вертикальных граф будут заполнены, подсчитывают количество отдельных лейкоцитов каждой формы и определяем их соотношение в процентах.

7. ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОЛИЧЕСТВА ГЕМОГЛОБИНА

Гемоглобин относится к группе хромопротеидов, то есть белков, содержащих окрашенную простетическую группу. Он содержится в эритроцитах, составляя около 32% от их массы. Основной функцией гемоглобина крови является перенос кислорода от органов дыхания к тканям благодаря его способ-

ности образовывать легко диссоциирующие соединения с кислородом.

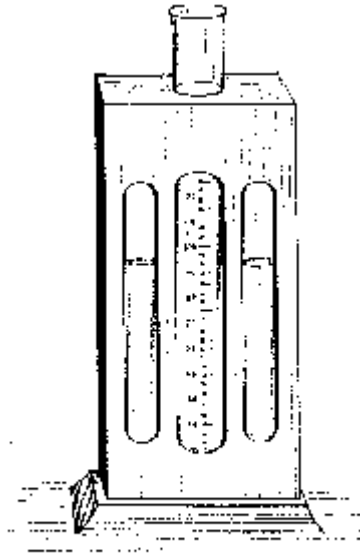


Рис. 7 Гемометр Сали

Наиболее простым способом определения количества гемоглобина в крови является колориметрический метод Сали. Гемометр Сали состоит из черной деревянной оправы и трех пробирок, вставленных в нее. Крайние пробирки запаяны и содержат раствор гемина (соляно-кислого гематина). Средняя пробирка служит для исследуемой крови. Она имеет деления, нанесенные на стенке. К гемометру приложена пипетка, служащая для взятия крови. Черта, имеющаяся на пипетке, указывает объем 20 мм^3 (рис. 7).

Количество гемоглобина определяют следующим образом. Капельку крови набирают в пипетку до черты (20 мм^3) и переносят в среднюю градуированную пробирку прибора, куда заранее налит (приблизительно до деления 10) $0,1\text{N}$ раствор HCl . Кровь из пипетки выпускают в раствор кислоты. При этом в пипетку несколько раз всасывают и опять выпускают раствор, находящийся в пробирке, чтобы удалить остатки крови со стенок пипетки.

Под влиянием раствора соляной кислоты гемоглобин крови переходит в гемин, буреет и приобретает ту же окраску, что и стандартный раствор в боковых пробирках. После этого в среднюю пробирку добавляют дистиллированную воду по каплям до тех пор, пока интенсивность окраски не будет одинакова с цветом стандартного раствора. После этого градуированную пробирку вынимают и смотрят, до какого деления доходит в ней жидкость. Это деление указывает на содержание гемоглобина в процентах. В гемометрах Сали, выпускаемых в настоящее время 100% , соответствуют содержанию 16 г гемоглобина в 100 г крови. Нормой для человека считается: для мужчин $80\text{—}90\%$, для женщин $70\text{—}80\%$. Для крови пресноводных рыб норма $30\text{—}50\%$.

8. ОПРЕДЕЛЕНИЕ СТОЙКОСТИ ЭРИТРОЦИТОВ К ГИПОТОНИЧЕСКИМ РАСТВОРАМ (ГЕМОЛИЗ)

Красные кровяные тельца способны длительное время сохраняться в изотоническом растворе NaCl . Однако они остаются не разрушенными не только в изотоническом растворе, но и в слабогипотонических растворах. Например, эритроциты человека еще остаются целыми в растворах $0,6\text{—}0,8\%$ NaCl , в то время как изотоническим является примерно $0,95\%$ -й раствор NaCl . При концентрации около $0,4\%$ NaCl разность осмотических давлений внутри телец и в наружной среде становится настолько значительной, что красные кровяные тельца разрушаются (гемолиз). Граница, при которой происходит гемолиз, различна в зависимости от вида животного и от физиологического состояния ор-

ганизма. Кроме того, не все кровяные тельца одного и того же животного разрушаются при одинаковой концентрации NaCl. У здорового человека часть телец начинает разрушаться уже в 0,5%-м растворе NaCl, а полный гемолиз наступает в 0,3—0,4%-м растворе NaCl.

Для опыта берут 10 пробирок. В первую наливают 10 мл 1%-го раствора NaCl, во вторую 9 мл, в третью 8 мл и т. д., снижая в каждой следующей пробирке количество раствора на 1 мл. В десятую пробирку наливают 10 мл чистой дистиллированной воды. Затем в каждую из остальных пробирок добавляют до 10 мл дистиллированной воды. Таким образом мы будем иметь ряд растворов, концентрация хлористого натрия в которых будет составлять 1; 0,9; 0,8; 0,7 % и т.д., вплоть до чистой воды. После этого в каждую пробирку прибавляют по капельке крови и перемешивают с раствором. Минут через 30 можно наблюдать, что в дистиллированной воде и сильногипотоничных растворах жидкость станет прозрачной и окрашенной в слабо-розоватый цвет, а в изотоническом растворе и слабо гипотоничных растворах она останется мутноватой из-за наличия неразрушенных эритроцитов. Отмечают концентрацию NaCl, при которой начинается гемолиз, и концентрацию, при которой происходит разрушение всех кровяных телец (полный гемолиз).

9.ОПРЕДЕЛЕНИЕ СКОРОСТИ ОСЕДАНИЯ ЭРИТРОЦИТОВ (СОЭ)

Сами по себе эритроциты оседают потому, что имеют больший удельный вес, чем плазма. Однако скорость их оседания варьирует в значительной степени в зависимости от ряда условий. Прежде всего поверхность каждого эритроцита несет определенный электрический заряд, и так как эти заряды одноименны, то чем больший заряд имеют эритроциты, тем более они отталкиваются друг от друга и тем медленнее оседают. Эритроциты имеют отрицательный заряд. На величину этого заряда могут оказывать влияние белки плазмы. Так, например, сывороточные глобулины, имеющие положительный заряд, способны адсорбироваться на поверхности эритроцитов, уменьшать заряд и ускорять их оседание. Кроме того, на скорость оседания оказывают известное влияние количество, величина и форма эритроцитов, содержание в них гемоглобина. Ускоряющим образом на оседание эритроцитов действует также сдвиг pH крови в кислую сторону, увеличение количества холестерина в плазме и уменьшение вязкости плазмы.

Ввиду того, что всякие отклонения от нормального физиологического состояния организма сопровождаются изменением указанных факторов, скорость оседания эритроцитов при этом будет изменяться.

Например, при различных инфекционных заболеваниях, в особенности, при воспалительных реакциях, скорость оседания значительно возрастает. Скорость оседания может также изменяться и при нормальных изменениях физиологического состояния организма, например, во время беременности у че-

ловека и млекопитающих животных, в нерестовый период у рыб.

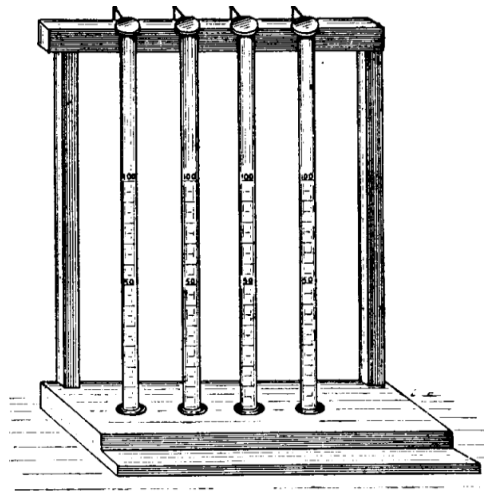


Рис.8. Прибор Панченкова

Скорость оседания эритроцитов определяют в аппарате Панченкова (рис. 8). Этот аппарат состоит из четырех капиллярных трубочек, укрепленных вертикально в стойке. На трубочках имеются миллиметровые деления (от 1 до 100) и сделаны две отметки: Р (раствор) и К (кровь). Перед определением стенки капилляра смачивают буферным раствором лимонно-кислого натрия; для этого в капилляр набирают раствор, а затем выпускают обратно. После этого вновь набирают в капилляр раствор лимонно-кислого натрия до отметки Р и выпускают его на чистое часовое стеклышко. Далее в капилляр набирают кровь до отметки К два раза и оба раза выпускают на то же часовое стеклышко. Затем кровь смешивают с раствором.

Полученную смесь набирают в тот же капилляр до отметки 100. При этом нужно тщательно следить, чтобы в капилляр не попали пузырьки воздуха или загрязнения. Наполненный капилляр ставят в стойку и через час отмечают деление, до которого осели эритроциты.

Нормальная скорость оседания у человека 6—8 мм за 1 час. У рыб (осетровых) скорость оседания у самцов 3—5, у самок 5—10 мм за 1 час.

10. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФАГОЦИТАРНОЙ СПОСОБНОСТИ ЛЕЙКОЦИТОВ КРОВИ

Одним из главных свойств лейкоцитов является способность к фагоцитозу. Лейкоциты поглощают микроорганизмы и инородные частицы, попадающие в организм животного. Таким образом организм животного освобождается от болезнетворных микробов и посторонних частиц, вредящих тканям. Захваченные лейкоцитами микробы перевариваются под влиянием ферментов, находящихся в лейкоцитах, а инородные посторонние частицы переносятся лейкоцитами и удаляются из организма вместе с выделениями тела. Поглощение микробов и посторонних частиц можно наблюдать и на переживающих лейкоцитах, находящихся в пробирке.

Наиболее просты и удобны следующие методы исследования фагоцитоза.

Метод Платонова (видоизмененный Голодец Г.Г.). В специальные короткие пробирки емкостью 2—3 мл с длинным оттянутым нижним концом вводят смесителем для белых кровяных телец 1 объем разбавленной в 10 раз крови. Для этой цели нужно насосать кровь в смеситель до отметки 1, а затем до отметки 11 насосать физиологический раствор (0,95%-й NaCl). Затем тем же смесителем в пробирку вводят равный объем физиологического раствора. После этого этим же смесителем в пробирку добавляют 1 объем взвеси микробов кишечной палочки в физиологическом растворе, смытый с агаровой культуры.

Содержимое пробирки тщательно перемешивают и помещают на 25 мин. в термостат при температуре 37°C. Чтобы кровяные тельца не оседали, пробирки помещают наклонно в зажимы, укрепленные на ось моторчика Уоррена (делающего 2—3 оборота в минуту).

Через 25 мин. пробирки вынимают из термостата и в каждую прибавляют по 1 капле 1%-го раствора осмиевой кислоты для приостановки фагоцитоза. После этого пробирки центрифугируют в течение 3 мин при частоте оборотов не свыше 1000 в минуту. В результате этого красные кровяные тельца, как наиболее тяжелые, попадают в нижнюю часть узкого конца пробирки, а сверху располагается слой лейкоцитов в виде тонкой белесоватой пленки.

Верхний прозрачный слой жидкости отсасывают пастеровской пипеткой до поверхности осевших форменных элементов. Затем этой же пипеткой отсасывают верхний слой лейкоцитов, переносят на предметное стекло и делают мазок. Чтобы не повредить лейкоциты, покровное стекло при проведении мазка следует держать несколько навесу, не касаясь его краем предметного стекла. При достаточной величине капли это не составляет затруднения.

Мазок затем высушивают и фиксируют 3 мин метиловым спиртом. Далее мазок окрашивают по Романовскому. Кишечная палочка окрашивается в темно-фиолетовый цвет и легко различима в протоплазме лейкоцитов. Окрашенный мазок рассматривают под микроскопом с иммерсией и отмечают количество кишечных палочек, захваченных каждым полиморфноядерным лейкоцитом.

Подсчет необходимо делать в четырех местах мазка. Принимают в расчет только те микробы, которые захвачены лейкоцитами внутрь протоплазмы, а не прилегают к лейкоциту извне. Для удобства записи вычерчивают таблицу из 200 клеток. В каждую клетку записывают число микробов, захваченных одним лейкоцитом. При подсчете учитывают и не фагоцитировавшие лейкоциты, ставя в очередную клеточку таблицы 0. После просчета 200 лейкоцитов находят общую сумму захваченных этими лейкоцитами микробов. Полученное число выражает силу фагоцитоза данной крови.

Метод Пучкова и Титовой. Лейкоциты поглощают не только микробы, но и частицы инородных веществ. Поэтому можно наблюдать фагоцитоз, прибавляя к крови вместо микробов взвесь мелких частиц какого-либо индифферентного вещества. Преимущество этого способа по сравнению с описанным выше заключается в легкости подсчета.

Для фагоцитоза используют взвесь зернышек кармина. Эту взвесь готовят заранее: 1 г кармина (накарат) растирают в фарфоровой ступке с небольшим количеством физиологического раствора в течение 15 мин. После этого растертый кармин смывают физиологическим раствором в коническую колбу емкостью 200—250 мл и доводят объем жидкости до 150 мл. Взвесь кармина взбалтывают и оставляют до тех пор, пока не осядет кармин.

Затем верхний слой жидкости, образовавшийся над осевшим кармином и окрашенный в красный цвет, отсасывают пипеткой с помощью резиновой груши. Раствор доводят до прежнего объема, взбалтывают и снова после осаждения кармина отсасывают верхний слой жидкости. Так поступают несколько раз, чтобы освободить раствор от слишком мелких коллоидных частиц краски. Приготовленная взвесь сохраняется месяцами и даже годами, и ее можно употреблять очень долгое время.

Взвесь кармина взбалтывают за день до опыта. На другой день в колбе со взвесью сверху образуется прозрачный слой жидкости, более или менее резко отграниченный от верхнего слоя еще не осевших зернышек кармина. Пастеровскую пипетку вводят в жидкость на 2 см ниже верхнего слоя оседающих зернышек кармина и насасывают необходимое количество жидкости.

Полученная таким образом взвесь содержит однородные по размеру частицы кармина диаметром 2—4 микрона. Содержимое пипетки переносят в чашечку или пробирку и разбавляют в 20 раз. После этого в пробирку для фагоцитоза (такого же образца, как и в опыте с фагоцитозом микробов) отмеривают 0,6 мл приготовленной взвеси кармина и сюда же затем прибавляют пипеткой от гемометра 20 мм³ исследуемой крови. Содержимое пробирки перемешивают, укрепляют в держалку моторчика Уоррена, расположенного в термостате, и оставляют при температуре 37° на 1,5 ч.

По истечении этого срока пробирки вынимают из термостата, прибавляют каплю 1%-го раствора осмиевой кислоты, центрифугируют и из осевших кровяных телец делают мазок, как было описано выше.

После того как мазок подсохнет, его фиксируют 3 мин в метиловом спир-

те, а затем окрашивают 1%-м водным раствором метиленовой синьки в течение 30 с. Чтобы смыть лишнюю краску, мазок опускают на короткое время в водопроводную воду и высушивают, промокнув фильтровальной бумагой.

При рассматривании мазка под микроскопом хорошо видны окрашенные в голубой цвет лейкоциты и на голубоватом фоне их протоплазмы резко выделяются буровато-красные зернышки и глыбки кармина. Эритроциты при этом почти не окрашиваются.

Фагоцитированные зернышки кармина подсчитывают таким же способом, как и при фагоцитозе микробов.

Библиография

1. Бауер О.Н. Взаимоотношения между паразитами и хозяевами (рыбами)//Основные проблемы паразитологии рыб.-Л.,1958.-С.90-108.
2. Беспалый И.И. Жаберная гниль карпа и меры борьбы с ней.-Киев: Изд-во АН УССР, 1950.-42 с.
3. Возный Н.Е., Ивасик В.М. Некоторые морфологические и биохимические показатели крови карпов и сазано-карповых гибридов при инвазии паразитами//Вестник зоологии.-1974.-С.40-45.
4. Головин Н.П., Головина Н.А. Некоторые вопросы цитогенеза при газопузырьковой болезни// Материалы 2-й регион. конф. по паразитам и болезням рыб и мерам борьбы с ними в Казахстане и республиках Средней Азии.-Алма-Ата,1977.-С.68-69.
5. Головина Н.А. К морфологии белой крови двухлетних карпов// Тр. ВНИИПРХ.-1976.-Т.26.-С.48-53.
6. Головина Н.А., Поддубная А.П., Манкирова В.Б. Влияние некоторых заболеваний на гематологические показатели// Вестник зоологии.-1977.- №5.-С29-33.
7. Заварзин А.А., Щелкунов С.С. Руководство по гистологии.-М.: Медгиз,1954.-698 с.
8. Иванова Н.Т. Атлас клеток крови рыб (сравнительная морфология и классификация форменных элементов крови рыб).-М.: Легкая и пищевая пром-сть, 1982.-184 с.
9. Канаев А.И. Кариофиллоз карпа: Автореферат дисс... канд.биол.наук.-М., 1956.-16 с.
10. Капустина Н.И. О паразито-хозяйных отношениях в системе *Khawia sinensis* – карп при невысоких интенсивностях инвазии //Тр.ВНИИПРХ.-1978.-Т.27.-С.75-87.
11. Кудрявцев А.А., Кудрявцева Л.А., Привольный Т.И. Гематология животных и рыб.-М.,Колос.-1969.-320 с.
12. Маргаритов И. Исследования на някои хематологични показатели на двухлетен шаран болен от бранхионкроза//Рибностопанство.-1973.-№2.-С.5-8.
13. Метелев Б.В. Картина крови карпа при гнойно-некротическом воспалении плавательного пузыря//Тез. докл.IV Всесоюз. совещ. по болезням рыб.-Л., 1963.-С.67-69.
14. Наумов И.П., Корташев И.Ю. Зоология позвоночных.-М.:Высш. шк.,1979.-381 с.
15. Остроумова И.Н. Показатель крови и кроветворение в онтогенезе рыб//Изв.ГосНИОРХ.-1957.- Т.43, №3.-С.69.
16. Пищенко Е.В., Ефанова Н.В., Бакшеев А.Ф. Характеристика лейкоцитов у двухлетков алтайского зеркального карпа седьмого поколения селекции //Состояние водных экосистем Сибири.-Томск, Томский гос. ун-т, 1998, - С.239-240.
17. Решетникова А.В. Об изменении крови сазана при заражении ихтиофтириусом//Науч.-техн. бюл./ ГосНИОРХ.-1962.- №15.-С.71-73.
18. Садовская О.Д. Изменение лейкоцитарной формулы карпа при инвазии// Работы по гельминтологии к 80-летию акад. И.И.Скрябина.-М.,1967.-С.320-321.
19. Суворов Е.К. Основы ихтиологии.-М.,Советская наука,1948. - 557 с.
20. Терентьева Э.И., Шишканова З.Г. Атлас ультраструктуры клеток кроветворной ткани.-М.:Медгиз.- 1972.-134 с.
21. Тодоров Иордан. Клинические лабораторные исследования в педиатрии.-София.: Медицина и физкультура,1959.-553 с.
22. Турдыев А.А. Ультраструктура гранулоцитов карповых рыб// Архив анатомии, гистологии, эмбриологии.-1975.-№2(19),т.58.-С.75-79.
23. Черникова В.В. Гематологическая характеристика зимующего сеголетка карпа/ Изв. ГосНИОРХ.- 1974.-Т.88.- С.109-135.
24. Чечина А.С., Буянова М.Н. К вопросу о изучении так называемого воспаления плавательного пузыря//Тез. докл. XII науч. конф. по изучению внутр. водоемов Прибалтики.-

- Вильнюс, 1968. - С.70-72.
25. Шмальгаузен И.И. Основы сравнительной анатомии.-М.: Советская наука, 1947.-539 с.
 26. Шмидт Г.А. Эмбриология позвоночных.-М.:Советская наука,-1953.-403 с.
 27. Шполянская А.Ю. Воспаление плавательного пузыря у сеголетков и годовиков карпа//Сб.докл. преп. с.-х. вузов РСФСР по пруд. рыб.-М.,1964.-С.111-115.
 28. Deansley R. The structure and development of the thymus in fish, with special reference to *Salmo farrio*//Q.Jl. microsc.Sci.71,1927.-P.113-145.
 29. Ellis A.E. The leukocytes of fish// J.Fish.Biol.-1977.-P.453-491.
 30. Gottlieb A.A., Woldman S.R. The multiple function of macrophages in immunity// Macrophages and Cellular immunity/London.: Butterworths,-1972.- P.13-44.
 31. Turpen J.B., Volve E.P., Cohen N. Ontogeny and perioxid of thimiclimphocytes//Since.-1972.- №182.-P.931-933.

СОДЕРЖАНИЕ

I. КРОВЬ, ЕЁ СОСТАВ И ОСНОВНЫЕ ФУНКЦИИ.....	5
Морфология системы крови	5
Гемопоз и классификация форменных элементов крови рыб	8
Клеточные элементы зернистого ряда	11
Клеточные элементы лимфоидного ряда	13
Клеточные элементы моноцитоидного ряда	15
Клеточные элементы эритроидного ряда	15
Клеточные элементы тромбоцитоидного ряда	16
Морфология клеток крови карпа <i>Cyprinus carpio</i> (L.)	17
в норме и при заболеваниях	17
Состав и морфология клеток крови у здорового карпа.....	17
Морфологическая характеристика клеток белой крови карпа.....	19
Патологические структурные изменения в клетках крови	21
Сапролегниоз икры карпа	22
Бранхиомикоз двухлетков карпа	22
Воспаление плавательного пузыря (ВПП)	23
Ихтиофтириоз сеголетков карпа	24
Хилодонеллез сеголетков карпа	24
Дактилогироз карпа	25
Кавиоз сеголетков карпа	25
Газопузырьковая болезнь карпа	26
II. МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЙ КРОВИ РЫБ	26
1.Оборудование.....	26
2.Взятие крови.....	27
3. Подсчет красных и белых кровяных телец	30
4. Изготовление мазков, фиксация, окраска препаратов	34
5.Техника микрофотоирования.....	37
6.Подсчет соотношения отдельных видов лейкоцитов крови (лейкоцитарная формула).....	37
7. Определение количества гемоглобина	38
8.Определение стойкости эритроцитов к гипотоническим растворам (гемолиз)	39
9.Определение скорости оседания эритроцитов (СОЭ)	40
10. Определение фагоцитарной способности лейкоцитов крови.....	42
Библиография.....	45

Пищенко Елена Витальевна

Гематология пресноводной рыбы

Учебное пособие

Редактор Н.К. Крупина

Компьютерная верстка Пищенко Е.В.

Подписано в печать..... 2002 г.

Формат 60x84 1/16. Объем 2,9 уч.-изд.л.

Тираж 100 экз. Изд №96. Заказ №

Отпечатано в ИЗОП

630039. Новосибирск, ул. Добролюбова, 160.