

**АКТИВНОЕ УЧАСТИЕ ПЕЧЕНИ В РЕАКЦИИ ОРГАНИЗМА
ЛЕЩА *Abramis brama* ПРИ ИНФИЦИРОВАНИИ
ТРИПАНОСОМАМИ РОДА *Trypanosoma***

© 2022 г. Т. Б. Лапирова*

*Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина Российской академии наук,
пос. Борок, Некоузский р-н, Ярославская обл., Россия*

**e-mail: ltb@ibiw.ru*

Поступила в редакцию 23.06.2021 г.

После доработки 05.11.2021 г.

Принята к публикации 08.11.2021 г.

Приведены данные биохимического анализа ткани печени зараженного трипаносомами леща *Abramis brama* L. Установлено, что присутствие паразитов вызвало изменения исследованных параметров (концентрации общего белка, иммунных комплексов, глюкозы и гликогена) по сравнению со здоровыми рыбами. Выявленные различия были статистически незначимы. В целом, характер изменений указывает на некоторое снижение пластических и энергетических ресурсов рыб-хозяев, а также на увеличение антигенной нагрузки. Общая клиническая картина на момент отлова рыб характерна для хронической стадии течения заболевания в условиях невысокого уровня паразитемии. Полученные результаты свидетельствуют об активном участии печени в реакции рыб на внедрение паразита.

Ключевые слова: лещ, *Abramis brama*, Угличское водохранилище, трипаносомоз, печень, белок, иммунные комплексы, глюкоза, гликоген

DOI: 10.31857/S0320965222030123

Трипаносомы относятся к классу Kinetoplastida, роду *Trypanosoma*. Большинство видов этих жгутиковых простейших – кровепаразиты, способные поражать животных самых разных систематических групп (Cooper et al., 2016). Их обнаруживают у рыб многих семейств пресноводных и морских видов (Olsen, 1986; Woo, 2001; Grybchuk-Ieremenko et al., 2014; Wang et al., 2015). Заражение происходит при присасывании пиявок, служащих для трипаносом промежуточными хозяевами (Overath et al., 1999). Попав в кровь, паразиты циркулируют в кровяном русле зараженных рыб, активно поглощая всей поверхностью тела растворенные питательные вещества. Кроме того, выделяемые ими в процессе жизнедеятельности метаболиты, обладая токсическим эффектом, оказывают негативное влияние на организм хозяина и могут приводить к летальному исходу (Vinenek et al., 2002).

Кроме анемии, одного из основных патофизиологических признаков трипаносомоза, у рыб также могут наблюдаться отставание в росте, снижение выживаемости (Clauss et al., 2008), но бывают случаи и бессимптомного течения болезни

(Mehlhorn, 2015). Также следует отметить, что степень воздействия паразитов на организм рыб, помимо условий окружающей среды (температура воды, питания и т.д.), в большей степени определяется энергетическими ресурсами хозяина (Gupta, Gupta, 2012). Это вызвано тем, что трипаносомы потребляют значительные количества глюкозы, вызывая снижение ее концентрации в сыворотке крови зараженных особей (Saleh et al., 2009). Анемия и гипогликемия при трипаносомозе характерны для животных самых разных систематических групп, включая млекопитающих (Takeet, Fagbemi, 2009; Morrison et al., 2010; Sazmand et al., 2011; Shahi et al., 2013).

Уровень гликемии у позвоночных – один из фундаментальных параметров жизнедеятельности организма. Центральная роль в важнейшем процессе поддержания оптимального содержания глюкозы в крови принадлежит печени, регулирующей процессы депонирования и высвобождения глюкозы (Nordlie et al., 1999). Помимо этого, в условиях постоянного поступления продуктов обмена веществ трипаносом в кровь возрастает значение печени как основного органа детоксикации. Выделяемые паразитами соединения инициируют выработку гуморальных защит-

Сокращения: ИК – иммунные комплексы.

Таблица 1. Биохимические показатели печени леща *Abramis brama* L.

Показатель	Угличское вдхр.	Иваньковское вдхр.
Общий белок, мг/г	97.59 ± 12.70	108.87 ± 10.15
Иммунные комплексы, у.е./г	111.29 ± 31.95	77.00 ± 27.25
Глюкоза, мг/г	8.29 ± 2.34	9.58 ± 1.32
Гликоген, мг/г	0.477 ± 0.14	0.713 ± 0.25

Примечание. Результаты представлены в виде средних значений и их ошибок; все показатели рассчитаны на 1 г сырой массы печени, гликоген – сухой массы. Достоверных различий не обнаружено, $p \geq 0.05$.

ных факторов, имеющих в основном белковую природу, а функции протеосинтеза у рыб также выполняет печень. Логично предположить, что данный орган должен быть активно задействован в реакции организма на внедрение простейших. Но, несмотря на достаточно большое количество клинических и ветеринарных исследований, посвященных трипаносомам, влияние их на основные биохимические параметры печени мало изучено. Что касается рыб центрального региона России и Волжского бассейна, в частности, то сведения по этой проблеме на настоящий момент отсутствуют.

После обнаружения трипаносом у леща в Угличском водохранилище нами проведено исследование, посвященное влиянию простейших на ряд морфологических и иммунофизиологических параметров зараженных рыб. Результаты изучения реакции показателей периферической крови приведены в работе (Lapirova, Zabolotkina, 2018).

В настоящей работе анализировали биохимические параметры печени зараженных и незараженных рыб.

Исследования проводили в августе 2015 г. Рыб отбирали в Угличском и Иваньковском водохранилищах в одни сроки на трех станциях в каждом водохранилище: верхний и нижний бьефы и середина русловой части. Оба водоема представляют собой расположенные один за другим участки зарегулированного русла р. Волга, вода в которых не имеет значимых различий по гидрохимическим показателям и трофическому статусу (Дебольский и др., 2010; Лазарева, 2016; Минеева и др., 2020; Сигарева и др., 2021). Все лещи из Угличского и Иваньковского водохранилищ были половозрелыми, длина и масса тела достигала 293 ± 20 мм, 537 ± 138 г и 291 ± 22 мм, 520 ± 122 г соответственно. У всех 20 рыб, выловленных в Угличском водохранилище, присутствовали паразиты, однако в Иваньковском водохранилище трипаносомы не обнаружены ни у одного из 18 пойманных лещей. Причина данного явления требует отдельного изучения. Особого внимания заслуживают гидрологический режим, условия зимовки и нереста рыб, а также количество и распределение пиявок в каждом водоеме.

После отлова и необходимых измерений рыб подвергали каудэктомии и делали мазки крови. Обработывали мазки по стандартной методике: после высушивания на воздухе фиксировали этанолом, затем окрашивали по Романовскому–Гимза. Далее рыб вскрывали, отбирали навеску печени ~2 г и замораживали ее при -18°C . Из одной части навески печени готовили экстракт и определяли общий белок, глюкозу и иммунные комплексы. Концентрацию общего белка определяли биуретовым, глюкозы – глюкозооксидазным методом, используя стандартные наборы реактивов для клинических биохимических анализов “Агат-Мед”, содержание иммунных комплексов – по стандартной методике путем осаждения с полиэтиленгликолем 6000 и выражали в условных единицах (Гриневич, Алферов, 1981). Полученные результаты пересчитывали на сырую массу органа. Другую часть печени использовали для определения гликогена. Анализ проводили по методу (Minhorst, Liebezeit, 2003) с финальным определением глюкозы спектрофотометрически с антроновым реактивом. Результаты представляли в мг/г сухой массы органа. Все определения проводили на спектрофотометре Lambda-25 (Perkin Elmer, США).

Для оценки достоверности различий использовали t -критерий Стьюдента при уровне значимости $p \leq 0.05$. Данные представлены в виде средних значений и стандартных ошибок ($\bar{x} \pm SE$).

Поскольку трипаносомы обнаружены у всех 20 отобранных в Угличском водохранилище особей, экстенсивность инвазии была 100%. На мазках крови паразиты встречались в количестве одной–трех особей на ≥ 10 (при увеличении $\times 1000$), что свидетельствует о сравнительно невысоком уровне заражения (Lapirova, Zabolotkina, 2018). Внешних проявлений заболевания у леща не отмечено.

У зараженных рыб выявлены изменения всех исследованных параметров по сравнению с незараженными (табл. 1). Содержание общего белка в тканях печени зараженных рыб оказалось ниже, чем у незараженных на ~11% (разница статистически недостоверна). В большинстве случаев ухудшение состояния пораженных паразитами животных происходит не только за счет непосредственного изъятия питательных веществ, но

и, как уже отмечали, за счет выделения ими продуктов метаболизма, часто токсичных для организма хозяина. В ответ на поступление чужеродного материала в крови увеличивается содержание защитных соединений белковой природы, чем, по-видимому, и объясняется превышение по сравнению со здоровыми рыбами уровня общего белка в сыворотке крови (Lapirova, Zobotkina, 2018).

В то же время, присутствие паразитов в кровяном русле способно вызывать в тканях печени патологические процессы, в том числе дегенеративные и инфильтрационные изменения гепатоцитов (Osman et al., 2009). Происходящие в результате этого нарушения функционирования органа приводят к снижению протеосинтеза.

Один из путей нейтрализации чужеродного антигенного материала в организме животных и человека – связывание его неспецифическими антителами в кровеносном русле. Образовавшиеся ИК (антиген–антитело) поступают в органы, богатые клетками ретикулоэндотелиальной системы, для окончательной элиминации (Логинов и др., 1999). У рыб этот процесс осуществляется в случае растворимых ИК в селезенке и почках, нерастворимых – Купферовскими клетками и частично эндотелиальными – в печени (Dalmo et al., 1997; Nair et al., 2003; Parker, Picut, 2005).

Полученные данные показали превышение содержания ИК в печени инфицированных рыб на 44% по сравнению с неинфицированными. В отличие от концентрации общего белка, рост уровня ИК отмечен в сыворотке крови (Lapirova, Zobotkina, 2018) и печени зараженных рыб. Возрастание показателя вдвое в сыворотке крови у инфицированных рыб свидетельствует об активном протекающих процессах нейтрализации продуктов обмена паразита в кровяном русле. Отсутствие достоверных различий по содержанию ИК в печени зараженных и здоровых рыб может указывать либо на преимущественное образование в периферической крови растворимых ИК, либо на то, что орган успешно справляется с антигенной нагрузкой и в нем не происходит избыточного их накопления, приводящего к серьезным патологиям. Однако общая картина иммунокомплексного процесса позволяет считать более вероятным именно соответствие антигенной нагрузки и потенциала иммунной системы рыб-хозяев в условиях невысокого уровня паразитемии.

Сведения о действии трипаносом на содержание гликогена у рыб немногочисленны. Однако в литературе приводятся данные об исследовании реакции показателя на инвазию криптобиями. Криптобии и трипаносомы близки в систематическом плане, обладают большим сходством в строении, способе существования, процессе размножения, а также механизме развития анемии и

противопаразитарного иммунитета у рыб-хозяев (Хайбулаев, Гусейнов, 1985; Evans, Gratzek, 1989; Woo, 2001). Это позволяет предположить сходство и в динамике уровня гликогена при заражении данными простейшими.

На основе исследования Лоу-Джинде (Lowe-Jinde, 1980) выявлено, что при экспериментальном заражении радужной форели криптобиями из всех изученных органов (печени, мышцах и сердца), наиболее выраженные колебания уровня гликогена отмечены в тканях печени. Через 7 сут после инокуляции содержание гликогена в органе резко упало и далее достигло минимальных значений (~20% контроля). Однако уже к седьмой неделе наблюдений различия по этому показателю между зараженными и здоровыми рыбами в значительной мере сгладились. В эти сроки также отмечена общая тенденция к восстановлению нормального состояния рыб, в том числе, снижение клинических признаков – анемии и отеков, что, по мнению Лоу-Джинде, соответствовало хронической стадии заболевания с низким уровнем заражения (Lowe-Jinde, 1980).

Наиболее вероятно, что в нашем случае динамика изменений показателя носила сходный характер, т.е. на начальном этапе заражения (в острую фазу заболевания) произошло значительное падение уровня гликогена. На момент отбора материала концентрация гликогена у зараженных рыб была значительно ниже, чем у здоровых, но разница статистически недостоверна. На постепенное возвращение показателя к норме на фоне снижения количества паразитов указывают и небольшие различия между исследованными группами рыб по уровню гликемии.

Для более четкого понимания полученной нами клинической картины в целом следует более детально рассмотреть процесс заражения рыб трипаносомами. Как уже упоминали, их переносчиками служат пиявки. Показано, что трипаносомы узко специфичны к пиявкам при отсутствии специфичности к рыбам-хозяевам (Хайбулаев, 1970). Почти все стадии жизненного цикла трипаносомы проходят в пиявке, в рыбе они живут лишь какое-то время и завершают его (Голицына, 1985; Хайбулаев, Гусейнов, 1985). Размножение паразитов также происходит в пиявках (Hayes et al., 2014; Lemos et al., 2015). Присасывание пиявки к лещу происходит, как правило, во время зимовки и нереста рыб, когда они малоподвижны. В период острой фазы заболевания, приходящейся на весну – начало лета, возможна гибель некоторого количества рыб с наиболее выраженными симптомами. У выживших особей болезнь переходит в хроническую стадию, количество возбудителей постоянно снижается, и к концу нагульного периода состояние рыб постепенно возвращается к норме.

Выводы. Установлено, что, осуществляя функцию регуляции пластического и энергетического обмена, а также детоксикационную функцию, печень активно участвует в реакции организма леща на заражение трипаносомами. Рассматривая полученную клиническую картину в целом, и учитывая особенности жизненного цикла паразитов, можно заключить, что на начальных этапах заражения (в острую фазу заболевания), происходит нарушение процессов протеосинтеза, снижение энергетических ресурсов, активизация механизмов нейтрализации чужеродного антигенного материала. В дальнейшем, по мере уменьшения количества паразитов в кровотоке, снижается выраженность признаков заболевания, наступает адаптационная фаза, а к концу нагульного периода – восстановительная, что позволит рыбам благополучно пройти зимовку.

БЛАГОДАРНОСТИ

Автор выражает благодарность Г.Х. Щербине (Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН) за ценные сведения об особенностях образа жизни леща.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена в рамках государственного задания “Физиолого-биохимические и иммунологические реакции гидробионтов под действием биотических и абиотических факторов окружающей среды” № АААА-А18-118012690123-4.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Голицына Н.Б. 1985. Трипаносомы рыб // Экология паразитических организмов. Петрозаводск: Изд-во Карельского филиала АН СССР. С. 33.

Гриневиц Ю.А., Алферов А.Н. 1981. Определение иммунных комплексов в крови онкологических больных // Лаб. дело. № 8. С. 493.

Дебольский В.К., Григорьева И.Л., Комиссаров А.Б. и др. 2010. Современная гидрологическая характеристика реки Волга и ее водохранилищ // Вода: химия и экология. № 11(29). С. 2.

Лазарева Г.А. 2016. Оценка качества вод Угличского водохранилища по интегральным гидрохимическим показателям // Вестник Московского государственного областного университета. Серия: Естественные науки. № 2. С. 158. https://doi.org/Lazareva_G.A.Estimation_of_water_quality_of_Uglichsky_reservoir_by_integrated_hydrochemical_factors//Bulletin_of_Moscow_State_Regional_University.Series:Natural_Sciences.2016.No.2.P.158-164.https://doi.org/10.18384/2310-7189-2016-2-158-164.

Логинов С.И., Смирнов П.Н., Трунов А.Н. 1999. Иммунные комплексы у животных и человека: норма и патология. Новосибирск: Изд-во СО РАСХН.

Минеева Н.М., Семадени И.В., Макарова О.С. 2020. Содержание хлорофилла и современное трофическое состояние водохранилищ р. Волги (2017–2018 гг.) // Биология внутр. вод. № 2. С. 205. <https://doi.org/10.31857/S0320965220020102>

Сигарева Л.Е., Тимофеева Н.А., Ложкина Р.А. 2021. Современное трофическое состояние бентали Иваньковского и Угличского водохранилищ по содержанию осадочных пигментов // Биология внутр. вод. № 2. С. 159. <https://doi.org/10.31857/S0320965221020145>

Хайбулаев К.Х. 1970. О роли пиявок в жизненном цикле кровепаразитов рыб // Паразитология. Т. 4. Вып. 1. С. 13.

Хайбулаев К.Х., Гусейнов М.А. 1985. Изучение развития трипаносом (*Trypanosoma*) и криптобий (*Cryptobia*) карпа и линя в пиявке *Piscicola geometra* // Паразитология. Т. 19. Вып. 1. С. 75.

Bienek D.R., Plouffe D.A., Wiegertjes G.F. et al. 2002. Immunization of goldfish with excretory/secretory molecules of *Trypanosoma danilewskyi* confers protection against infection // Dev. Comp. Immunol. V. 26(7). P. 649. [https://doi.org/10.1016/S0145-305X\(02\)00018-6](https://doi.org/10.1016/S0145-305X(02)00018-6)

Clauss T.M., Dove A.D.M., Arnold J.E. 2008. Hematologic Disorders of Fish // Veterinary Clinics: Exotic Animal Practice. V. 11. P. 445. <https://doi.org/10.1016/j.cvex.2008.03.007>

Cooper C., Clode P.L., Peacock C. et al. 2017. Host–Parasite Relationships and Life Histories of Trypanosomes in Australia (Chapter Two) // Advances in Parasitology. V. 97. P. 47. <https://doi.org/10.1016/bs.apar.2016.06.001>

Dalmo R.A., Ingerbrigtsen K., Bogwald J. 1997. Non-specific defense mechanism in fish with special reference to the reticuloendothelial system (RES) // J. Fish Dis. V. 20. P. 241.

Evans D.L., Gratzek J.B. 1989. Immune Defense Mechanisms in Fish to Protozoan and Helminth Infections // Amer. Zool. V. 29. P. 409.

Grybchuk-Ieremenko A., Losev A., Kostygov A.Yu. et al. 2014. High prevalence of trypanosome co-infections in freshwater fishes // Folia Parasitol. V. 61(6). P. 495. <https://doi.org/10.14411/fp.2014.064>

Gupta N., Gupta D.K. 2012. Erythropania in piscine trypanosomiasis // Trends in Parasitol. V. 1. P. 1.

Hayes P.M., Lawton S.P., Smit N.J. et al. 2014. Morphological and molecular characterization of a marine fish trypanosome from South Africa, including its development in a leech vector // Parasites & Vectors. V. 7(50). <https://doi.org/10.1186/1756-3305-7-50>

Lapirova T.B., Zabolotkina E.A. 2018. Effect of trypanosomiasis on hematologic characteristics of bream (*Abramis brama*) // Regul. Mech. Biosyst. V. 8(3). P. 309. <https://doi.org/10.15421/021845>

Lemos M., Fermino B.R., Simas-Rodrigues C. et al. 2015. Phylogenetic and morphological characterization of trypanosomes from Brazilian armoured catfishes and leeches reveal high species diversity, mixed infections and a new fish trypanosome species // Parasites & Vectors. V. 8(573). <https://doi.org/10.1186/s13071-015-1193-7>

- Lowe-Jinde L. 1980. Observations of rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, infected with *Cryptobia salmostica* // J. Fish Biol. V. 17. P. 23.
<https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1980.tb02739.x>
- Mehlhorn H. 2015. Trypanosoma Species of Fish // Encyclopedia of Parasitol.
https://doi.org/10.1007/978-3-642-27769-6_4440-1
- Minhorst A., Liebezeit G. 2003. Determination of Glycogen in Tissues of the Blue Mussel *Mytilus edulis* L. // Senckenbergiana maritima. V. 32. № 1–2. P. 191.
- Morrison L.J., McLellan S., Sweeney L. et al. 2010. Role for parasite genetic diversity in differential host responses to *Trypanosoma brucei* infection // Infect. Immun. V. 78. P. 1096.
<https://doi.org/10.1128/IAI.00943-09>
- Nair R.M., George K.C., Sanil N.K., Sobhana K.S. 2003. Reticuloendothelial system of defense in *Oreochromis mossambicus* (Peters) // Indian J. Fish. V. 50. № 2. P. 139.
- Nordlie R.C., Foster J.D., Lange A.J. 1999. Regulation of glucose production by the liver // Ann. Rev. Nutrition. V. 19. P. 379.
<https://doi.org/10.1146/annurev.nutr.19.1.379>
- Olsen O.W. 1986. Animal Parasites: Their Life Cycles and Ecology. Baltimor: University Park Press.
- Osman H.A.M., Fadel N.G., Ali A.T. 2009. Biochemical and histopathological alterations in catfish, *Clarias gariepinus*, infected with trypanosomiasis with special reference to immunization // J. Egypt. Com. Path. Clinic. Path. V. 22. P. 164.
- Overath P., Haag J., Mameza M. G., Lischke A. 1999. Freshwater fish trypanosomes: definition of two types, host control by antibodies and lack of antigenic variation // Parasitol. V. 119. Pt. 6. P. 591.
<https://doi.org/10.1017/s0031182099005089>
- Parker G.A., Picut C.A. 2005. Liver Immunobiology // Toxicol. Pathol. V. 33. P. 52.
<https://doi.org/10.1080/01926230590522365>
- Saleh M.A., Al-Salahy M.B., Sanousi S.A. 2009. Oxidative stress in blood of camels (*Camelus dromedaries*) naturally infected with *Trypanosoma evansi* // Vet. Parasitol. V. 162. P. 192.
- Sazmand A., Rasooli A., Nouri M. et al. 2011. Serobiochemical alterations in subclinically affected dromedary camels with *Trypanosoma evansi* in Iran // Pakistan Vet. J. V. 31(3). P. 223.
- Shahi N., Yousuf A.R., Rather M.I. et al. 2013. First report of blood parasites in fishes from Kashmir and their effect on the haematological profile // Open Vet. J. V. 3(2). P. 89.
- Takeet M.I., Fagbemi B.O. 2009. Haematological, pathological and plasma biochemical changes in rabbits experimentally infected with *Trypanosoma congolense* // Science World Journal. V. 4(2). P. 29.
- Wang M., Yan S., Wang Yu et al. 2015. Occurrence of trypanosomiasis in net cage cultured groupers (*Cromileptes altivelis* and *Epinephelus fuscoguttatus*) in Nanshan port of Sanya, Hainan province, China // Aquacult. Res. V. 46(5). P. 1039.
<https://doi.org/10.1111/are.12261>
- Woo P.T.K. 2001. Cryptobiosis and its control in North American fishes // Int. J. Parasitol. V. 31. P. 566.
[https://doi.org/10.1016/S0020-7519\(01\)00169-2](https://doi.org/10.1016/S0020-7519(01)00169-2)

Active Participation of the Liver in the Reaction of the Organism of the Bream *Abramis brama* to Infection with Trypanosomes

T. B. Lapirova*

*Papanin Institute for Biology of Inland Waters Russian Academy of Sciences,
 Borok, Nekouzskii raion, Yaroslavl oblast, Russia*

*e-mail: lth@ibiw.ru

The data of the liver tissue biochemical analysis of the bream infected with trypanosomes from the Uglich Reservoir are presented. It was found that the presence of parasites caused shifts in all the studied parameters: the concentration of total protein, immune complexes, glucose and glycogen compared to control fish. At the same time, the revealed differences were not statistically significant. In general, the nature of the changes indicates a slight decrease in the plastic and energy resources of the host fish, as well as, indirectly, an increase in the antigenic load. The general clinical picture at the time of selection is typical for the chronic stage of the disease in conditions of a low level of parasitemia. The results indicate the active participation of the liver in the reaction of fish to the introduction of the parasite.

Keywords: bream (*Abramis brama*), Uglich Reservoir, trypanosomiasis, liver, protein, immune complexes, glucose, glycogen