



УДК 591.11:597.556.31:612.22

И. А. Парфенова¹, канд. биол. наук, доцент, А. А. Солдатов², докт. биол. наук, зав. отд.

¹Севастопольский национальный технический университет, Украина

²Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского НАН Украины, Севастополь, Украина

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ МОРФОЛОГИЯ ЦИРКУЛИРУЮЩИХ ЭРИТРОЦИТОВ БЫЧКА-КРУГЛЯКА В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ГИПОКСИИ

В экспериментальных условиях исследовано влияние внешней гипоксии (концентрация O_2 в воде – 1.7 – 1.8 мг л⁻¹) на содержание незрелых эритроидных форм в крови и морфометрические характеристики циркулирующих эритроцитов у черноморского бычка-кругляка (*Neogobius melanostomus*). Показано, что в условиях дефицита кислорода происходил рост значений гематокрита. Концентрация гемоглобина и число эритроцитов в крови не изменялись. Данная реакция была обусловлена свеллингом циркулирующих клеток красной крови вследствие гидратации их цитоплазмы, что подтверждал характер изменения эритроцитарных индексов (*MCH*, *MCHC*, *MCV*). Экспериментальная гипоксия вызывала рост объема ядер и ядерно-плазменных отношений у зрелых эритроцитов бычка. В условиях гипоксии усиливались процессы пролиферации в эритроидном ряду клеток, о чём свидетельствовал преимущественный рост содержания в крови наименее дифференцированных эритроидных форм – базофильных нормобластов.

Ключевые слова: гипоксия, гематология, эритроцитарные индексы, эритропоэз, цитометрия, *Neogobius melanostomus*

Neogobius melanostomus (Pallas, 1814) – массовый представитель семейства Gobiidae, широко распространённый по побережью Чёрного и Азовского морей [5]. Обладая высокой экологической пластичностью, вид освоил разнообразные экотопы азово-черноморского региона, Балтийского моря, рек России и Украины, Великих озер Северной Америки [10, 13, 20]. Особый интерес представляет его способность устойчиво существовать в гипоксических акваториях.

Организм бычка-кругляка располагает рядом физиологических и молекулярных систем, обеспечивающих эффективный транспорт и утилизацию кислорода в условиях его внешнего дефицита. Об этом свидетельствуют достаточно низкие значения критических и пороговых концентраций кислорода у данного вида [3]. В его крови обнаружена фракция гемоглобина, сочетающая высокое сродство к кислороду с повышенной чувствительностью к рН, содержание которой существенно возрастает в гипоксических условиях среды [8]. Дыхательная цепь митохондрий имеет нескомпенсированный тип организации с повышенным содержа-

нием цитохромов терминальной группы (*aa₃*) [7]. Надо полагать, что это не весь комплекс адаптивных процессов, реализуемых в организме *N. melanostomus* условиях внешнего дефицита кислорода.

В настоящей работе исследуются кроветворная функция и морфометрические характеристики зрелых эритроцитов бычка-кругляка в условиях экспериментальной гипоксии.

Материал и методы. Работа выполнена на базе ИнБЮМ НАН Украины. Рыбу отлавливали в Севастопольской бухте. Использовали взрослых особей бычка-кругляка (длина тела – 14 – 17 см, вес тела – 30 – 45 г) в состоянии относительного покоя (стадия зрелости гонад II – III).

При постановке экспериментов применяли специально изготовленный стенд, который позволял длительно поддерживать заданную температуру и концентрацию кислорода в воде. Опытные группы рыб в количестве 3 – 4 особей помещали в камеру объёмом 13.5 л. Содержание кислорода в воде снижали в течение 2.5 – 3.0 ч прокачиванием азота с 8.5 – 9.0 мг л⁻¹ до 1.7 – 1.8 мг л⁻¹ (20 % насыщения).

Температура воды поддерживалась на уровне $15 \pm 1^\circ\text{C}$. Экспозиция составила 10 сут. Контрольная группа рыб содержалась при 100 % насыщении воды кислородом. Смену воды в камерах проводили ежедневно для удаления остатков пищи и метаболитов.

В момент изъятия особей из камеры для предотвращения развития стресса применяли уретановый наркоз [6]. Кровь получали из хвостовой вены. В качестве антикоагулянта применяли гепарин («Рихтер», Венгрия).

Концентрацию гемоглобина в крови контролировали при помощи гемиглобинцианидного метода. Применяли стандартный набор реактивов ООО «Агат-мед» (Россия). Число эритроцитов в крови подсчитывали в камере Горяева [1]. Гематокрит определяли путем центрифугирования образцов крови в гепаринизированных капиллярах (750 г; 15 мин) в специальном гематокритном роторе (центрифуга MPW-310, Польша).

На основании полученных значений рассчитывали эритроцитарные индексы: среднеклеточный объём (MCV), среднеклеточное содержание (MCH) и среднеклеточную концентрацию гемоглобина ($MCHC$) [1].

Расчёты выполняли по формулам:

$$MCH = \frac{Hb}{Er}; MCHC = \frac{Hb}{Ht} \cdot 10; MCV = \frac{Ht}{Er} \cdot 10,$$

где: Hb – концентрация гемоглобина в крови (г л^{-1}); Er – число эритроцитов в крови (млн мкл^{-1}); Ht – гематокрит (%).

Мазки крови окрашивали по комбинированному методу Паппенгейма [1]. На мазках подсчитывали процентное содержание незрелых эритроидных форм: пронормобластов, базофильных и полихроматофильных нормобластов. Объём выборки составил 500 клеток на мазок. В работе применяли светооптический микроскоп «Биолар» (Польша).

При помощи окуляр-микрометра на мазках измеряли большой и малый диаметры у зрелых эритроцитов (C_1 ; C_2) и их ядер (N_1 ; N_2). Измерения проводили под иммерсией при увеличении в 1500х. Объём выборки – 100 клеток на один мазок. На основании значений N_1 и N_2 по формуле эллипсоида вращения рассчитывали объём ядра эритроцита (V_n) [9]:

$$V_n = \frac{\pi \cdot N_1 \cdot N_2^2}{6}.$$

Для сравнительной оценки изменений MCV и V_n определяли индекс V_n / MCV (ядерно-плазматическое отношение).

Статистическая обработка и графическое оформление полученных результатов проведены с применением стандартного пакета Grapher (версия 1.25). Результаты представлены в виде $\bar{x} \pm S_x$. Достоверность различий оценивали при помощи t-критерия Стьюдента. О нормальности распределения судили по сопоставлению абсолютных величин средней арифметической и моды.

Результаты. Выполненные нами эксперименты по изучению влияния гипоксии на организм бычка-кругляка позволили выявить эффекты, как на уровне отдельных эритроцитов, так и системы красной крови в целом.

Гематологические исследования. Содержание особей кругляка при концентрации кислорода в воде $1.7 - 1.8 \text{ мг л}^{-1}$ (20 % насыщения) в течение 10 сут. не оказывало существенного влияния на кислородную ёмкость крови данного вида. Концентрация гемоглобина и число эритроцитов в крови практически оставались на уровне контрольных значений (рис. 1). Имеющиеся различия не были статистически выражены. Не претерпевала существенных изменений и среднеклеточная концентрация гемоглобина (MCH).

Гематокритная величина, напротив, была подвержена существенным изменениям. В сравнении с контрольной группой рыб наблюдали увеличение значений данного показателя на 38.3 % ($p < 0.01$).

Расчёт эритроцитарных индексов показал, что MCV при этом повышался на 19.9 % ($p < 0.05$), а $MCHC$ снижался на 20.1 % ($p < 0.001$). Содержание же гемоглобина в клетке (MCH), как уже отмечалось, оставалось неизменным. Такое соотношение процессов указывает на набухание (свеллинг) циркулирующих эритроцитов, что может быть связано с гидратацией их цитоплазмы.

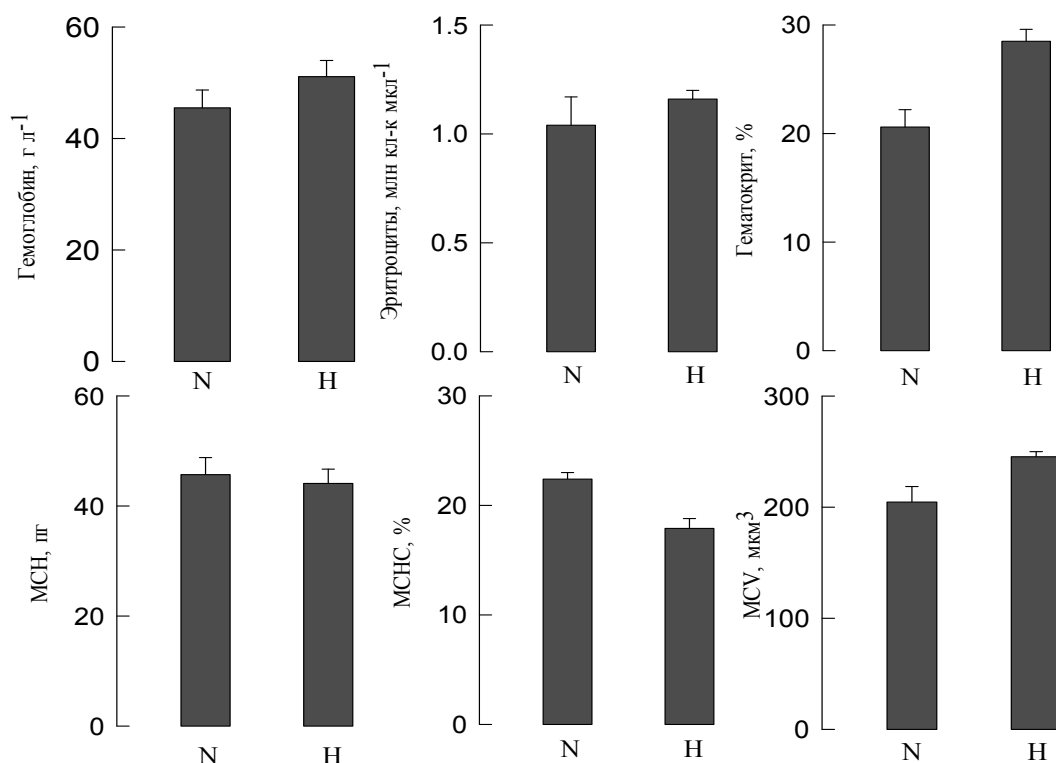


Рис. 1 Гематологические характеристики крови и эритроцитарные индексы бычка-кругляка в условиях нормо- (N) и гипоксии (H)

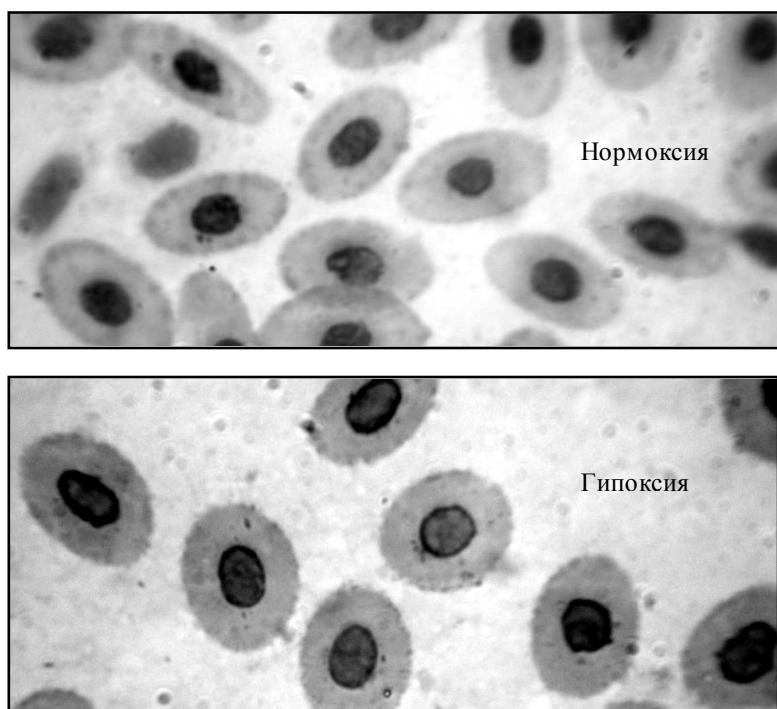
Fig. 1 Hematological parameters blood and erythrocytic indexes of *Neogobius melanostomus* under normoxia (N) and hypoxia (H) conditions

Морфологические характеристики циркулирующих эритроцитов. Просмотр препаратов контрольной группы рыб под микроскопом показал, что зрелые эритроциты кругляка, как и у большинства морских костистых рыб, являются эллипсоидными клетками с вытянутым ядром тёмно-фиолетового цвета. Ядерный хроматин сильно конденсирован, что позволяет говорить о низкой функциональной активности ядра. Цитоплазма представляла собой прозрачную, гомогенную среду, светло-розовой или серовато-розовой окраски.

В условиях экспериментальной гипоксии у эритроцитов бычка визуально не отмечали изменения окраски цитоплазмы и наличия каких-либо деформаций. Однако клетки при этом становились более крупными и приобретали более округлую форму (рис. 2). Явно увеличивался объём их ядер. Отмеченные изменения побудили нас провести цитометрические

исследования, результаты которых представлены ниже.

Экспериментальная гипоксия вызывала увеличение содержания в крови незрелых эритроидных форм в 2.2 раза ($p < 0.001$) (табл. 1). При этом популяция полихроматофильных нормобластов (ПН) в крови увеличивалась лишь на 83.1 % ($p < 0.01$), а базофильных нормобластов (БН) в 4.4 раза ($p < 0.001$). Такое соотношение роста незрелых эритроидных форм в крови свидетельствует об активизации пролиферативной активности кроветворной ткани рыб. Пронормобласты в циркулирующей крови не выявлялись. Морфологические характеристики БН и ПН у кругляка соответствуют известным для костистых рыб (рис. 3). БН, как эритроидные формы более ранних генераций, имели выраженную перинуклеарную зону, базофильную цитоплазму и крупное ядро с выраженными гранулами хроматина.



ПН отличались отсутствием перинуклеарной зоны и сероватой цитоплазмы, сочетающей одновременно базофильные и ацидофильные свойства.

Рис. 2 Эритроциты крови бычка-кругляка в условиях нормо- и гипоксии (масляная иммерсия, 1500×)
Fig. 2 Blood erythrocytes of *Neogobius melanostomus* under normoxia and hypoxia conditions (oil immersion, 1500×)

Показатели	Экспозиция – 90 мин	
	Нормоксия	Гипоксия
Незрелые эритроциты (общее содержание), %	2.65±0.30 (7)	5.77±0.50** (5)
Полихроматофильные нормобласты, %	2.31±0.21 (7)	4.23±0.44* (5)
Базофильные нормобласты, %	0.35±0.10 (7)	1.55±0.07** (5)

Табл. 1 Содержание незрелых эритроидных элементов в крови бычка-кругляка в условиях нормо- и гипоксии
Table 1 Content of immature erythroid elements in *Neogobius melanostomus* blood under normoxic and hypoxic conditions

Примечание: в скобках число особей; * – $p < 0.01$; ** – $p < 0.001$

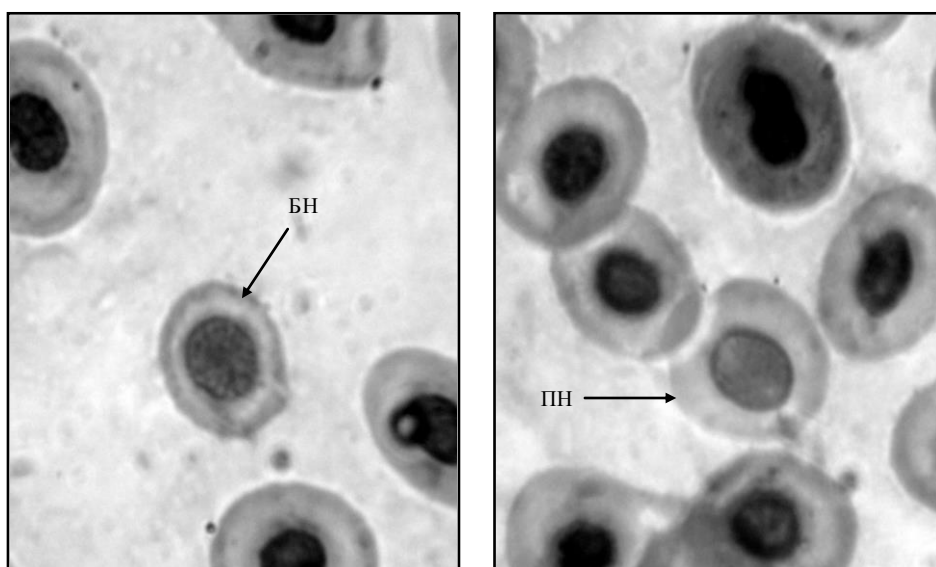


Рис. 3 Эритроидные элементы крови бычка-кругляка: базофильные (БН) и полихроматофильные нормобласты (ПН) (масляная иммерсия, 1500×)

Fig. 3 Erythroid elements of *Neogobius melanostomus* blood: basophilic and polychromatophylic normo-blasts (oil immersion, 1500×)

Цитометрические характеристики зрелых эритроцитов. Как уже отмечалось, экспериментальная гипоксия вызывала существенное увеличение средноклеточного объема (*MCV*) эритроцитов кругляка. Это нашло отражение и в изменении линейных размеров клеток красной крови.

Рост объема клетки в ходе эксперимента может быть обусловлен, как минимум, изменением трех линейных характеристик: большого диаметра (C_1), малого диаметра (C_2) и толщины эритроцита. Большой диаметр (C_1) совпадал у контрольной и опытной групп рыб

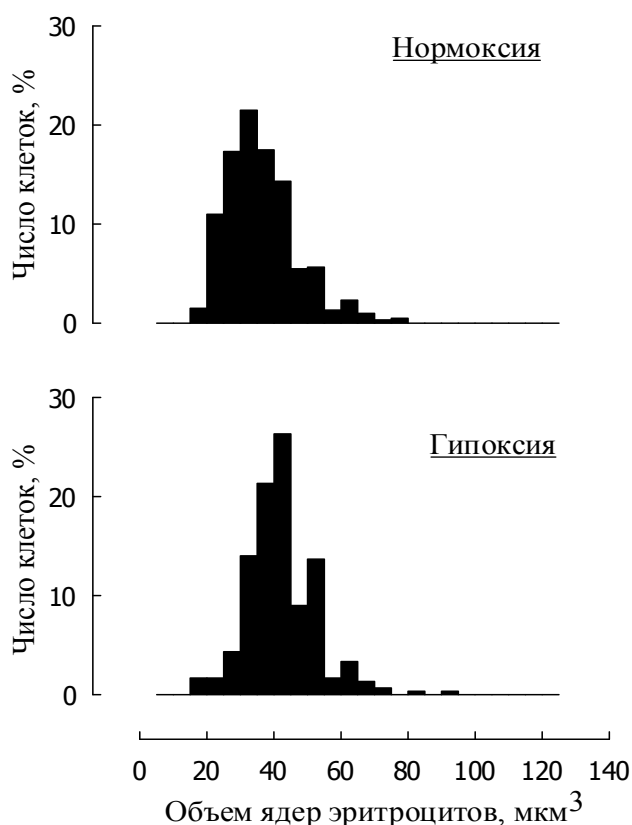
(табл. 2). Различия не были статистически выражены. Значения же малого диаметра, напротив, повышались на 7.8 % ($p < 0.01$). Не пропорциональное изменение C_1 и C_2 привело к уменьшению эллипсоидности клеток циркулирующей эритроцитарной массы. Разница между C_1 и C_2 уменьшилась на 0.51 мкм. Нельзя также исключать из внимания возможность увеличения толщины эритроцита, однако, данный показатель не определялся, так как это требует применения метода поляризационной микроскопии.

Показатели	n	Условия эксперимента	
		Нормоксия	Гипоксия
C_1 , мкм	8	12.61±0.33	12.80±0.32
C_2 , мкм	8	8.74±0.14	9.42±0.06**
C_1-C_2 , мкм	8	3.88±0.30	3.37±0.30
N_1 , мкм	8	5.15±0.09	5.31±0.09
N_2 , мкм	8	3.78±0.07	4.02±0.04
V_n , мкм ³	8	39.3±1.9	45.5±1.5*
V_n/MCV	8	0.145±0.011	0.187±0.006**

Табл. 2 Цитометрические характеристики циркулирующей эритроцитарной массы бычка-кругляка в условиях нормо- и гипоксии

Table 2 Cytometrical parameters of circulating erythrocytes of *Neogobius melanostomus* normoxic and hypoxic conditions

Примечание: n – число особей; C_1 , C_2 – большой и малый диаметры эритроцита; N_1 , N_2 – большой и малый диаметры ядра эритроцита; V_n – объем ядра эритроцита; *MCV* – средноклеточный объем; * – $p < 0.05$; ** – $p < 0.01$



В условиях экспериментальной гипоксии объем ядер (V_n) циркулирующих эритроцитов бычка-кругляка, рассчитанный по формуле эллипсоида вращения, повышался на 15.8 % ($p < 0.05$). При этом рост линейных размеров ядер (N_1 и N_2) не был статистически выражен (табл. 2). Рост объема ядра существенно превосходил увеличение объема самой клетки.

Гистограммы распределения V_n представлены на рис. 4.

Рис. 4 Гистограммы распределения объемов ядер эритроцитов бычка-кругляка в условиях нормо- и гипоксии (n – 600 клеток)

Fig. 4 Distribution of erythrocyte nucleus volume in *Neogobius melanostomus* under normoxic and hypoxic conditions (n – 600 cells)

У контрольной группы рыб максимум значений приходился на 32.5 мкм^3 , у опытной группы рыб он располагался на 42.5 мкм^3 правее. Величина смещения в условиях гипоксии составила 10 мкм^3 . На гистограмме при этом выявлялся второй максимум в области значений – $50 - 55 \text{ мкм}^3$. Это свидетельствовало о существовании в кровотоке двух популяций эритроцитов. Диапазоны вариации значений были близкими, но при гипоксии существенно сокращалось число клеток, имеющих ядра объёмом менее 40 мкм^3 .

Как уже отмечалось, гипоксия вызывала рост объёма клеток красной крови у кругляка. Сопоставление этого процесса с изменением объёма ядер позволяет говорить о непропорциональности выявленных эффектов. Рост размеров ядер был выражен в большей степени. Это отражает ядерно-плазматическое отношение (V_n/MCV), представленное в табл. 2. Данная величина в условиях эксперимента была на 29,0 % ($p < 0,01$) выше значений, зарегистрированных для контрольной группы рыб.

Обсуждение. В условиях экспериментальной гипоксии в крови бычка-кругляка был зарегистрирован ряд направленных изменений:

- рост объёма (свеллинг) циркулирующих эритроцитов;
- увеличение размеров ядер клеток красной крови и ядерно-плазматических отношений;
- повышение содержания в крови незрелых эритроидных форм.

Свеллинг эритроцитов. Анализ гематологических характеристик кругляка показал, что концентрация гемоглобина и число эритроцитов в крови в условиях экспериментальной гипоксии не изменялись. В то же время значения гематокрита претерпевали явно выраженный рост. Расчёт эритроцитарных индексов позволил констатировать существенное увеличение MCV , которое происходило на фоне снижения $MCHC$ при стабильных значениях MCH . Такое соотношение показателей позволяет говорить о гидратации цитоплазмы

циркулирующих клеток, которая в конечном итоге приводит к их набуханию (свеллингу) и сопровождается ростом среднеклеточного объёма.

Случаи свеллинга клеток красной крови в условиях внешней гипоксии описаны ранее для многих рыб [11, 12], в том числе и представителей черноморской ихтиофауны [4]. В основе данного явления лежит трансмембранный обмен Na^+/H^+ , который индуцируется повышением концентрации катехоламинов в крови [17]. Выход H^+ из клетки предотвращает значительное изменение pH эритроцита в условиях плазматического ацидоза, что способствует нормальному функционированию его молекулярных систем, прежде всего гемоглобина. Одновременно происходит поступление Na^+ в клетку, что повышает осмотическое давление и сопровождается оводнением эритроцита. По-видимому, эти процессы и определяли увеличение объёма клеток красной крови в условиях дефицита кислорода.

Увеличение объёма ядер эритроцитов. Гидратация цитоплазмы эритроцитов в условиях гипоксии должна была также приводить и к набуханию их ядер, что в действительности и имело место. Однако, как уже отмечалось, объём ядер клеток кругляка увеличивался более значительно, чем следовало бы ожидать в результате простого процесса оводнения. Это видно из существенного повышения значений индекса V_n/MCV на 29.0 % ($p < 0.01$).

Увеличение объёма ядра клетки обычно наблюдается в следующих случаях [9]: функциональной активизации структуры, полиплоидии, токсического действия, относительного повышения содержания в крови эритроцитов более ранних генераций.

О каком-либо токсическом действии на организм кругляка в наших экспериментах говорить не приходится. Даже, если оно и имело место, то было адекватно, как для опытной, так и контрольной групп рыб.

Полиплоидия у рыб может быть индуцирована на ранних стадиях онтогенеза и вы-

зывается методом «температурного скачка»
[16]. Гипоксия не является фактором,

индуцирующим эндомитоз и полиплоидию ядер. Случаи подобных эффектов не описаны.

Функциональная активизация ядра – более вероятный механизм, объясняющий увеличение его размеров. Известно, что гидратация цитоплазмы клетки и белковый синтез – явления, которые обычно совпадают [9]. Поэтому поступление воды в эритроцит в условиях гипоксии, по-видимому, активизирует биосинтетические процессы в клетке. Доказательством тому являются зарегистрированные нами ранее качественные изменения в гемоглобиновой системе кругляка в условиях гипоксии, которые не возможны без участия ядра эритроцита [22]. Окончательное же заключение по данному поводу могут дать только дополнительные эксперименты с использованием методов автордиографии (³H-лейцин).

Не следует исключать из внимания и процесс дедифференцировки эритроцитов, так как в условиях острой гипоксии функциональная значимость данной клетки для организма постепенно утрачивается. Дедифференцировка повышает функциональную активность ядра и усиливает биосинтетические процессы в клетке, которые направлены на качественную трансформацию клеточной системы. Подобные результаты были описаны для ядерных эритроцитов амфибий: увеличение размеров их ядер происходило на фоне снижения содержания гемоглобина в клетке [2]. В наших экспериментах средноклеточное содержание гемоглобина (*MCH*) оставалось постоянным. Это означает, что функциональная активизация функций ядра имела в данном случае несколько иное назначение.

Увеличение размеров ядер эритроцитов в условиях гипоксии может носить относительный характер и быть связано с повышением содержания в крови эритроцитов более ранних генераций: полихроматофильных и базофильных нормобластов, что в действительности и имело место. Следует отметить, что этот процесс не влиял на общее содержание числа эритроцитов в крови. Это означает, что одновременно происходил лизис старых эритроци-

тов, количественно близкий к продукционным характеристикам кроветворной ткани, то есть наблюдалась регенерация (омоложение) циркулирующей эритроцитарной массы. Последнее должно приводить к среднестатистическому росту объема ядерных структур. Усиление процессов лизиса старых эритроцитов в условиях внешней гипоксии – вполне вероятный процесс, если принять во внимание наличие свеллинга. Имея менее эластичную клеточную мембрану [19], эта группа эритроцитов должна подвергаться избирательному разрушению в первую очередь.

Число незрелых эритроидных форм в крови. Как уже отмечалось, гипоксия вызывала повышение содержания в циркулирующей крови кругляка содержания незрелых эритроидных форм: полихроматофильных и базофильных нормобластов. Данная информация в целом не является новой. Ранее подобные результаты были описаны для различных вариантов экспериментальной гипоксии, асфиксии и анемии (фенилгидразин-HCl) [15, 18, 21]. Многие авторы связывают это с активизацией пролиферативной активности эритроидного ростка гемопоэза, о чем свидетельствует увеличение интенсивности включения ³H-тимидина в незрелые эритроидные формы, как на уровне периферического кровообращения, так и кроветворной ткани (почки, селезенка) [14, 21].

В настоящем исследовании в условиях гипоксии обнаружено не только повышение содержания незрелых эритроцитов в крови, но и преимущественный рост наименее дифференцированных эритроидных форм – базофильных нормобластов. Это хорошо отражает индекс БН/ПН. У контрольной группы рыб он составил 0.152, а у опытной – 0.366, что в 2 раза выше ($p < 0.01$). Это свидетельствует об усилении пролиферативной активности кроветворной ткани рыб при сохранении прежних темпов дифференцировки в эритроидном ряду клеток.

Выводы. 1. В условиях экспериментальной гипоксии у особей бычка-кругляка происходил рост значений гематокрита.

Концентрация гемоглобина и число эритроцитов в крови не изменялись. Данная реакция была обусловлена свеллингом циркулирующих клеток красной крови вследствие гидратации их цитоплазмы, о чём свидетельствовал характер изменения эритроцитарных индексов (*MCH*, *MCHC*, *MCV*). **2.** Экспериментальная гипоксия вызывала рост объёма ядер и ядерно-

плазменных отношений у зрелых эритроцитов бычка-кругляка. **3.** В условиях гипоксии усиливались процессы пролиферации в эритроидном ряду клеток, о чём свидетельствовал преимущественный рост содержания в крови наименее дифференцированных эритроидных форм – базофильных нормобластов.

1. *Золотницкая Р. П.* Методы гематологических исследований / Лабораторные методы исследования в клинике (справочник). – Москва: Медицина, 1987. – С. 106 – 148.
2. *Мэттсон П.* Регенерация – настоящее и будущее. – М.: Мир, 1982. – 175 с.
3. *Парфенова И. А.* Критические и пороговые напряжения кислорода у морских рыб различной толерантности к внешней гипоксии / Экологія. Людина. Суспільство: VII Міжн. науково-практ. конф. студентів, аспірантів та молодих вчених, Київ, 13-15 трав. 2004: Тез. доп. – Київ, 2004. – С. 53.
4. *Парфенова И. А., Солдатов А. А.* Эритрограмма циркулирующей крови скорпены в условиях экспериментальной гипоксии // Морск. экол. ж. – 2005. – **4**, № 2. – С. 59 – 67.
5. *Смирнов А. И.* Бычок-кругляк *Neogobius melanostomus* (Pisces, Gobiidae) за пределами ареала: причины, степень распространения, возможные последствия // Вестник зоол. – 2001. – **35**, № 3. – С. 71 – 77.
6. *Солдатов А. А.* Физиологические аспекты действия уретанового наркоза на организм морских рыб // Гидробиол. журн. – 2003. – **39**, №1. – С. 51 – 63.
7. *Солдатов А. А.* Цитохромная система и напряжение кислорода в мышечной ткани морских рыб различной естественной активности // Журн. эволюц. биох. физиол. – 1996. – **32**, № 2. – С. 142 – 146.
8. *Солдатов А. А., Парфенова И. А., Коношенко С. В.* Гемоглобиновая система черноморского бычка-кругляка в условиях экспериментальной гипоксии // Укр. биох. журн. – 2004. – **76**, № 3. – С. 85 – 90.
9. *Таикэ К.* Введение в количественную цитогистологическую морфологию. – Бухарест: Изд-во Академии Респ. Румынии, 1980. – 291 с.
10. *Шебанин В. М., Подушка С. Б.* Бычок-кругляк заселяет Оку // Научно-техн. бюлл. лаб-рии. ихтиол. ИНЭНКО. – 2009. – № 15. – С. 5 – 9.
11. *Baldisserotto B., Chippari-Games A. R., Lopes N. P., Bicudo J. E. P. W., Paula-Silva M. N., Almada V. M. F., Val A. L.* Ion fluxes and haematological parameters of two teleosts from the Rio Negro, Amazon exposed to hypoxia // Brazil. J. Biol. – 2008. – **68**, No 3. – P. 336 – 345.
12. *Chapman C. A., Renshaw G. M.* Hematological responses of the grey carpet shark (*Chiloscyllium punctatum*) and the epaulette shark (*Hemiscyllium ocellatum*) to anoxia and re-oxygenation // J. Exp. Zool. Part A. – 2009. **311**, No 6. – P. 422 – 438.
13. *Corkum L. D., Sapota M. R., Skora K. E.* The round goby, *Neogobius melanostomus*, a fish invader on both sides of the Atlantic Ocean // Biol. Invasions. – 2004. – **6**, No 2. – P. 173 – 181.
14. *Houston A. H., Murad A.* Erythrocyte dynamics in fish: recovery of the goldfish from acute anemia // Can. J. Zool. Rev. Can. Zool. – 1995. – **73**. – P. 411-418.
15. *Houston A. H., Roberts W. C., Kennington J. A.* Hematological response in fish: pronephric and splenic involvements in the goldfish // Fish Physiol. Biochem. – 1996. – **15**. – P. 481 – 489.
16. *Kim D. S., Jo Y. Y., Lee T. Y.* Induction of triploidy in mud loach and its effect on gonad development and growth // Aquaculture. – 1994. – **120**, No 3-4. – P. 263 – 270.
17. *Perry S. F., Thomas S.* The effects of endogenous of exogenous catecholamines on blood respiratory status during acute hypoxia in rainbow trout // J. Comp. Physiol. – 1991. – **161B**. – P. 489 – 497.
18. *Rothmann C., Levinshal T., Timan B., Avtalion R. R., Malik Z.* Spectral imaging of red blood cells in experimental anemia of *Cyprinus carpio* // Comp. Biochem. Physiol. – 2000. – **125A**. – P. 75 – 83.
19. *Siddall M. E., Measures L. N., Desser S. S.* Seasonal changes in erythrocyte osmotic fragility and haematocrit in American plaice infected with *Haemohormidium terranova* // J. Fish Biol. – 1995. – **47**, No 1. – P. 1 – 6.
20. *Skora K. E., Stolarski J.* *Neogobius melanostomus* (Pallas) a new immigrant species in the Baltic Sea // Proceed. of the 2nd Intern. Estuar. Symp. – Gdynia, 1996. – P. 218.
21. *Soldatov A. A.* The effect of hypoxia on red blood cells of flounder: a morphologic and autoradiographic study // J. Fish Biol. – 1996. – **48**. – P. 321 – 328.

22. Soldatov A.A. The reasons of high resistance of *Neogobius melanostomus* P. to external hypoxia: comparative investigations // Baltic Sea Science Cong.: Abstr. (Stockholm, Sweden, Nov. 25-29, 2001). – Stockholm: Mar. Res. Center, 2001. – P. 304.

Поступила 12 января 2011 г.

Функціональна морфологія циркулюючих еритроцитів бичка-кругляка в умовах експериментальної гіпоксії. І. О. Парфьонова, О. О. Солдатов. Досліджено в експериментальних умовах вплив зовнішньої гіпоксії (концентрація O_2 у воді – $1.7 - 1.8 \text{ mg l}^{-1}$) на зміст незрілих еритроїдних форм у крові і морфометричні характеристики циркулюючих еритроцитів у чорноморського бичка-кругляка (*Neogobius melanostomus* P.). Показано, що в умовах дефіциту кисню відбувався ріст значень гематокриту. Концентрація гемоглобіну і число еритроцитів у крові не змінювалися. Дана реакція була обумовлена свелінгом циркулюючих кліток червоної крові внаслідок гідратації їхньої цитоплазми, про що свідчив характер зміни еритроцитарних індексів (*MCH*, *MCHC*, *MCV*). Експериментальна гіпоксія викликала ріст обсягу ядер і ядерно-плазматичних відносин у зрілих еритроцитів бичка-кругляка. В умовах гіпоксії підсилювалися процеси проліферації у еритроїдному рядові клітин, про що свідчив переважний ріст змісту в крові найменш диференційованих еритроїдних форм – базофільних нормобластів. Обговорюються процеси, що лежать в основі даних змін.

Ключові слова: гіпоксія, гематологія, еритроцитарні індекси, еритропоез, цитометрія, *Neogobius melanostomus*

Functional morphology of round goby circulatory erythrocytes under experimental hypoxia conditions. I. A. Parfyonova, A. A. Soldatov. Influence external hypoxia (concentration O_2 in water – $1.7 - 1.8 \text{ mg l}^{-1}$) on the contents immature erythroid forms in blood and morphological characteristics circulating erythrocytes at *Neogobius melanostomus* P. were investigated under experimental conditions. It was shown, that hematocrit value was increased under conditions deficiency oxygen. Hemoglobin concentration and erythrocyte number in blood were not change. This reaction was determinate the swelling of red blood cells as a result of hydration of their cytoplasm that reflected character of erythrocyte indexes change (*MCH*, *MCHC*, *MCV*). Experimental hypoxia was determined the rise of nucleus volume and nucleo-plasmatic ratio at mature erythrocytes of *N. melanostomus*. Under hypoxia conditions the proliferation processes in erythroid line of cells were more intensify. It was reflected, increasing of content of the least differentiated erythroid forms in blood – basophilic normoblasts. The processes determining of these reactions were discussed.

Key words: hypoxia, hematology, erythrocytes indexes, erythropoiesis, cytometry, *Neogobius melanostomus*