



ВЛИЯНИЕ ОСПЕННОЙ ИНФЕКЦИИ НА МОРФО- И ИММУНО- ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ КАРПА *CYPRINUS CARPIO* L.

Н.И. Силкина (фото)
к.б.н., с.н.с. лаборатории иммунологии
ФГБУН ИБВВ им. И.Д. Папанина РАН, п. Борок
В.Р. Микряков
д.б.н., профессор, г.н.с. ФГБУН ИБВВ
им. И.Д. Папанина РАН, п. Борок
А.С. Соколова
аспирант лаборатории иммунологии
ФГБУН ИБВВ им. И.Д. Папанина РАН, п. Борок

*Карп, инфекция, индексы
иммунокомпетентных
органов, гемолиз
эритроцитов, липиды,
БАСК*

*Carp, an infection, indexes
of immunocompetent
organs, a hemolysis of
erythrocytes, lipids, blood
serum bacteriostatic
activity*

Оспа карпов (*Epithelioma papulosum cyprinorum*) – вирусное заболевание, вызывающее повреждение эпидермиса и появление на теле рыб эпителиом. В основном болеют карповые рыбы в летне-осенний период в возрасте двух лет и старше. Заболевшие рыбы характеризуются низкими темпами роста, развития и характерными для миопатии и остеомалации признаками. Основная причина, вызывающая активацию оспенной инфекции – неблагоприятные условия содержания: высокая степень интенсификации производства и плотность посадки, слабый режим работы обеззараживающего и очистного оборудования, кормление рыб недоброкачественными кормами (с окисленным прогоркшим жиром, с низким содержанием витаминов, дефицитом кальция) и др. [1, 2, 3].

В доступной литературе достаточно сведений о характере изменений иммуно-физиологических и биохимических показателей у рыб, пораженных инфекционными заболеваниями. При этом аналогичные сведения о рыбах, пораженных вирусными болезнями, в том числе оспой, отсутствуют. Знание этого вопроса представляется важным для понимания характера повреждающего действия оспенной инфекции на иммунологические механизмы гомеостаза, обеспечивающие резистентность рыб к болезнетворным агентам, и оценки патогенного влияния болезни на рыб, а также при разработке вопросов иммунокоррекции и диагностики.

Цель работы – исследование морфо- и иммуно-физиологических показателей пораженных оспенной инфекцией карпов *Cyprinus carpio* L.

Методика

Объектом для исследования послужили заболевшие оспой на экспериментальной прудовой базе ИБВВ РАН «Сунога» двухлетки карпа *Cyprinus carpio* средней массой 150-160 г, размером 21-22 см. Сбор материала проводили перед пересадкой рыб в зимовальные пруды.

Оценку морфо- и иммуно-физиологического состояния проводили по данным анализа коэффициента упитанности, соматических индексов иммунокомпетентных органов (печени, туловищной почки, селезенки), интенсивности перекисного гемолиза эритроцитов, содержанию общих липидов (ОЛ) в тканях и их качественному составу, бактериостатической активности сыворотки крови (БАСК).

Коэффициенты упитанности (К. упит.) определяли по Фултону и Кларк, индексы органов оценивали по формуле: $X = A / B \times 100$, где X – индекс органа, %; A – масса органа, г; B – масса рыбы, г.

Интенсивность перекисного гемолиза эритроцитов (ПГЭ) устанавливали по методу F. Jager. Принцип метода заключается в определении оптической плотности крови при длине волны 540 нм. Величину гемолиза рассчитывали по формуле:

$$\% \text{ гемолиза} = \frac{(E_1 + E_2)}{2E_k} \times 100\%,$$

где E_1 и E_2 – оптическая плотность опытных проб; E_k – оптическая плотность контрольной пробы.

ОЛ в тканях изучали по Фолчу, качественный состав липидов выявляли методом тонкослойной хроматографии на пластинках «Silufol».

БАСК оценивали нефелометрическим методом в модификации В.Р. Микрякова [4]. Кровь для

получения сыворотки брали из хвостовой вены. В качестве тест-микробов использовали суточную культуру *Aeromonas hydrophila*. В зависимости от уровня БАСК выявляли долю ИМД особей, сыворотка крови которых не угнетала развитие тест-микробов.

Статистическую обработку результатов исследования проводили по стандартным алгоритмам, реализованным в пакете программ (Statistica) с использованием t-теста ($p < 0.05$).

Результаты исследований

Оспенная инфекция оказывает модифицирующее влияние на исследуемые показатели. Больные рыбы отличались от таковых здоровых морфофункциональными, иммунологическими и биохимическими характеристиками (табл. 1, 2).

Анализ коэффициентов упитанности, отражающих темпы роста рыб, не позволил выявить различия между опытными и контрольными рыбами, несмотря на низкие величины соматических индексов некоторых иммунокомпетентных органов (табл. 1).

Индекс туловищной почки у больных рыб был ниже на 15.5%, а печени – на 9.1% по сравнению с таковым у контрольных, тогда как относительная масса селезенки колебалась в пределах нормы. Низкие величины соматических индексов почек и печени больных особей позволяют думать, что мишенью патогенного влияния оспенной инфекции являются ткани и органы, ответственные за поддержание иммунного гомеостаза, нейтрализацию чужеродных тел, синтез специфических антител и неспецифических факторов иммунной защиты. Известно, что почки костистых рыб, в т.ч.

Таблица 1 – Морфо- и иммуно-физиологические показатели состояния карпа

Показатели	Здоровые	Больные
Число рыб, экземпляров	10	14
К. упит. по Фултону	1.22	1.21
К. упит. по Кларк	1.09	1.03
Индекс печени	2.06	1.89*
Индекс почки	1.02	0.89*
Индекс селезенки	0.25	0.26
ПГЭ, %	12.6±1.38	26.3±2.27*
БАСК, %	51.3±9.27	24.2±8.33*
Количество ИМД: экземпляров	0	5
% от общего числа	0	35.7

Примечание: * – достоверные отличия при $p \leq 0.05$.

карпа, являются одним из основных иммунокомпетентных органов, основную массу которых составляет лимфомиелоидная ткань [4, 5, 6], выполняющая разнообразные иммунологические и гемопозитические функции, аналогичные таковым костного мозга и лимфатических узлов высших позвоночных. Печень – полифункциональный орган, участвующий в реализации метаболических и иммунологических функций, связанных с разрушением чужеродных тел, детоксикацией токсикантов и синтезом белков, липидов, углеводов и т.д. [4, 5]. Снижение индексов почек и печени отражает атрофию этих органов и истощение морфологических основ иммунной системы рыб, прежде всего лимфомиелоидной ткани. Аналогичный характер изменения индексов иммунокомпетентных органов нами установлен при воздействии на рыб токсических и паразитарных факторов [7, 5].

Пораженные оспой карпы достоверно отличались от здоровых особей более низкими величинами БАСК (табл. 1) – интегрального показателя противомикробных свойств гуморального звена неспецифического иммунитета: лизоцима, комплемента, пропердина, протеаз, С-реактивного белка, агглютининов, преципитинов и т.д. [4]. Сходные результаты установлены нами у рыб при инфекционных и инвазионных заболеваниях [7, 8]. Кроме того, у пораженных папиллозной эпителиомой карпов выявлены ИМД особи, сыворотка крови которых не обладала антимикробными свойствами, тогда как среди здоровых особей таковые отсутствовали. Ранее нами также отмечено снижение этого показателя и увеличение доли ИМД особей у рыб, обитающих в антропогенно загрязненных участках естественных водоемов [5].

У больных карпов, в отличие от показателей БАСК, содержание в крови гемолизинов (показатель ПГЭ) было в 2 раза выше, чем у здоровых (табл. 1), что связано со снижением стабильности мембраны эритроцита, дефицитом антиоксидантов, в частности, α -токоферола и увеличением содержания вирусиндуцируемых гемолитических антител. Количество гемолизинов, как правило, увеличивается при инфекционных и аутоиммунных заболеваниях [9], а также при воздействии на рыб неблагоприятных стресс-факторов биотической и абиотической природы [5].

У пораженных оспой рыб изменяются не только морфологические характеристики иммунокомпетентных органов, антибиотические функции гуморального иммунитета, но и биохимические характеристики показателей липидного обмена.

Известно, что липиды в организме рыб участвуют не только в энергетическом, пластическом и генеративном обмене, реализации процессов роста, развития и адаптации, но и осуществляют целый ряд важнейших жизненных функций – гидростатическую, теплоизолирующую, механическую, иммунологическую и др. [10]. Показано, что параметры липидного обмена являются надежным диагностическим тестом, отражающим последствия воздействия разнообразных неблагоприятных факторов на состояние здоровья рыб [11]. Под влиянием различных стресс-факторов у рыб нарушаются темпы и направление липидного обмена, изменяется соотношение между процессами липолиза и липогенеза, что отражается на уровне содержания липидов и их качественном составе [12, 13]. Об этом свидетельствуют данные содержания ОЛ и отдельных фракций липидов в иммунокомпетентных тканях и органах больных рыб (табл. 2). У больных рыб отмечено увеличение содержания ОЛ во всех исследуемых органах. Максимальные величины выявлены в печени и сыворотке крови. Такое изменение содержания ОЛ, вероятно, обусловлено активизацией процессов липогенеза, вызванное дегенерацией липидного обмена. Аналогичные данные ранее нами получены на рыбах после воздействия загрязняющих веществ и при лигулезной инвазии [5, 7, 12].

Из представленных данных следует, что больные особи отличались от здоровых величинами содержания отдельных липидных компонентов. Оспенная инфекция вызывает модификацию исследуемых показателей. У пораженных оспой карпов выявлены высокие показатели фосфолипидов (ФЛ) и холестерина (Хл) и низкие неэтерифицированных жирных кислот (НЭЖК), за исключением сыворотки крови, триацилглицеринов (ТАГ), эфиров стероидов (ЭС) и углеводов. Наибольшие изменения фракционного состава у больных рыб происходили в печени, а наименьшие – в почках (табл. 2). ФЛ и Хл являются основными компонентами биологической мембраны, обеспечивающими структурную целостность и функциональное состояние мембран (проницаемость, проводимость, устойчивость, микровязкость и др.). Увеличение доли содержания структурных ФЛ и свободного Хл, видимо, обусловлено серьезными нарушениями липидных компонентов клеток, происходящими в организме заболевших рыб под влиянием оспенного патогена. Увеличение ФЛ и Хл в тканях и органах, обнаруженное у больных карпов, соответствует

Таблица 2 – Содержание и фракционный состав липидов

Источники (органы)	ОЛ, мг%	Фракции липидов (% суммы)					
		ФЛ	Хл	НЭЖК	ТАГ	ЭС	У
Печень	$\frac{3956 \pm 290}{4877 \pm 210^*}$	$\frac{39.2 \pm 0.35}{45.5 \pm 0.82^*}$	$\frac{8.6 \pm 0.15}{16.1 \pm 0.50^*}$	$\frac{3.9 \pm 0.15}{1.4 \pm 0.17^*}$	$\frac{33.8 \pm 0.05}{29.1 \pm 0.97^*}$	$\frac{10.1 \pm 0.37}{4.5 \pm 0.23^*}$	$\frac{4.4 \pm 0.21}{3.4 \pm 0.17}$
Сыворотка крови	$\frac{946 \pm 159}{1140 \pm 440^*}$	$\frac{25.2 \pm 0.26}{26.3 \pm 0.23}$	$\frac{13.6 \pm 0.24}{20.2 \pm 0.20^*}$	$\frac{9.2 \pm 0.51}{13.8 \pm 0.72^*}$	$\frac{24.2 \pm 0.43}{19.8 \pm 0.24^*}$	$\frac{22.1 \pm 0.14}{14.6 \pm 0.42^*}$	$\frac{5.7 \pm 0.47}{5.3 \pm 0.47}$
Селезенка	$\frac{3353 \pm 270}{3403 \pm 288}$	$\frac{58.7 \pm 0.55}{60.2 \pm 0.26}$	$\frac{10.1 \pm 0.63}{14.8 \pm 0.69^*}$	$\frac{5.0 \pm 0.12}{4.0 \pm 0.03}$	$\frac{11.3 \pm 0.26}{9.0 \pm 0.10^*}$	$\frac{9.3 \pm 0.50}{5.5 \pm 0.38^*}$	$\frac{7.6 \pm 0.26}{6.5 \pm 0.17}$
Почка	$\frac{2416 \pm 167}{2740 \pm 258^*}$	$\frac{25.0 \pm 0.08}{27.6 \pm 0.28^*}$	$\frac{30.1 \pm 0.32}{33.1 \pm 0.14^*}$	$\frac{7.8 \pm 0.23}{7.9 \pm 9.20}$	$\frac{18.8 \pm 0.39}{18.4 \pm 0.51}$	$\frac{12.0 \pm 0.11}{6.9 \pm 0.23^*}$	$\frac{6.3 \pm 0.20}{6.1 \pm 0.17}$

Примечание: * – достоверные отличия при $p \leq 0.05$; над чертой – здоровые, под чертой – больные.

таковым у установленных на других видах рыб при воздействии на них биотических и абиотических стресс-факторов [10, 11, 13]. Кроме того, повышение уровня Хл предшественника кортизола отражает стрессированность организма.

НЭЖК – основной структурный компонент многих липидов сложной структуры (нейтральных жиров, мембранных липидов, фосфолипидов, восков и др.). Зафиксированное у больных рыб изменение содержания НЭЖК, выполняющих транспортную функцию, видимо, обусловлено потребностью организма в этих липидах для поддержания активности метаболических процессов.

Пониженный уровень запасных энергетических липидов – ТАГ у пораженных карпов может быть связан с более интенсивным использованием липидов для обеспечения энергетических потребностей организма. Кроме того, низкие величины ТАГ являются показателем, отражающим общее истощение организма [10, 11].

Величины содержания ЭС – запасной энергетической формы липидов, служащей источником для биосинтеза других липидов, в частности, НЭЖК, липопротеидов низкой плотности и др. – во всех исследуемых тканях и органах больных карпов имели достоверно низкие значения, чем у здоровых, что, вероятно, обусловлено перерас-

пределением липидных фракций и активацией синтеза липопротеидов и других липидных компонентов. Установленные различия в липидном обмене больных рыб свидетельствуют, что вирусная инфекция вызывает дисрегуляцию липидного обмена, перераспределение липидных фракций, нарушение биохимических механизмов гомеостаза и снижение адаптивного потенциала.

Выводы

Больные папилезной эпителиомой рыбы отличались от таковых здоровых состоянием иммунокомпетентных органов и тканей, уровнем БАСК и ПГЭ, характером липидного обмена. Негативное влияние оспенной инфекции на организм рыбы связано с супрессией функции гуморальных факторов иммунитета, атрофией иммунокомпетентных органов, интенсификацией процессов гемолиза эритроцитов, дисрегуляцией и дестабилизацией липидного обмена.

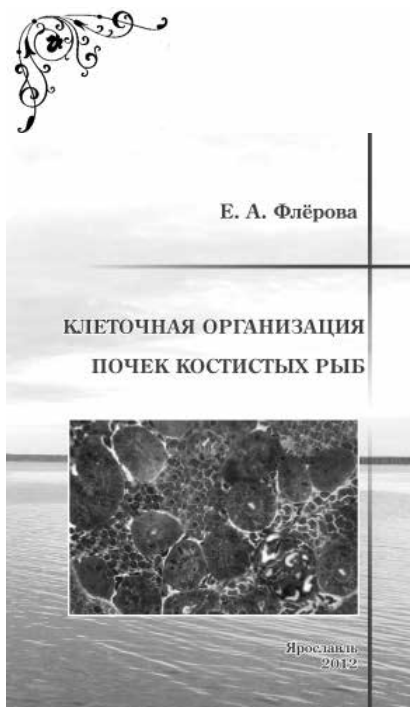
Полученные данные отражают характер повреждающего действия оспенной инфекции на морфо- и иммуно-физиологические механизмы гомеостаза и могут служить основой при разработке профилактических и терапевтических мероприятий при индустриальных способах выращивания карпа.

Литература

1. Головина, Н.А. Ихтиопатология [Текст] / Н.А. Головина, Ю.А. Стрелков, В.Н. Воронин и др. – М.: Мир, 2007. – 448 с.
2. Гончаров, Г.Д. Элементарные тельца оспы рыб [Текст] / Г.Д. Гончаров // Вопросы вирусологии. – 1960. – № 2. – С. 115-118.
3. Sano, T. A preliminary report on pathogenicity and on-cogenicity Cyprinid Herpesvirus [Text] / T. Sano, N. Morita, N. Shima, M. Akimoto // Bull. Eur. Ass. Fish Pathol – 1990. – 10(1). – P. 11-13.
4. Микряков, В.Р. Закономерности формирования приобретенного иммунитета у рыб [Текст] / В.Р. Микряков. – Рыбинск: ИБВВ РАН, 1991. – 154 с.

5. Микряков, В.Р. Реакция иммунной системы рыб на загрязнение воды токсикантами и закисление среды [Текст] / В.Р. Микряков, Л.В. Балабанова, Е.А. Заботкина, Т.Б. Лапирова, А.В. Попов, Н.И. Силкина. – М.: Наука, 2001. – 126 с.
6. Zapata, A.G. Cells and tissues of the immune system of fish. [Text] / A.G. Zapata, A. Chiba, A. Varas. – London. Acad. Press, 1996. – P. 1-62.
7. Микряков, В.Р. Иммуно-физиологическое состояние леща Рыбинского водохранилища при лигулезе [Текст] / В.Р. Микряков, Н.И. Силкина // Инф. бюлл. МИК Итоги научно-практических работ в ихтиопатологии. – 1997. – С. 79-80.
8. Силкина, Н.И. Иммуно-биохимический статус плотвы *Rutilus rutilus* при сапролегниозной инвазии [Текст] / Н.И. Силкина, В.Р. Микряков, Д.В. Микряков // Вопросы рыболовства. – 2011 – Т. 12. – № 1(45). – С. 138–142.
9. Идельсон, Л.И. Анемии [Текст] / Л. И. Идельсон // Руководство по клинической лабораторной диагностике. – Киев.: Высшая школа, 1991. – Часть 1. – С. 381-450.
10. Лапин, В.И. Особенности состава, физиологическое и экологическое значение липидов рыб [Текст] / В. И. Лапин, М. И. Шатуновский // Успехи соврем. биологии. – 1981. – Т. 1. – С. 380-394.
11. Гершанович, А.Д. Особенности обмена липидов у рыб [Текст] / А.Д. Гершанович, В.И. Лапин, М.И. Шатуновский // Успехи соврем. биологии. – 1991. – Т. 3. – Вып. 2 – С. 207-219.
12. Силкина, Н.И. Влияние сублетальных концентраций ионов кадмия на некоторые показатели липидного обмена рыб [Текст] / Н.И. Силкина, В.Р. Микряков // Токсикологический вестник. – 2006 – № 1. – С. 20-24.
13. Смирнов, Л.П. Липиды в физиолого-биохимических адаптациях эктотермных организмов к абиотическим и биотическим факторам среды [Текст] / Л.П. Смирнов, В.В. Богдан – М.: Наука, 2007. – 182 с.

ОБЪЯВЛЕНИЕ



В издательстве ФГБОУ ВПО «Ярославская ГСХА» в 2012 г. вышла монография «Клеточная организация почек костистых рыб (на примере отрядов Cypriniformes и Perciformes)» / Е.А. Флёрова.

В монографии рассмотрены вопросы клеточной организации тканей почек пресноводных и морских костистых рыб отрядов Cypriniformes и Perciformes.

Монография обобщает сведения об онтогенетическом развитии, строении и функционировании почек рыб различных филогенетических групп. Здесь приводятся данные о механизмах осморегуляции рыб, обитающих в водоемах с различной соленостью. Рассматриваются проблемные вопросы классификации форменных элементов костистых рыб. Детально изучается структурная организация про- и мезонефроса, представляющая собой морфологический базис для осуществления функций кроветворения, выделения и эндокринной регуляции. Описывается ультраструктура лейкоцитов интерстиция и эпителиальных клеток нефрона. Показывается общность структурной организации почек пресноводных и морских костистых рыб и различия в морфологии и соотношении некоторых клеточных элементов, что отражает адаптацию организма к различной солености и кислородному режиму среды обитания.

Монография предназначена для научных сотрудников, преподавателей, аспирантов и студентов высших учебных заведений биологического, сельскохозяйственного и ветеринарного профиля.

Работа выполнена при финансовой поддержке Совета по грантам Президента РФ, грант МК-652.2011.4 и поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант 11-04-01168-а).

УДК 597.5:591.461.2; ББК 28.693.32; ISBN 978-5-98914-115-9; 140 с. (МЯГКИЙ ПЕРЕПЛЕТ)

**ПО ВОПРОСАМ ПРИОБРЕТЕНИЯ ОБРАЩАТЬСЯ ПО АДРЕСУ:
150042, г. Ярославль, Тутаевское шоссе, 58. ФГБОУ ВПО «Ярославская ГСХА»**

E-mail: vlv@yarcx.ru