

ХАРАКТЕР ИЗМЕНЕНИЯ СОСТАВА ЛЕЙКОЦИТОВ ПРИ СТРЕССИНДУЦИРУЕМОМ СИНДРОМЕ ЯЗВЕННОЙ БОЛЕЗНИ РЫБ (НА ПРИМЕРЕ КАРПА *CYPRINUS CARPIO*)

© 2008 г. Д.В. Микряков, В.Р. Микряков, Л.В. Балабанова

Институт биологии внутренних вод им. И.Д.Папанина РАН,
Ярославская обл., Некоузский р-н, пос. Борок 152742

Поступила в редакцию 25.04.2007 г.

Окончательный вариант получен 17.05.2007 г.

Дана характеристика состава и уровня содержания лейкоцитов в периферической крови и иммунокомпетентных органах (почки и селезенки) карпа *Cyprinus carpio* при стрессиндуцируемой язвенной болезни кожи (ЯБК). Показано сходство и различие в уровне содержания отдельных типов лейкоцитов пораженных и непораженных синдромом ЯБК рыб.

Синдром язвенной болезни кожи (ЯБК) является патогенетическим признаком многих широко распространенных заболеваний рыб, таких как аэромоноз, псевдомоноз, вибриоз, гемофилез (Рудиков, Грищенко, 1985; Болезни рыб: справочник 1989; Грищенко, Смирнова, 2000; Sayackkara, Srivastava, 1997; Udowkasouri et al., 2002). Характерными признаками являются изъязвление кожи, образование на поверхности тела разных по форме, размеру язвенных образований.

Эпизоотии ЯБК в основном появляются после воздействия на рыб стресс-факторов (Болезни рыб: Справочник, 1989). Наиболее часто ЯБК рыбы болеют после нереста, транспортировки, резких перепадов температуры, ухудшения условий среды обитания, вызванных загрязнением воды разными по природе и происхождению поллютантами, при нарушении нормы посадки, кормлении недоброкачественными кормами и т.д.

Из анализа существующих представлений о природе и факторах, способствующих ЯБК у рыб следует, что появлению заболевания предшествует снижение общей резистентности организма, вызванное ослаблением функции и истощением иммунной системы под влиянием стресс-факторов. Известно, что стрессорная реакция сопровождается активацией синтеза гормонов стресса: адренокортикотропного гормона, кортизола, катехоламинов и др. (Баюнова и др., 2000; Мартемьянов, 2002; Smith, 1982; Pickering, 1993; Wendelaar Bonga, Sjoerd, 1997). Кортизол и его производные относятся к иммуносупрессивным гормонам (Микряков, 2004), которые в условиях эксперимента, как у стрессированных рыб, вызывают дестабилизацию структурно-функционального состояния клеточных и гуморальных факторов иммунитета, истощение иммунной системы и супрессию адаптивного иммунитета к паразитам (Микряков, 2004; Ellis, 1981, Wendelaar Bonga, Sjoerd, 1997).

Вместе с тем, вопрос о характере изменения состава лейкоцитов, являющихся основными клетками иммунной системы во всем многообразии их субпопуляций, при стресс индуцированной ЯБК карпов следует считать недостаточно изученным.

Между тем, патологические процессы у стрессированных рыб, проявляющиеся в виде ЯБК, свидетельствуют о нарушении функции клеточного звена иммунитета по распознаванию «своего» и «чужого», разрушению и отторжению чужеродных тел, обеспечению структурной

целостности организма рыб, повышению их адаптивного потенциала к паразитам (Микряков, 1991; Микряков и др., 2001; Микряков, Микряков, 2005). Исходя из вышеизложенного, представляется весьма важным определение характера изменения состава лейкоцитов при синдроме ЯБК, от структурно-функционального состояния, которых зависит сохранение индивидуальной целостности, реализация трофических, регенерационных процессов и иммунитета рыб к патогенным организмам.

Настоящее сообщение посвящено изучению сходства и различия состава лейкоцитов между пораженными и непораженными ЯБК карпами *Cyprinus carpio* L. Изучение этого вопроса позволит подойти к оценке понимания роли клеточного звена иммунной системы в поддержании структурной целостности организма и иммунитета к этиологическим и патогенетическим факторам вызывающим язвенное повреждение кожи и разработке мероприятий по профилактике язвенного синдрома.

Целью работы является определение характера реагирования клеточного звена иммунной системы карпа при стрессиндуцируемом синдроме ЯБК, установление связи происходящих в составе лейкоцитов дестабилизационных процессов с язвенным повреждением кожи.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Материалом для исследования послужили заболевшие после транспортировки синдром ЯБК карпы *Cyprinus carpio*. Рыб в возрасте 2+, 3+ средней массой 200-250 г перевозили в пластиковых ваннах объемом 1 м³ в течение 10 часов из тепловодного рыбоводного хозяйства ОАО РТФ «Диана» поселка Кадуй Вологодской области до экспериментальной базы «Сунога» ИБВВ им. И.Д. Папанина РАН. После транспортировки рыб содержали в принудительно аэрируемых аквариумах при температуре воды 18-20°C. Через 1 неделю у 16 особей из 39 карпов отмечено язвенное повреждение кожи на разных участках поверхности тела.

Состав лейкоцитов определяли в мазках крови, полученной из хвостовой вены, и мазках-отпечатках иммунокомпетентных органов (почек и селезенки). Мазки фиксировали этиловым спиртом и окрашивали по Романовскому-Гимза. В каждой мазке с использованием светового микроскопа МБИ-15 определяли относительное количество лейкоцитов: лимфоцитов, нейтрофилов, эозинофилов, базофилов, моноцитов и бластных форм клеток. В качестве контроля использовали данные, полученные от карпов не заболевших язвенной болезнью после транспортировки.

Результаты исследований подвергали статистической обработке при помощи стандартного пакета программ (Microsoft Office 98, приложение Statistica) с последующей оценкой различий с использованием t-теста, $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Лейкоциты карпа *Cyprinus carpio*, как видно из материалов исследования, состоят из разных по структуре и функциональному значению типов клеток (табл. 1-3). По составу лейкоциты больных с ЯБК не отличались от таковых здоровых особей. Во всех исследуемых тканях и органах выявлены характерные для данного вида типы клеток: лимфоциты, моноциты, палочко- и сегментоядерные нейтрофилы, эозинофилы и базофилы, и бласты (Иванова, 1983; Головина, Тромбицкий, 1989). Лимфоциты представляют самый

большой пул иммунокомпетентных клеток, на долю которых в периферической крови и тканях селезенки приходится более 70% из состава лейкоцитов (табл. 1, 2) и около 40% в лимфоидной ткани почек (табл. 3). Согласно современным представлениям, лимфоцит является ключевой клеткой иммунной системы, обеспечивающей все основные реакции иммунитета (Микряков, 1991; Галактионов, 1998; Хаитов и др., 2002) по распознаванию, разрушению, отторжению чужеродных тел, синтезу антител, сохранению индивидуальной целостности и формированию адаптивного иммунитета. По характеру выполняемой функции, содержанию мембранных образ распознающих иммуноглобулиновых рецепторов, гистогенезу и продолжительности жизни лимфоциты гетерогенны и подразделяются на две субпопуляции. Условно их обозначают как Т- и В-лимфоциты (Микряков, 1991; Микряков и др., 2001; Кондратьева и др., 2001; Степанова, Микряков, 2002; Sizemore et al., 1984; Clem et al., 1988; Manning, Nakanishi, 1996). Т-лимфоциты в организме рыб осуществляют распознавание «своего» и «чужого», участвуют в передаче антигена (иммуногена) макрофагам, вызывают активацию фагоцитов вырабатываемыми ими лимфокинами, обладают цитотоксической активностью, оказывают помощь В-клеткам в антителогенезе и т.д. Местом образования этих клеток является тимус, и они относятся к долгоживущим клеткам (Manning, Nakanishi, 1996). Популяция В-лимфоцитов выполняет функцию синтеза антител и образования предшественников антителообразующих клеток. Они относятся к короткоживущим клеткам (Микряков, 1991). В состав лимфоцитов входят также естественные или натуральные киллеры, осуществляющие разрушение опухолевых и вирусинфицированных клеток. Им принадлежит важная роль в поддержании врожденного иммунитета (Галактионов, 1998; Ройт и др., 2000; Хаитов и др., 2002).

Таблица 1. Уровень содержания лейкоцитов в периферической крови пораженных и непораженных язвенной болезнью карпов, %.

Table 1. Level of the contents of leukocytes in peripheral blood of the carps lesion and not lesion by syndrome of the ulcer diseased of a skin, %.

Категория рыб	Лимфоциты	Моноциты	Палочко-ядерные нейтрофилы	Сегментоядерные нейтрофилы	Эозинофилы	Базофилы	Бластные формы
здоровые	77,2±2,01	1,3±0,13	12,6±1,34	2,7±0,52	1,2±0,20	0,2±0,07	4,6±0,62
больные	61,2±3,90*	1,4±0,21	25,5±3,41*	3,7±0,72	2,4±0,43*	0,6±0,18	4,9±0,93

Примечание: во всех таблицах звездочкой отмечены данные, достоверного отличия при $p \geq 0,05$.

Note: in all tables * – difference is significant at $p \geq 0,05$.

Таблица 2. Уровень содержания лейкоцитов в селезенке пораженных и непораженных язвенной болезнью карпов, %.

Table 2. Level of the contents of leukocytes in spleens of the carps lesion and not lesion by syndrome of the ulcer diseased of a skin, %.

Категория рыб	Лимфоциты	Моноциты	Палочко-ядерные нейтрофилы	Сегментоядерные нейтрофилы	Эозинофилы	Базофилы	Бластные формы
здоровые	70,1±1,16	1,2±0,08	4,4±0,38	1,1±0,22	2,0±0,20	0,5±0,06	20,7±0,99
больные	68,5±1,54	1,6±0,11*	8,0±1,39*	1,1±0,22	2,8±0,29*	0,4±0,05	17,2±0,70*

Таблица 3. Уровень содержания лейкоцитов в почках пораженных и непораженных язвенной болезнью карпов, %.

Table 3. Level of the contents of leukocytes in kidneys of the carps lesion and not lesion by syndrome of the ulcer diseased of a skin, %.

Категория рыб	Лимфоциты	Моноциты	Палочко-ядерные нейтрофилы	Сегментоядерные нейтрофилы	Эозинофилы	Базофилы	Бластные формы
здоровые	35,8±0,91	1,9±0,15	34,1±1,23	2,6±0,23	2,5±0,20	2,0±0,14	20,7±0,94
больные	36,0±1,66	2,0±0,19	32,9±1,84	1,9±0,34	2,6±0,26	1,7±0,16	22,6±1,34

По уровню содержания лимфоцитов рыбы отличаются от теплокровных и человека (Иванова, 1983). В составе лейкоцитов рыб на долю лимфоцитов приходится свыше 60-90% клеток (Иванова, 1983; Головина, Тромбицкий, 1989; Микряков, 1991), тогда как у теплокровных – менее 60% (Алмазов и др., 1979; Александровская и др., 1987). Лимфоциты у рыб, как и у всех позвоночных животных, относятся к группе наиболее быстро реагирующих клеток иммунной системы на внедрение в организм чужеродных тел, на начало воспалительного процесса.

Популяция лимфоцитов в онтогенезе и в зависимости от условий среды обитания и воздействия на рыб разных по природе стресс-факторов и при болезнях самой разной этиологии (инфекциях, токсикозах, инвазиях) и аутоиммунных процессах сильно колеблется. Рыбы на воздействие стрессоров и на внедрение в организм чужеродных тел в большинстве случаев реагируют снижением доли содержания лимфоцитов, или лимфопенией. Уменьшение лимфоцитов при стрессе в основном происходит за счет Т-лимфоцитов (Лебедев, Понякина, 2003; Степанова, Микряков, 2004). Явление лимфопении, как правило, наблюдается при патологических и хронических течениях воспалительных процессов. Лимфопения является неблагоприятным для здоровья и адаптации рыб к возмущающим факторам признаком, отражающим снижение эффективной работы иммунной системы и синдром иммунной недостаточности клеточного звена иммунитета.

В реализации функции иммунной защиты, процессов адаптации и обеспечения иммунитета к чужеродным телам важная роль принадлежит и другим типам лейкоцитов: гранулоцитам и моноцитам. Гранулоциты у карпа представляют собой смешанную популяцию, состоящую из нейтрофилов, эозинофилов и базофилов (Иванова, 1983; Головина, Тромбицкий, 1989). Эти клетки отличаются наличием в цитоплазме разных по ультратонкой структуре (Балабанова, 1997) и отношению к красителям (окрашивание по Романовскому) гранул. Нейтрофилы по форме ядра подразделяются на палочко- и сегментоядерные. Палочкоядерных нейтрофилов у карпа содержится больше, чем сегментоядерных клеток (табл. 1-3). В организме карпа доля нейтрофилов значительно ниже, чем у человека и теплокровных животных (Алмазов и др., 1979; Александровская и др., 1987). Рыбы также отличаются от высших позвоночных долей содержания отдельных типов нейтрофилов. Палочкоядерных клеток у карпов обнаружено в 4-5 раз больше, чем сегментоядерных. В периферической крови теплокровных животных и человека сегментоядерных нейтрофилов содержится в десятки раз больше, чем палочкоядерных клеток (Алмазов и др., 1979; Александровская и др., 1987). У рыб доля палочкоядерных клеток в периферической крови в среднем равняется 13%, а сегментоядерных 3%, тогда как у теплокровных животных и человека соответственно 2 и 45%. Существующее различие в доле содержания всего пула

нейтрофилов и его отдельных форм отражает особенности становления и развития клеточного звена иммунитета у рыб в филогенезе. Несмотря на это, нейтрофилы являются важным составляющим клеточного звена иммунитета. Основной функцией нейтрофилов является уничтожение чужеродных тел, иммунных комплексов, дефективных (поврежденных) и омертвевших клеток собственного организма путем фагоцитоза, синтез цитокинов, медиаторов иммунного ответа, дефензинов, гемолизина, хитиназы и т.д. (Галактионов, 1998; Manning, Nakanishi, 1996; Secombes et al., 1996). Они выполняют также киллерную функцию по отношению к зараженным вирусами клеткам. Важная роль в осуществлении эффекторных функций нейтрофилов принадлежит бактерицидным системам, лизосомальным ферментам, которыми они богаты, и токсическим кислородным метаболитам выделяемым ими при взаимодействии с чужеродными телами и видоизмененными тканями собственного организма.

Относительное количество нейтрофилов, как и лимфоцитов колеблется. Изменение доли содержания нейтрофилов в основном происходит за счет палочкоядерных клеток. Основными факторами, вызывающими колебание численности и интенсивности образования нейтрофилов являются возрастные, сезонные изменения физиологического состояния и стресс индуцируемые патологические процессы: воспаление, дистрофия, некроз и атрофия. У рыб, подвергнутых воздействию стресса, в лейкоцитарной формуле резко возрастает процент палочкоядерных нейтрофилов, тогда как лимфоцитов падает (Микряков, Лапирова, 1997; Степанова и др., 1998; Микряков и др., 2001; Балабанова, Микряков, 2002). У стрессированных рыб на фоне активации гранулоцитопоза и супрессии лимфопоза нарушается функция контроля за иммунным статусом, поддержание иммунного гомеостаза и сохранение структурной целостности организма. Происходящие в иммунной системе рыб дестабилизационные процессы являются одной из причин появления патологических процессов и повышенной чувствительности и восприимчивости к банальной и условно-патогенной микрофлоре. Согласно современным представлениям, нейтрофилы в организме выполняют не только защитную функцию по ликвидации и нейтрализации бактериальной инфекции и чужеродных тел, но они при определенных условиях, особенно хронического воздействия стресс-факторов и течения болезни, участвуют в разрушении тканей собственного организма (Лебедев, Понякина, 2003).

В составе гранулоцитов карпа встречаются также клетки с эозинофильной и базофильной зернистостью (табл. 1-3), на долю которых приходится около 1,5-2% от общего числа лейкоцитов. В селезенке и почках эозино- и базофилов в 2 раза больше, чем в циркулирующей крови (табл. 1-3). Иммунологические функции этих клеток у рыб изучены очень слабо. Согласно данным М. Ваззана с соавторами (Vazzana et al., 1998), эозинофилы обладают цитотоксическими свойствами. Они выполняют функцию защиты организма рыб от паразитов. Относительное количество эозинофилов, как и нейтрофилов, при воздействии на рыб токсических факторов и паразитарной инвазии, как правило, повышается (Микряков, Лапирова, 1997). Ранее нами выдвинуто положение, что эозинофилия, как и у высших позвоночных, является одним из объективных показателей аллергизации (сенсibilизации) организма, характера течения воспалительного процесса (Микряков, Лапирова, 1997). Моноцитов у карпа, как и у животных и человека (Алмазов и др., 1979; Иванова, 1983, Александровская и др., 1987; Головина, Тромбицкий, 1989; Лебедев, Понякина, 2003), в

составе крови и иммунокомпетентных органах содержится в пределах 1,5% (табл. 1-3). Они являются основной клеткой моноцитарно-фагоцитарной системы (МФС) организма, важнейшими функциями которой являются:

1. Защита организма от чужеродных микроорганизмов путем киллинга (убийства) и переваривания их; особенно это касается облигатных внутриклеточных микроорганизмов.
2. Образование многочисленных цитокинов, регулирующих образование и активацию, а на определенных этапах и подавление активности клеток иммунной системы, включая клетки МФС.
3. Роль клеток-«мусорщиков», убивающих и разрушающих собственные клетки организма – поврежденные, дефектные или старые, а также разрушающих неметаболизированные органические материалы.
4. Киллинг и разрушение собственных клеток организма, несущих на своей поверхности генетически чужеродную информацию (неопластических или зараженных вирусом).
5. Участие в регенерации тканей, поврежденных при воспалении.
6. Презентация лимфоцитам переработанного чужеродного антигена.

В крови карпа и мазках-отпечатках иммунокомпетентных органов выявлены молодые и незрелые клетки типа бласт, на долю которых в периферической крови в среднем приходится около 4,5%, в тканях почек и селезенки – 20% клеток от общего числа лейкоцитов. Они, видимо, у рыб, согласно мнению Т.И. Ивановой (1983), Н.А. Головиной и И.Д. Тромбицкого (1989), являются родоначальными клетками гранулоцитов. О функциональном значении этих клеток в реализации иммунологических функций и патологических процессов какие-либо сведения в доступной литературе отсутствуют.

Лейкограмма карпа с ЯБК. Анализ состава и доли содержания лейкоцитов в периферической крови и иммунокомпетентных органах позволил установить сходство и различие между рыбами с ЯБК и без нее. Большинство особей с язвенным повреждением поверхности тела отличались от рыб без патологии кожи колебанием относительных величин отдельных типов лейкоцитов (табл. 1-3). Однако тенденции, установленные в характере изменчивости лейкоцитов периферической крови и иммунокомпетентных органах, различались.

В лейкограмме периферической крови рыб с ЯБК лимфоцитов в среднем выявлено на 16% меньше, а палочкоядерных нейтрофилов на 14% и эозинофилов на 1,2% больше, чем у здоровых карпов (табл. 1). По величине содержания моноцитов, сегментоядерных нейтрофилов, базофилов, клеток типа бласт в лейкограммах особей с патологией кожи и без нее достоверных различий не выявлено. Аналогичный характер отклонений показателей лимфоцитов и нейтрофилов в лейкоформуле крови ранее установили Сайккара и Сривастава (Sayackkara, Srivastava, 1997) у *Heteropneustes fossilis* с язвенным поражением кожи. У больных особей по сравнению с рыбами без ЯБК обнаружено лимфоцитов меньше на 20%, а нейтрофилов на 14% больше. Кроме того, у исследуемых рыб с поврежденной кожей авторы установили повышенное содержание моноцитов.

Характер изменения количественных показателей лейкоцитов в лейкограмме селезенки имел свои особенности. В отличие от лейкограммы периферической крови достоверные

различия между больными и здоровыми карпами выявлены по процентному содержанию моноцитов, палочкоядерных нейтрофилов, эозинофилов и бластов (табл. 2). Величины, отражающие долю содержания моноцитов, палочкоядерных нейтрофилов и эозинофилов в лейкограмме селезенки больных карпов достоверно превышали таковые клеток особей без ЯБК, а таковые бластов имели низкие показатели. По числу лимфоцитов, сегментоядерных нейтрофилов, клеток с базофильной зернистостью различия в лейкоформуле селезенки между больными и здоровыми особями отсутствовали.

Анализ количественных показателей лейкоцитов, составляющих основу лейкограммы лимфомиелоидной ткани почки больных рыб, не позволил выявить достоверных различий с таковыми карпов без язвенного поражения кожи (табл. 3). Вместе с тем лейкограмма мазков-отпечатков лимфомиелоидной ткани почек имела существенное отличие от таковых периферической крови (табл. 1) и селезенки (табл. 2). Она отличалась от лейкоформулы других тканей долей лимфоцитов, палочкоядерных нейтрофилов и бластных форм (табл. 3). Если доминирующими формами в лейкограмме периферической крови и селезенки являются лимфоциты, то в почках гранулоциты. На долю гранулоцитов, включая нейтро-, эозино- и базофилы, приходится более 40% всех лейкоцитов, тогда как на долю агранулоцитов – 36%. Выявленное различие в уровне содержания отдельных типов лейкоцитов в исследуемых тканях отражает особенности их структурно-функциональной организации. Известно, что селезенка является одним из важных иммунокомпетентных органов рыб (Микряков, 1991; Кондратьева и др., 2001; Zapata et al., 1996), основной функцией, которой является эритро- и тромбопоэз, затем лимфопоэз, тогда как почки – лимфо- и миелопоэз. Лимфомиелоидная ткань почек карпа считается местом образования лимфоидных и плазматических клеток, синтеза специфических антител и др. (Микряков, 1991; Микряков и др., 2001). Кроме того, в тканях почек и селезенки встречаются незрелые формы лейкоцитов, находящиеся на разных стадиях дифференцировки, в том числе клетки типа бласт, представляющие либо родоначальную клетку гранулоцитарного, либо лимфатического, либо эритроидного роста, конечной стадией развития которых соответственно являются – нейтро-, эозино-, базофилы, лимфоциты и эритроциты.

Таким образом, из материалов исследований следует, что у больных язвенной болезнью карпов, как и у рыб подвергнутых воздействию разных по природе и происхождению стресс-факторов биотической и абиотической природы (Головина, Тромбицкий, 1989; Микряков, 1991; Микряков, Лапирова, 1997; Степанова и др., 1998; Микряков и др., 2001; Микряков и др., 2005) выявлен сходный характер изменения состава лейкоцитов: лимфоцитов в периферической крови обнаружено меньше, нейтрофилов и эозинофилов больше, чем у здоровых или особей без язвенного синдрома.

Уменьшение количества лимфоцитов с одной стороны, увеличение гранулоцитов с другой свидетельствует о том, что у больных с патологией кожи процесс дифференцировки иммунокомпетентных стволовых кроветворных клеток в сторону образования клеток лимфоидного ряда подавляется, а миелоидных – активизируется. Это происходит, по-видимому, в результате дисрегуляции синтеза цитокинов клетками лимфомиелоидной ткани, выполняющих функции регуляции процессов дифференцировки, межклеточного взаимодействия и формирования клеточного и гуморального иммунитета (Галактионов, 1998; Хаитов и др., 2002). Вполне вероятно, при ЯБК повреждаются клетки, ответственные

за синтез цитокинов, регулирующих лимфопозз, а таковые, отвечающие за гранулопозз контролирующих медиаторов, не повреждаются.

Таким образом, проведенные исследования позволили установить характер изменения клеточного звена иммунной системы при ЯБК. Больные с язвенной патологией кожи карпы отличались от здоровых дисбалансом соотношения величины содержания отдельных типов лейкоцитов. У рыб с язвенным синдромом содержание лимфоцитов было меньше, а нейтрофилов больше, чем таковых без ЯБК. Дестабилизационные процессы, происходящие в составе лейкоцитов крови, отличались от таковых селезенки и почек. Значимые отклонения между лейкоцитами разных популяций по сравнению с контрольными выявлены в лейкограмме периферической крови. Различия между однотипными клетками одной популяции в лейкограмме крови были выше, чем в селезенке, а таковые в лейкоформуле лимфомиелоидной ткани почек отсутствовали.

Установленное различие в процентном содержании лейкоцитов в лейкограммах крови и иммунокомпетентных органов больных и здоровых рыб позволяет высказать предположение, что ЯБК является местным или локальным проявлением хронического воспалительного процесса поверхностной локализации, обусловленное дефицитом клеток лимфоидного ряда, снижения функции клеточного звена иммунной системы по защите организма от этиологического фактора и обеспечения процессов регенерации кожи. Отсутствие существенных изменений в составе лейкоцитов иммунокомпетентных органов заболевших рыб свидетельствует, что при ЯБК в основном повреждаются ткани кожи и мышц поверхности тела, тогда как другие жизненно важные системы и структуры, видимо, существенных изменений не претерпевают.

Сопоставление результатов наших исследований с таковыми, полученными на рыбах после воздействия токсических и паразитарных факторов (Головина, Тромбицкий, 1989; Микряков и др., 2001, 2005) позволяет предположить, что лейкоциты как это установлено нами при ЯБК, так и при стрессе реагируют сходным образом: супрессией лимфопозз и активацией гранулопозз. Аналогичный характер изменения темпов лимфо- и миелопозз нами установлен на карпах и карасях после экзогенного введения иммуносупрессивного гормона стресса: кортизола и кортизона (Микряков, 2004; Микряков, Микряков, 2005).

Таким образом, из материалов исследований следует, что ЯБК является клиническим проявлением стресс индуцируемого иммунодефицита ключевых клеток иммунной системы лимфоцитов, обеспечивающих распознавание «своего» и «чужого», разрушение, отторжение чужеродных тел, синтез антител, сохранение индивидуальной целостности и формирование адаптивного иммунитета (Микряков, 1991; Van Muiswinkel, Vervoorn-Van Der Wal, 2006).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведено исследование характера изменения состава лейкоцитов периферической крови и иммунокомпетентных органов (селезенки и почек) при ЯБК карпов. Определены количественные характеристики содержания состава лейкоцитов. Установлено сходство и различие характера реагирования отдельных типов лейкоцитов у больных и здоровых рыб. Рыбы с ЯБК отличались от таковых без патологии долей содержания отдельных типов лейкоцитов. Достоверные различия между лейкоцитами одной популяции в лейкограмме крови больных рыб по сравнению с контрольными были выше, чем в селезенке, а в таковых почек

отсутствовали. Выдвинуто положение, что обнаруженные в составе лейкоцитов крови изменения являются характерными для рыб, подвергающихся воздействию стрессоров иной природы (токсической и паразитарной), а ЯБК является патогенетическим признаком, отражающим синдром приобретенного иммунодефицита, вызванного дисбалансом образования иммуноцитов лимфоидного и миелоидного рядов и снижения функции клеток иммунной системы по распознаванию, разрушению «чужого», обеспечению структурной целостности поверхности тела, и иммунитета к патогенетическим и этиологическим факторам вызывающим язвенные повреждение кожи.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект №06-04-48812).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Александровская О.В., Радостина Т.Н., Козлов Н.А. Цитология, гистология и эмбриология. М.: Агропромиздат, 1987. 448 с.

Алмазов В.А., Афанасьев Б.В., Зарицкий А.Ю. и др. Физиология лейкоцитов человека. Л.: Наука, 1979. 230 с.

Балабанова Л.В. Влияние кадмия на ультраструктуру иммунокомпетентных клеток мозамбикской тиляпии *Oreochromis mossambicus* // Цитология. 1997. Т. 39. №8. С. 677-680.

Балабанова Л.В., Микряков В.Р. Сравнительная характеристика действия нафталина и фенола на показатели белой крови карася *Carassius carassius* // Биология внутренних вод. 2002. №2. С. 100-102.

Баюнова Л.В., Баранникова И.А., Дюбин В.П., Семенкова Т.Б. Гормональные характеристики осетровых в условиях стресса. Междунар. конф. «Осетровые на рубеже XXI века». Тез. докл. Астрахань, 2000. С. 122-123.

Болезни рыб: справочник. / Васильков, Г.В., Грищенко Л.И., Енгашев В.Г. и др.; Под ред. Осетрова В.С. 2-е изд., перераб. и доп. М.: Агропромиздат, 1989. 288 с.

Галактионов В.Г. Иммунология: Учебник. М.: МГУ, 1998. 480 с.

Головина Н.А., Тромбицкий И.Д. Гематология прудовых рыб. Кишинев: Штиинца, 1989. 156 с.

Грищенко Л.И., Смирнова В.В. Клинико-анатомическая картина и изменения гематологического статуса у карпов при асцитно-язвенном синдроме в тепловодных хозяйствах // Паразиты и болезни рыб: Сб. научн. тр. М.: ВНИРО, 2000. С. 52-56.

Иванова Н.Т. Атлас клеток крови рыб. М.: Легкая и пищевая промышленность, 1983. 184 с.

Кондратьева И.А., Киташова А.А., Ланге М.А. Современные представления об иммунной системе рыб // Вест. Моск. ун-та. сер. 16. Биология. 2001. №4. С. 11-20.

Лебедев К.А., Понякина И.Д. Иммунная недостаточность (выявление и лечение). М.: медицинская книга, Н. Новгород: НГМА, 2003. 443 с.

Мартемьянов В.И. Стресс у рыб: защитные и повреждающие процессы // Биология внутренних вод. 2002. №4. С. 3-13.

Микряков В.Р. Закономерности формирования приобретенного иммунитета у рыб. Рыбинск: ИБВВ РАН, 1991. 153 с.

Микряков В.Р., Лапирова Т.Б. Влияние солей некоторых тяжелых металлов на состав белой крови молоди ленского осетра *Acipenser baeri* // Вопросы ихтиологии. 1997. Т. 37. №4. С. 538-542.

Микряков В.Р., Балабанова Л.В., Заботкина Е.А. и др. Реакция иммунной системы рыб на загрязнение воды токсикантами и закисление воды. М.: Наука, 2001. 126 с.

Микряков В.Р., Терещенко В.Г., Микряков Д.В. Использование индекса Шеннона для оценки последствий влияния стресс-факторов на структурную организацию состава лейкоцитов рыб // Вопросы рыболовства. 2005. Т. 6. №3(23). С. 518-532.

Микряков Д.В. Влияние некоторых кортикостероидных гормонов на структуру и функцию иммунной системы рыб: Автореф. дис. ... кандидата биол. наук. ИПЭЭ РАН. М., 2004. 24 с.

Микряков Д.В., Микряков В.Р. Влияние гормона стресса кортизона на лейкоциты крови карася *Carassius carassius* L. // Биология внутренних вод. 2005. №4. С. 90-94.

Ройт А., Бростофф Дж., Мейл Д. Иммунология. М.: Мир, 2000. 592 с.

Рудиков Н.И., Грищенко Л.И. Микрофлора и бактериальные болезни рыб // Итоги науки и техники. Серия ихтиология. Инфекционные болезни рыб. М.: ВИНТИ, 1985. Т. 1. С. 93-160.

Степанова В.М., Павлов Д.Ф., Чуйко Г.М. Хроническое действие кадмия на клетки ретикуло-лимфоидной ткани селезенки и периферической крови мозамбикской тилэпии (*Oreochromis mossambicus*) // Биология внутренних вод. 1998. №3. С. 68-75.

Степанова В.М., Микряков В.Р. Использование метода Мендеса для изучения субпопуляций лимфоцитов карпа (*Cyprinus carpio* L.) // Биология внутренних вод. 2002. №3. С. 84-87.

Степанова В.М., Микряков В.Р. Влияние избытка аммония и недостатка кальция на субпопуляции лимфоцитов карпа (*Cyprinus carpio* L.). В сб.: Патология и иммунология рыб и охрана гидробионтов. М.: МГУТУ, 2004. С. 153-159.

Хаитов Р.М., Игнатьева Г.А., Сидорович И.Г. Иммунология: Учебник. 2-е изд., перераб. и доп. М.: Медицина, 2002. 536 с.

Clem L.W., Barker K. et al. Humoral and cellular adaptive immune mechanisms in teleost // Aquaculture and fish health. Abst. First Russia-Usa Symposium. Rybnoe. 1998. P. 74.

Ellis A.E. Stress and the modulation of defense mechanisms in fish. In: Stress and fish, edited by A.D. Pickering. London: Academic. 1981. Pp. 147-170.

Manning M.J., Nakanishi T. The specific immune system: cellular defenses. London. Academic Press. 1996. Pp. 160-206.

Pickering A.D. Endocrine-induced pathology in stressed salmonid fish // Fish. Res. 1993. V. 17. Pp. 35-40.

Sayakkara N., Srivastava P.P. Changes in hematological parameters in *Heteropneustes fossilis* affected with cutaneous ulceration // Proc. Nat. Acad. Sci., India. B. 1997. №2. С. 117-119.

Secombes C.J., Hardie L.J., Daniels G. Cytokines in fish: An update // Fish Shellfish Immunol. № 6. 1996. P. 291-304.

Sizemore R.G., Miller N.W., Cuchens M.A., Lobb C.J., Clem L.W. Phylogeny of lymphocyte heterogeneity: The cellular requirements for *in vitro* mitogenic responses of channel catfish leukocytes // Immunol. 1984. V. 133. Pp. 2920-2924.

Smith L.S. Introduction to fish physiology. T.F.H. Publication. 1982. 166 p.

Udomkunsong P., Noga E. J., Monteiro-Riviere N.A. Pathogenesis of Acute Ulceration Response (AUR) // 4 International Symposium on Aquatic Animal Health, New Orleans, La, ISSAH 2002: Proceedings. 2002. P. 243.

Van Muiswinkel W., Vervoorn-Van Der Wal B. The immune system of fish // *Fish Diseases and Disorders*. 2006. V. 1. Pp. 678-701.

Vazzana M., Cammarata M., Reas G. Chemiluminescence and cytotoxic activity in leukocytes of *Dicentrarchus labrax* / Abstr. Free Commun. Present. 2 Meet. Ital. Assoc. Dev. and Comp. Immunol. (IADCI), Palermo, Juli 9-10, 1998 // *Anim. Biol.* 1998. T. 7. №3. P. 155.

Wendelaar Bonga, Sjoerd E. The stress response in fish // *Physiol. Rev.* 1997. V. 77. №3. Pp. 591-625.

Zapata A.G., Chiba A., Varas A. Cells and tissues of the immune system of fish. London. Acad. Press. 1996. Pp. 1-62.

**CHARACTER OF CHANGE OF STRUCTURE LEUKOCYTES AT STRESS THE
INDUCED SYNDROME OF THE ULCER DISEASED OF FISH
(ON THE EXAMPLE CARP *CYPRINUS CARPIO*)**

© 2008 y. D.V. Mikrjakov, V.R. Mikrjakov, L.V. Balabanova

Papanin's Institute for biology of inland waters

of the Russian Academy of Science, Borok

The characteristic of structure and level of the contents of leukocytes in peripheral blood and immunocompetent organs (kidneys and spleens) carp *Cyprinus carpio* is given at stress the induced ulcer diseased of a skin. Similarity and distinction in a level of the contents of separate types of leukocytes of the fishes lesion and not lesion by syndrome of the ulcer diseased of a skin is shown.