

УДК 612.11:639.215.2

Жемердей О.В., завідувач відділу діагностики та боротьби з хворобами риб,
Миколаївська регіональна державна лабораторія ветеринарної медицини
Шелест І.Є., лікар-лаборант клініко-діагностичної лабораторії[©]
Миколаївська обласна дитяча лікарня.

МОРФОЛОГІЧНІ ТА БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ СИРОВАТКИ КРОВІ КОРОПІВ, УРАЖЕНИХ *HEPATICOLA PETRUSCHEWSKII*

Проведено лабораторні дослідження сироватки крові коропів.
Визначено морфологічні та біохімічні показники сироватки крові інвазованих коропів.

Ключові слова: короп, цитоморфологічний аналіз, біохімічні показники, ферменти крові.

Риба та рибна продукція, яку споживає людина, займає значну частину раціону. Різке скорочення її запасів у межах територіальних вод України викликало низку проблем, які потребують досить інтенсивного і, в той же час, раціонального вирішення. В сучасних умовах розвитку рибництва важливе значення має науково-технічне і нормативно-правове забезпечення іхтіопатологічних досліджень та вдосконалення методик для дослідження риби і рибної продукції [1].

У зв'язку з вимогами митного союзу до України, створені певні критерії щодо якості сировини та продукції, і покладаються вони на ветеринарний контроль з обов'язковим дослідженням продукції відповідно до системи ДСТУ ISO/IEC 17025:2006 [2,3]. Тому важливо завчасно діагностувати хвороби риб, оскільки відсутній практичний досвід з лікування та профілактики. До таких хвороб належить і гепатикольоз – захворювання коропових риб, спричинене нематодою *Hepaticola petruschewskii*.

Матеріали і методи. Морфологічні та біохімічні дослідження сироватки крові коропових риб проводили у Миколаївській регіональній державній лабораторії ветеринарної медицини та клініко-діагностичній лабораторії Миколаївської обласної дитячої лікарні у жовтні 2011 року.

Результати дослідження. Важливу інформацію про стан регуляторних механізмів живого організму дає аналіз крові. Морфологічний аналіз крові – це комплекс кількісних і якісних досліджень, які характеризують окремі властивості клітин крові (табл. 1).

Як відомо [6], гемоглобін транспортує кисень та забезпечує енергетичні процеси організму коропових риб. Тому, визначення його вмісту, поряд із підрахунком кількості еритроцитів, є важливою складовою фізіологічного стану організму риби, в тому чи іншому оточуваному середовищі.

[©] Науковий керівник – доктор ветеринарних наук, професор Сорока Н.М.
Жемердей О.В., Шелест І.Є., 2012

Таблиця 1.

Морфологічні показники крові коропів, спонтанно уражених збудником гепатикольозу, n=20, M±m; P<0,001

Показники	Групи риб	
	дослідна	контрольна
Гемоглобін, г/л	56,65±2,20	77,67±0,48
Еритроцити, Т/л	0,97±0,048	1,33±0,029
Лейкоцити, Г/л	38,89±0,68	50,1±4,3
Лейкограма, %		
Базофіли	2,25±0,26	0,95±0,12
Еозинофіли	5,4±0,89	-
Нейтрофіли:		
Юні	-	-
Паличкоядерні	3,65±0,49	2,39±0,20
Сегментоядерні	5,30±0,69	1,33±0,02
Лімфоцити	79,20±1,59	93,45±0,55
Моноцити	4,2±0,92	1,92±0,12

Так, вміст гемоглобіну в крові риби знаходиться в прямій залежності від кількості еритроцитів. Спостерігається зниження вмісту гемоглобіну в дослідній групі риб на 27 % порівняно з контрольною.

Основною функцією еритроцитів є перенесення кисню із зябер до тканин тіла риб та транспортування CO₂ в навколишнє середовище. Кількість еритроцитів у дослідній групі дещо знижена і становить 27,07 % порівняно з контрольною (P<0,001).

Оскільки ключовим ланцюгом фагоцитозу є нейтрофільні гранулоцити та макрофаги крові, визначення загального числа білих кров'яних тілець та відсоткове співвідношення між їх різними видами має важливе значення для характеристики неспецифічного захисту організму. Цей клітинний фактор резистентності організму риб набув змін під впливом збудника *Hepaticola petruschewskii*. Нами встановлено, що кількість лейкоцитів у крові коропів, уражених збудником гепатикольозу, знизилася на 15,25 % порівняно з контрольною групою. Такі зміни сприяють виникненню стійкої лейкопенії.

Присутність у коропів *Hepaticola petruschewskii*, як чужорідного чинника, спричинює загальні алергічні реакції в їх організмі. Вірогідне збільшення у крові коропів кількості базофілів на 40,89 % порівняно з контрольною групою, свідчить про алергічний вплив на їх організм.

Як відомо [9], базофіли у нормі клінічно здорових коропів, відсутні. Оскільки, базофіли у крові риб є єдиним джерелом гепарину. В них міститься більша частина гістаміну. Гепарин діє протизапально, утворюючи комплекси з різновидів білків, сприяє інактивації активності ряду ферментів, зменшує проникність судин. В той же час, підвищення гістаміну у крові риб сприяє проникності кровоносних судин, викликає їх дилатацію. Тобто, в організмі риб він починає вже діяти як медіатор запалення.

Еозинофіли володіють багатьма функціями інших циркулюючих фагоцитів подібно моноцитам. Еозинофіли здатні до фагоцитозу і знищують бактерії, які їх захопили, одночасно з нейтрофілами. Порівнюючи показник з контролем, то у здорових коропів взагалі не виявляли еозинофілів, а у заражених – $5,4 \pm 0,89$. Еозинофіли можуть модулювати реакції гіперчутливості мінливого типу, інактивуючи медіатори, вивільнюючи тучними клітинами (гістамін, лейкотриєни, лізофосфоліпіди, гепарин). Затяжна еозинофілія інколи призводить до руйнації тканин. Ступінь пошкодження пов'язаний з еозинофільною інфільтрацією тканин.

Зрілі нейтрофіли крові є специфічними клітинами. Вони відіграють роль каталізатора багатьох реакцій у живому організмі. Характерно, що нейтрофіли починають виконувати всі функції відносно зрілими, точніше на стадії форм. Так, у дослідній групі коропів їх більше порівняно з контролем.

Юні нейтрофіли майже не відповідають за хемотаксичні стимули, вони міняють свою форму, але володіють властивостями до проліферації. За нашими дослідженнями цього явища не було встановлено.

Кількість нейтрофілів в дослідній групі була на 52,72 % більше порівняно з контролем ($P < 0,001$).

Завершення формування всіх внутрішньоклітинних структур забезпечує життєдіяльність клітин. Так, на оболонці сегментоядерних нейтрофілів збільшується кількість активних груп, що несуть від'ємний заряд. Як відомо [5, 9], на поверхні цих клітин формується рецепторна система, що забезпечує хемотаксис. Сегментоядерні нейтрофіли мають різноманітну форму ядер, тому число сегментів у клітинах неоднакове. Так, окремі їх сегменти сполучаються тонкою перемичкою або лежать вільно. Нейтрофіли, як і інші гранулоцити, є специфічні клітини, що втратили здатність до поділу. За окремого патологічного стану нейтрофіли виділяють у кров речовину, що володіє бактерицидними та антиоксидантними властивостями. Останні можуть відтворювати стимулюючі дії на процеси регенерації в різних органах і тканинах живого організму, здійснюючи при цьому фагоцитоз імунних комплексів – антиген-антитіло. Кількість сегментоядерних нейтрофілів у крові коропів дослідної групи була більшою у 4,13 раза порівняно з контролем ($P < 0,001$).

Лімфоцити крові порівняно невеликі клітини. Вони мають неправильно округлу або овальну форму. У риб маленькі лімфоцити – єдиний тип білих клітин. Вони постійно та у великій кількості зустрічаються у крові. Безпосередньо лімфоцити надають крові “лімфоїдний характер”. Бувають випадки, коли у вузькому ободку їх цитоплазми виключені зернистості. Часто проглядаються азурофільні гранули, які приймаються за ферменти. У риб при патологічних процесах зустрічаються лімфоцити. Відмічається сферуліція – це процес, що несе зворотній характер. У крові, інвазованих збудником гепатикольозу коропів, спостерігається збільшення кількості лімфоцитів на 4,54 % порівняно з контрольними ($P < 0,001$).

Моноцити, чи незернисті лейкоцити, виявлені у крові всіх обстежених корошових риб. Це великі клітини периферійної крові. Їх легко відрізняють від інших клітинних структур. Моноцити беруть участь не тільки в регуляції імунотенезу, але і в регуляції гранулопоезу. Існує також думка про здатність моноцитів інактивувати токсини. Крім того, вони здатні утримувати спеціальні ферменти для дезінтоксикації окремих речовин.

Як відомо [7.8], моноцити дають початок макрофагам сполучної тканини (гістіоцитам) та клітинам Купфера. Крім того, макрофаги здатні продукувати моноцити цитохімічним шляхом. Моноцити, які потрапляють із кровотворного органа в кров, мають здатність до проліферації. Низький їх відсоток не завжди є ознакою здорового організму риб. Окремі моноцити концентруються в ділянках запалення, а згодом вони трансформуються в макрофаги. Це часто спостерігається при тривалому подразненні несприятливих чинників, які інколи є в організмі.

В дослідній групі корошових риб кількість моноцитів більша у 2,2 раза, ніж у контролі ($P < 0,001$).

Отже, у крові корошових риб, інвазованих *Hepaticola petruschewskii*, спостерігається вірогідне зменшення вмісту гемоглобіну, кількості еритроцитів і лейкоцитів та підвищення кількості базофілів і сегментоядерних нейтрофілів, лімфоцитів та моноцитів, що вказує на розвиток запального процесу в організмі.

Велике значення для характеристики стану риби має вміст сироваткових білків (біохімічні показники зливних проб сироватки крові наведено в табл. 2). Так, вміст загального білка у сироватці крові менший порівняно з контролем в першій групі на 65,66 %, другій на 72,82 %, третій на 68,44 %, четвертій на 77,97 %, п'ятій на 74,43 % ($P < 0,001$).

Таблиця 2

Біохімічні показники зливних проб сироватки крові від 50 корошових уражених збудником гепатикольозу, $M \pm m$; $n=5$

Показники	Групи риб					
	перша	друга	третя	четверта	п'ята	контрольна
Загальний білок, г/л	23,5±0,36	18,6±0,28	21,6±0,32	15,08±0,36	17,5±0,21	68,44±0,60
Альбуміни, г/л	4,65±0,19	5,99±0,32	7,06±0,43	2,84±0,16	5,65±0,27	21,12±0,50
Загальні глобуліни, г/л	18,85±0,30	12,61±0,34	14,54±0,27	14,21±0,18	11,85±0,46	24,75±0,52
$\alpha 1$ -глобулін	25,8±0,43	27,0±0,54	27,7±0,54	25,5±0,35	27,3±0,44	30,0±0,24
$\alpha 2$ -глобулін	28,0±0,41	26,5±0,38	29,3±0,37	28,8±0,20	27,9±0,45	31,77±0,19
β -глобулін	40,0±0,27	39,3±0,28	35,2±0,37	38,8±0,30	38,5±0,28	29,26±0,41
γ -глобулін	6,2±0,29	7,7±0,14	7,8±0,16	6,9±0,26	6,30±0,22	8,97±0,27
Коефіцієнт А/Г	0,25±0,013	0,56±0,04	0,49±0,032	0,23±0,013	0,48±0,03	0,64±0,048

Значне збільшення рівня альбумінів – завжди пов'язано з інтенсивним ростом та інтенсивною годівлею риби. Оскільки дослідна група риб уражена збудником гепатикольозу, це призводить до уповільнення росту та зменшення її маси. Рівень альбумінів також знижений порівняно з контролем. У першій групі їх рівень знизився на 77,98 %, другій на 71,64 %, третій на 66,57 %, четвертій на 86,55 %, п'ятій на 73,25 % ($P<0,001$).

Як відомо [7], гамма-глобуліни це імуноглобуліни, що виконують функцію антитіл і виробляються вони відповідно на проникнення різних речовин та поділяються на декілька фракцій, кожна з яких утримує кілька білків і відрізняється за своїми функціями. Рівень загальних глобулінів також знижений порівняно з контролем: у першій групі на 23,84 %, другій на 49,05 %, третій на 41,25 %, четвертій на 42,59 %, п'ятій на 52,12 % ($P<0,001$).

Так, зменшення вмісту $\alpha 1$ -фракції буває при важких деструктивних процесах у печінці. За нашими дослідженнями, вміст $\alpha 1$ зменшений порівняно з контролем: у першій групі на 14 %, другій на 10 %, третій на 7,67 %, четвертій на 15 %, п'ятій на 9 % ($P<0,001$). Як відомо [8], зниження вмісту $\alpha 2$ -фракції спостерігається при гемолізі та анемії. За нашими дослідженнями вміст $\alpha 2$ -фракція зменшена порівняно з контролем: у першій групі на 11,87 %, другій на 16,59 %, третій на 7,77 %, четвертій на 9,35 %, п'ятій 12,18 % ($P<0,001$). Вміст β -фракції збільшений порівняно з контролем: у першій на 36,71 %, другій на 34,31 %, третій на 20,30 %, четвертій на 32,60 %, п'ятій на 31,58 % ($P<0,001$). Такі зміни свідчать про розвиток хронічних захворювань печінки, алергічних уражень, які й характерні за гепатикольозу. Як відомо [7], зниження фракції γ -глобуліну виникає при втраті білка та токсичними ураженнями печінки, а також при новоутвореннях в паренхімі печінки. Цей показник нижчий по відношенню до контролю: у першій групі на 30,88 %, другій на 14,16 %, третій на 13,04 %, четвертій на 23,08 %, п'ятій на 29,77 % ($P<0,001$). Такі зміни в організмі риб спричинюють гепатиколі і їх токсичний вплив. Коефіцієнт альбуміну до глобуліну (А/Г) також зменшений порівняно з контролем: у першій групі на 60,94 %, другій на 12,50 %, третій на 23,44 %, четвертій на 64,06 %, п'ятій на 25 % ($P<0,001$).

Вміст сечовини у всіх дослідних групах зменшений порівняно з контролем, що свідчить про розвиток ниркової недостатності. Так, у першій групі на 65,62 %, другій на 64,18 %, третій на 58,17 %, четвертій на 78,61 %, п'ятій на 68,51 % ($P<0,001$). Показники вмісту сечовини наведено в табл. 3.

Таблиця 3.

**Показники вмісту сечовини у сироватці крові
коропів, $M \pm m$; (n=50) n=5**

Показники	Групи риб					
	перша	друга	третя	четверта	п'ята	контрольна
Сечовина, ммоль/л	1,43±0,16	1,49±0,14	1,74±0,19	0,89±0,05	1,31±0,15	4,16±0,22

Відмічали підвищення активності трансаминаз та зниження активності лужної фосфатази (табл. 4). Так, активність АсАТ підвищилась: в першій групі на 99,63 %, другій 3,85 %, третій на 35,03 %, четвертій на 0,26 %, п'ятій на 4,30 %; активність АлАТ: у першій групі на 76,27 %, другій на 84,43 %, третій на 75,70 %, четвертій на 89,18 %, п'ятій на 89,75 % ($P < 0,001$) порівняно з контролем. На нашу думку, такі зміни у крові риб забезпечують нормальний біохімічний перебіг всіх хімічних реакцій. Ці ферменти відіграють важливу роль в азотистому обміні, а також беруть участь в розщепленні амінокислот, які не використовуються в процесі біосинтезу. Як відомо [7], вони знаходяться у всіх органах, але найбільше їх у печінці, серці та нирках.

Таблиця 4.

Активність ферментів крові коропів, уражених збудником гепатикольозу, $M \pm m$, (n=50) n=5

Показники	Групи риб					
	перша	друга	третя	четверта	п'ята	контрольна
АсАТ, МО/л	53,4±0,52	27,78±0,38	36,12±0,33	26,82±0,47	27,90±0,35	26,75±0,36
АлАТ, МО/л	7,50±0,48	4,92±0,18	7,68±0,40	3,42±0,19	3,24±0,21	31,60±0,21
ЛФ, МО/л	4,38±0,20	7,32±0,49	9,06±0,27	6,78±0,41	7,38±0,41	47,63±0,25

Висновок.

У заражених збудником гепатикольозу коропів відмічали зміни морфологічних та біохімічних показників сироватки крові. Хронічний гепатикольоз у коропів супроводжується ураженням печінки, що має алергічне походження і підтверджується біохімічними дослідженнями сироватки крові. Підвищення активності трансаминаз свідчать про структурно-функціональні зміни в серці і печінці риб.

Перспективи подальших досліджень. Визначити ветеринарно-санітарні показники якості риби, інвазованої збудником гепатикольозу.

Література

1. Жемердей О.В. Ураження коропових риб нематодою *Schulmanella petruschewskii* / О.В. Жемердей // Науковий Вісник Львівської нац. академії вет. медицини ім. С.Г. Гжицького. – 2010. – Т.12, №2 (44), Ч.1. – С. 97-99.
2. Жемердей О.В. Епізоотична ситуація з інвазійних хвороб риб у водоймах Миколаївської області / О.В. Жемердей // Науково-технічний бюлетень. – Інститут біології тварин ДНДКІ ветпрепаратів та кормових добавок – Львів, 2009. – Вип. 10, №4. – С. 466-469.
3. Жемердей О.В. Гепатикольоз коропів – сучасна проблема ставкового рибництва // Конференція науково-педагогічних працівників, наукових співробітників та аспірантів Навчально-наукового інституту ветеринарної медицини та якості і безпеки продукції тваринництва: тези доповідей (Київ, 10-11 березня 2010 р.). – К.: НУБІП України, 2010. – С 197- 198.
4. Жемердей О.В. Інвазії прісноводних риб Півдня України // Науковий вісник Національний університету біоресурсів і природокористування України – К., 2010. – Вип.151. – Ч.2. – С. 80-83.

5. Житенева Л.Д. Экологические закономерности ихтиогематологии. – Ростов-на-Дону: АзНИИРХ. – 1999. – 56 с.
6. Житенева Л.Д., Макаров Э.В., Рудницкая О.А. – Ростов на Дону: Деловой мир, 2001. – 114 с.
7. Житенева Л.Д., Гориславская М.М. Гематологические показатели сельди *Clupea pallasii pallasii* Val. в зависимости от ее физиологического состояния // Вопросы ихтиологии. – 1986. – Т.26. – Вып.1. – С. 137-146.
8. Житенева Л.Д., Макаров Э.В., Рудницкая О.А. Основы ихтиогематологии (в сравнительном аспекте) – Ростов на Дону: изд-во Эверест, 2004. – 312 с.
9. Иванова Н.Т. Атлас клеток крови рыб. – М.: Легк. и пищ. пром-сть, 1983. – 184 с.

Summary

HEMATOLOGIC AND SERUM BIOCHEMICAL PARAMETERS BLOOD IN THE AFFECTED CARP IN PONDS HEPATICOLA PETRUSCHEWSKII

Studies have been conducted to determine the amount of hemoglobin, erythrocytes, leukocytes. The above analysis of cytomorphological blood smears, which identified basophils, neutrophils and segmented palechkoyadernye, lymphocytes and monocytes. Also identified a biochemical indicator in sivorotki total blood protein, albumin, and enzyme activity of ALT and AST, and the index of urea.

Рецензент – д.вет.н., профессор Стибель В.В.