

## АКТИВНІСТЬ ЛІМФОЦИТІВ У КРОВІ ІМУНІЗОВАНИХ В ЧЕРЕВНУ ПОРОЖНИНУ КОРОПІВ В СИСТЕМІ «ПАРАЗИТ - ГОСПОДАР»

Е.В. Компанець

Національний педагогічний університет імені М.П.Драгоманова

---

*Наведені результати досліджень активності Т- і В-лімфоцитів у крові вакцинованих в черевну порожнину коропів в системі «паразит-господар». Показано, що одним з чинників стійкості коропів до бактерії *Aeromonas hydrophila* є здатність своєчасно виробляти в достатній кількості функціонально активні Т- і В-клітини, що слугує також досягненню рівноваги в системі між паразитом і господарем.*

**Ключові слова:** короп, бактерія *Aeromonas hydrophila*, імунізація, лімфоцити.

---

Відношення «паразит-господар» в екосистемах залежать від кількох чинників, одним з яких є стійкість організму самого господаря до впливу збудника хвороби — паразита. У риб, разом із зовнішніми бар'єрами, такими як слиз, луска, епітелій, функцію захисту від зовнішніх впливів відіграє імунна система [1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 13].

Численні дослідження різних аспектів реакції імунної системи у риб під час інфекційних і інвазійних захворювань показали, що в організмі риб функцію розпізнавання бактерій в своїй основі здійснюють малі лімфоцити, які мають на своїй поверхні гетерогенні рецептори, що реагують на самі різноманітні антигени, у тому числі і на бактеріальні [2, 4, 5, 9, 10, 11, 13]. Нами були вже досліджені гематологічні і імунологічні показники інтактних і імунізованих в черевну порожнину коропів [4], але питання функціональної активності лімфоцитів у цих риб і їх роль в процесі взаємодії «паразит – господар» залишаються відкритими.

Мета роботи — дослідити активність двох груп малих лімфоцитів — Т- і В-клітин у хворих і стійких до аеромонозу імунізованих коропів, їх співвідношення і кількість та визначити їх роль в системі «паразит – господар».

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Проведеними дослідженнями вивчена функціональна активність лімфоцитів коропів, що захворіли і тих, що не захворіли на аеромоноз. В досліді використовували дворічок українського лускатого коропа двох груп. Інтактні риби, яким раніше не вводили бактерію *Aeromonas hydrophila*, складали контрольну групу. Коропи, що були раніше імунізовані в черевну порожнину бактеріальним антигеном аеромонад, складали дослідну групу. Імунізацію проводили на підставі загально прийнятих методів за два етапи з терміном між введенням 14 днів та адаптаційним періодом протягом 16 діб [4, 7, 9, 10, 12].



Дослідних коропів заражали бактерією *Aeromonas hydrophila* в дозі, яка викликала загибель 50 % риб ( $LD_{50}$ ), і складала 200 млн. кл. на 100 г живої маси риби, яку попередньо встановлювали на іншій групі риб. Контрольним рибам вводили стерильний фізіологічний розчин. Матеріал відбирали у контрольній групі риб, у клінічно здорових риб, що не захворіли та у риб з клінічними ознаками гострого перебігу аеромонозу, що супроводжувався асцитом (водянкою) і екзофтальмією. Рибу утримували в басейнах за температури води 18 ° – 20 °С, вмісту кисню 4 – 7 мг О/л, рН 6,7 – 7,2. Аналогічні дослідження проводили у 1998 та 2011 роках. Сумарна кількість риб у кожній зазначеній групі складала 40 особин. Тривалість кожного досліду — 45 діб.

Кількісні характеристики і частку Т-клітин у периферійній крові коропів визначали в реакції прямого розеткоутворення лімфоцитів з еритроцитами барана (Е-РОК). Аналогічні показники у В-лімфоцитів визначали тестом розеткоутворення з еритроцитами барана, які попередньо обробляли антитілами і комплементом (ЕАС-РОК) [5].

Функціональну активність лімфоцитів коропів визначали за наявністю відповідних активних рецепторних зон на поверхні їх мембран, з якими реагували індикаторні еритроцити і приєднувалися до них, утворюючи специфічні «розетки» [12]. Проводили диференційований підрахунок нульових, низько- і високоавідних Т- і В-лімфоцитів периферійної крові коропів. Враховували лімфоцити, що приєднували 1, 2, 3, 4, 5-6, 7-9, 10 і більше індикаторних еритроцитів. За розетку приймали лімфоцити, які приєднували не менш як 3 індикаторні еритроцити. Лімфоцити, які не приєднували індикаторних еритроцитів відносили до О-лімфоцитів, які не мали відповідних рецепторних зон.

## РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Аналіз відсоткового складу клітин з Т-рецепторами, показав, що у хворих коропів по відношенню до тих, що не захворіли імунованих і контрольних риб відбувається вірогідне зниження як низько- і так високоавідних лімфоцитів. Це спостерігалось в групах лімфоцитів, що утворювали (ЕАС-РОК) розетки з трьома ( $P < 0,01$ ), чотирма ( $P < 0,01$ ) і п'ятьма-шістьма ( $P < 0,05$ ) індикаторними еритроцитами.

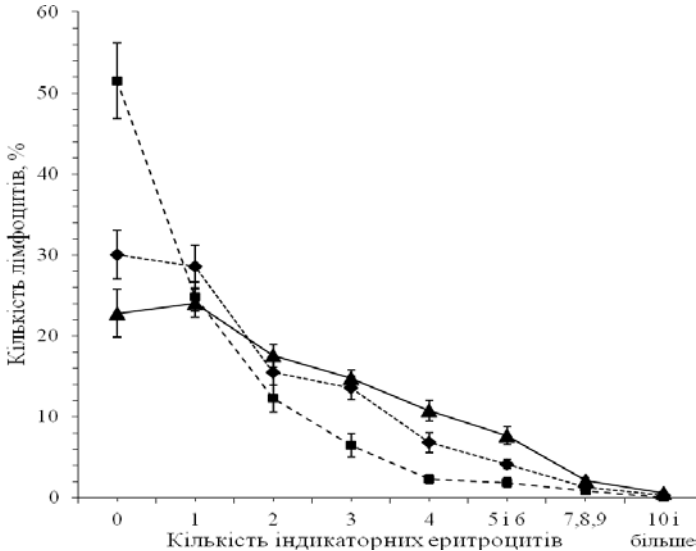
У риб, стійких до дії бактерії *Aeromonas hydrophila* у порівнянні з контролем, були більш високі значення відносної кількості Т-лімфоцитів, що приєднали 4 ( $P < 0,05$ ) і 5 – 6 ( $P < 0,05$ ) індикаторних еритроцитів.

Риби, що не захворіли, у яких не проявлялися клінічні ознаки аеромонозу відповіли значним підвищенням кількості всіх груп низько- і високоавідних лімфоцитів. Суттєва різниця була помітна у порівнянні з хворими рибами ( $P < 0,01$ ). Відзначена високовірогідна різниця ( $P < 0,001$ ) практично у всіх означених груп коропів за кількістю низькоавідних Т- лімфоцитів, що приєднали 3 і 4 індикаторних еритроцити. У високоавідних форм вірогідна кількісна різниця спостерігалася у лімфоцитів, що утворювали (Е-РОК) розетки з 5 – 6 ( $P < 0,001$ ), 7 - 9 ( $P < 0,05$ ), 10 і більш ( $P < 0,001$ ) індикаторними еритроцитами. Кількісна різниця спостерігається також у лімфоцитів, які мали неповні розетки з двома індикаторними еритроцитами ( $P < 0,05$ ) (рис. 1).



У риб, що не захворіли і імунізованих контрольних коропів кількість О-клітин, які не приєднували індикаторних еритроцитів була нижчою (22,75 % і 30,00 %) у порівнянні з рибами, що захворіли (51,50 % і  $P < 0,001$ ) (рис.1).

В цілому імунологічні профілі відносного вмісту Т-лімфоцитів у риб з перших двох груп мають розподіл близький до лінійного, в той час як у тих, що захворіли він носить криволінійний характер (див. рис. 1).



**Рис.1. Імунологічні профілі відсоткового вмісту лімфоцитів з Т-рецепторами в периферійній крові коропів при зараженні *A. hydrophila***

—◆— контроль; —■— риби, які захворіли після зараження;  
—▲— риби, які не захворіли після зараження.

Аналіз розподілу кількісних характеристик Т-лімфоцитів теж показав, що між стійкими рибами, що не захворіли, після введення бактерії *Aeromonas hydrophila*, і хворими рибами відзначаються значні розбіжності в показниках. Більш високими значення були у стійких до зараження риб. У коропів без клінічних ознак аеромонозу кількість низько- і високоавідних Т-лімфоцитів була вищою ( $P < 0,001$ ), ніж у риб, що захворіли. До того ж, у хворих риб не виявлялися високоавідні лімфоцити, що утворюють розетки з 10-ма і більше індикаторними еритроцитами. Ця група високоавідних клітин у них була відсутня.

Контрольні і раніше імунізовані риби виявляли вищі кількісні показники лімфоцитів, ніж риби клінічно здорові цієї ж групи після введення бактерії. За кількістю лімфоцитів з повними розетками вони мали такі показники, відповідно 1,95 ( $P < 0,05$ ), 1,00 ( $P < 0,01$ ), 0,49 ( $P < 0,001$ ), 0,15 ( $P < 0,01$ ) і 0,02 ( $P < 0,05$ ) тис. кл./мм<sup>3</sup>. Спостерігали суттєву різницю між контрольними і хворими коропами. Число Т-лімфоцитів в контролі було вірогідно нижчим у тих клітин, які приєднували три ( $P < 0,01$ ), чотири ( $P < 0,01$ ), і п'ять – шість ( $P < 0,01$ ) індикаторних еритроцитів.

Більшу кількість лімфоцитів, з неповними розетками на Т-рецептори, що



приєднували 1 і 2 індикаторних еритроцити, відзначали у стійких до дії бактерії *Aeromonas hydrophila* коропів у порівнянні з контрольними і хворими рибами ( $P < 0,01 - 0,001$ ). Також спостерігали суттєву різницю ( $P < 0,05$ ) між контрольними і рибами, що захворіли. Відзначали збільшення вмісту лімфоцитів з неповними розетками в групі контрольних, раніше імунованих, а також стійких до дії бактерії коропів (рис. 2). Таке збільшення може свідчити про активацію процесів диференціації і визрівання цієї групи лімфоцитів до повноцінних Т-клітин.

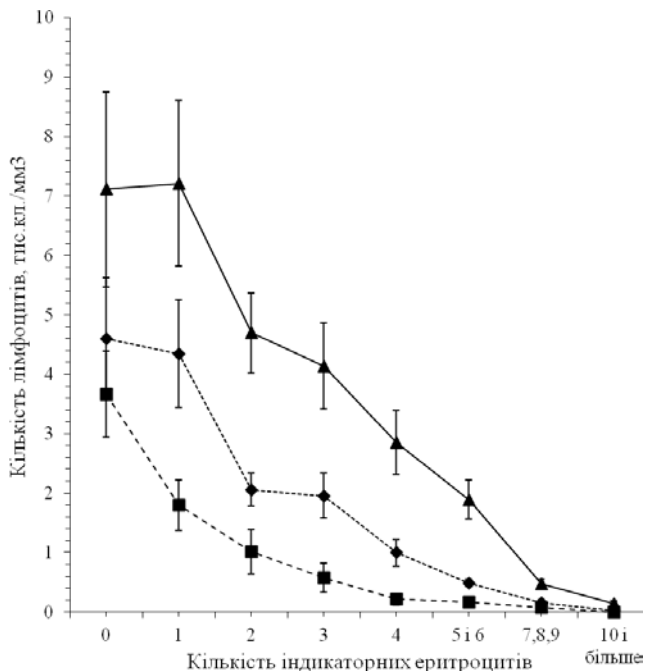


Рис.2. Імунологічні профілі кількісного вмісту лімфоцитів з Т-рецепторами в периферійній крові коропів при зараженні *A. hydrophila*.

—◆— контроль; —■— риби, які захворіли після зараження;  
—▲— риби, які не захворіли після зараження.

Аналіз якісного вмісту В-лімфоцитів не показав суттєвих відмінностей у відсотковому складі лімфоцитів, між усіма групами дослідних риб. Пропорції між низько- і високоавідними В-клітинами в експериментах не змінювалися.

В кількісному складі, у коропів, стійких до дії бактерії і без клінічних ознак хвороби число високоавідних В-клітин, які в ЕАС-РОК приєднували 3 і 4 індикаторних еритроцити було вірогідно більшим, ніж у контрольних риб ( $P < 0,05$ ). Подібну тенденцію спостерігали у лімфоцитів, що мали неповні розетки і приєднували 1 і 2 індикаторних еритроцити ( $P < 0,01$ ).

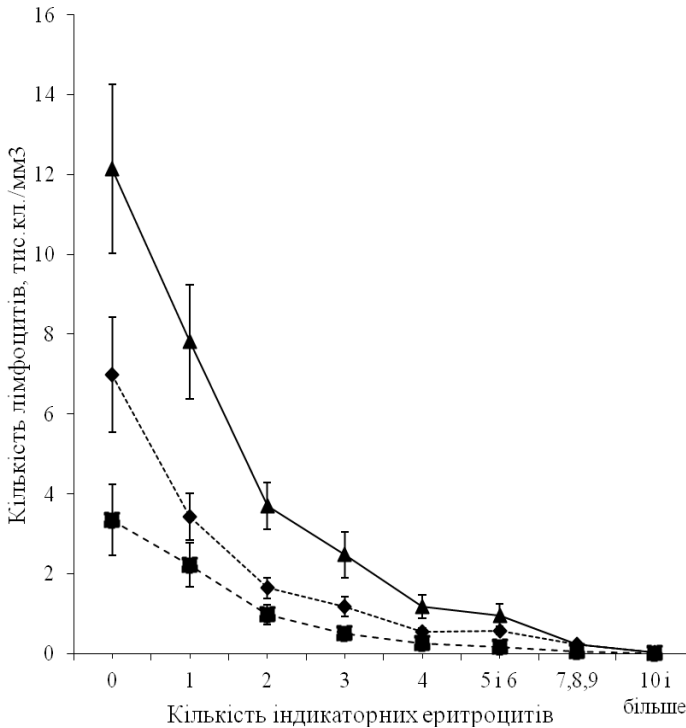
У хворих, з клінічними ознаками риб, кількісні показники були нижчими за контрольні значення у високоавідних і частини високоавідних форм В-лімфоцитів, що приєднали в реакції розеткоутворення 3 ( $P < 0,05$ ), 4 ( $P < 0,01$ ) і 5 – 6 ( $P < 0,01$ ) індикаторних еритроцитів.

У дослідних риб відзначали суттєву різницю в кількісному складі всіх груп високоавідних та більшої частини високоавідних лімфоцитів з



вірогідністю  $P < 0,05 - 0,001$ , за винятком тих клітин, що приєднують 10 і більше індикаторних еритроцитів. Різницю спостерігали і за кількістю О-лімфоцитами які не мають В-рецепторів (ЕАС-РОК), як між дослідними рибами ( $P < 0,001$ ), так і між хворими і контрольними імунізованими ( $P < 0,05$ ). Найбільшу їх кількість спостерігали у стійких до аеромонозу коропів, а найменшу у риб, що захворіли.

У підсумку кількісно збільшилися лише низьковідні форми В-лімфоцитів, незважаючи на загальне збільшення кількості лімфоцитів, яке припадало переважно на клітини, у яких був або не було низького вмісту В-рецепторних зон на клітинних мембранах (рис. 3).



**Рис.3. Імунологічні профілі кількісного вмісту лімфоцитів з В-рецепторами в периферійній крові, вакцинованих в черевну порожнину коропів, при зараженні *A. hydrophila*.**

—◆— контроль; —■— риби, які захворіли після зараження;  
—▲— риби, які не захворіли після зараження.

У відсотковому відношенні в розподілі лімфоцитів відзначали різницю між хворими, контрольними і стійкими до хвороби коропами, а також між двома останніми групами. В той же час у коропів, стійких до дії бактерії, відносний вміст Т-лімфоцитів різних груп був вищим, ніж у інших груп, що свідчить про підвищення їхньої функціональної активності. Однак, в групі лімфоцитів, у яких були В-рецепторні зони, у всіх риб відсотковий розподіл клітин носив аналогічний характер і практично збігався.



## ВИСНОВКИ

У імунізованих коропів спостерігається вірогідне збільшення у периферійній крові кількості функціонально активних низько- і високоавідних Т- і В-лімфоцитів. Виросла також кількість О-клітин і лімфоцитів з Т-рецепторами, що засвідчує про активізацію процесів їх утворення і формування активного захисту проти бактерії *Aeromonas hydrophila* в системі «паразит – господар».

У риб, що захворіли на гострий перебіг аеромонозу кількість активних низько- і високоавідних Т- і В-лімфоцитів була значно нижчою за контрольні показники і показники коропів стійких до аеромонозу риб, що свідчило про зниження стійкості організму цих риб до впливу аеромонад.

Отже, одним з чинників стійкості господаря (риби) в системі «паразит-господар» є здатність своєчасно виробляти в достатній кількості активні низько-і високоавідні Т- і В-клітини, які виконують роль одного з чинників досягнення рівноваги в даній системі.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Вихман А.А. Системный анализ иммунофизиологической реактивности рыб в условиях аквакультуры / А.А.Вихман. – М.: Экспедитор, 1996. – 176 с.
2. Заботкина Е.А. Особенности функциональной активности лейкоцитов периферической крови костистых рыб / Е.А.Заботкина // Проблемы иммунологии, патологии и охраны здоровья рыб и других гидробионтов: пасш. материалы междунар. научно-практической конференции. – Борок, 2007. – С. 23-36
3. Исаева Н.М. Некоторые аспекты взаимодействия рыб с возбудителями инфекций / Н.М.Исаева, Э.В.Компанец, С.М.Супрун // Актуальні проблеми аквакультури та раціонального використання водних біоресурсів: матеріали міжнар. науково-практич. конф., 26 – 30 вересня 2005 р. – К.: Інститут рибного господарства УААН, 2005. – С. 100-103.
4. Компанець Е.В. Вплив аеромонад на вакцинованих в черевну порожнину коропів в системі «паразит-господар» / Е.В.Компанець // Рибогосподарська наука України. – 2012. – № 4. – С. 133-135.
5. Кулинич Н.Н. Определение Т- и В-лимфоцитов в периферической крови карпа / Н.Н. Кулинич, А.Е. Галатюк // Ветеринария. – 1986. – № 11. – С. 28-29.
6. Купер Э. Сравнительная иммунология / Э.Купер. – М.: Мир, 1980. – 422 с.
7. Лукьяненко В.И. Иммунология рыб / В.И. Лукьяненко. – М.: Пищ. пром-ть, 1971. – 364 с.
8. Лукьяненко В.И. Иммунобиология рыб: врожденный иммунитет / В.И. Лукьяненко. – М.: Агропромиздат, 1989. – 271 с.
9. Микряков В.Р. Изучение факторов иммунитета у рыб на примере карпа *Surginus carpio* / В.Р. Микряков. – Автореф. дисс. канд.биол.наук. – М., 1969. – 20 с.
10. Микряков В.Р. Закономерности функционирования иммунной системы пресноводных рыб / В.Р. Микряков // Автореф. дисс. ... д-ра биол. наук. – М., 1984. – 38 с.
11. Микряков В.Р. Клеточные основы иммунитета у рыб / В.Р. Микряков, Л.В. Балабанова // Тр. Ин-та биол. внутр. вод. – 1979. – № 38/41. – С. 105-124.
12. Сохин А.А. Прикладная иммунология / А.А. Сохин, Е.Ф. Чернушенко. – К.: Здоров'я, 1984. – 320 с.



13. *Roberts R. J.* Grundlagen der Fischpathologie mit einer Einführung in die Anatomie, Physiologie, Pathophysiologie und Immunologie sowie in den aquatischen Lebensraum der Knochenfische / R.J. Roberts, H.J. Schlotfeldt. – Berlin und Hamburg: Verlag Plau Parey, 1985. – 425 s.

**АКТИВНОСТЬ ЛИМФОЦИТОВ В КРОВИ ИММУНИЗИРОВАННЫХ В БРЮШНУЮ ПОЛОСТЬ КАРПОВ В СИСТЕМЕ «ПАРАЗИТ-ХОЗЯИН»**

*Э. В. Компанец*

Приведены результаты исследований Т- и В-клеточного иммунитета в крови карпов после заражения бактерией *Aeromonas hydrophila*. Показано, что одним из факторов устойчивости карпов к бактерии *Aeromonas hydrophila* является способность своевременно производить в достаточном количестве функционально активные Т- и В-клетки, что служит также достижению равновесия в системе между паразитом и хозяином.

**Ключевые слова:** карп, бактерия *Aeromonas hydrophila*, иммунизация, лимфоциты.

**ACTIVITY OF LYMPHOCYTES OF IMMUNIZED IN THE ABDOMINAL CAVITY CARP IN THE SYSTEM "PARASITE-OWNER"**

*E. Kompanets*

In the following article are given the results of investigation of T- and B-cells immune system in carps after infectioning with the bacteria *Aeromonas hydrophila*. It is shown that one of the factors of stability carp to bacteria *Aeromonas hydrophila* is the ability to timely produce a sufficient number of functionally active T-and B-cells, which serves as a factor in achieving a balance in the system between parasite and host.

**Keywords:** carp, the bacterium *Aeromonas hydrophila*, immunization, lymphocytes.

