

АКТИВНІСТЬ Т- І В-КЛІТИННОЇ ЛАНКИ ІМУНІТЕТУ У КРОВІ КОРОПА ЗАЛЕЖНО ВІД РІВНЯ ВІТАМІНУ А У РАЦІОНІ

Попик І.М., Віщур О.І.

Інститут біології тварин НААН, м. Львів

Однією з найбільш актуальних науково-практичних проблем сучасного ставкового рибництва є підвищення резистентності риб до захворювань і негативних техногенних факторів зовнішнього середовища [1–3]. У зв'язку з цим при розробці ефективних методів годівлі коропа значна увага приділяється дослідженню імунного статусу риб [4, 5]. В умовах спеціалізованих рибницьких господарств вирощування риби тісно пов'язане з її годівлею, метою якої є отримання максимальної кількості продукції високої якості в найкоротші терміни за мінімальних витрат кормів [7]. При цьому важливе значення має повноцінне забезпечення раціону риб вітамінами, зокрема вітаміну А. Основна біологічна роль вітаміну А в організмі тварин полягає в тому, що він бере участь у синтезі зорового пігменту (родопсину), що є з'єднанням білка з вітаміном А; він підтримує в нормальному стані слизові оболонки; стимулює ріст молодих тварин [8]. У літературі є окремі повідомлення про роль вітаміну А у резистентності риб. Проте ці дані фрагментарні та потребують ретельного вивчення.

У зв'язку з цим, актуальним є дослідження показників, які характеризують стан Т- і В-клітинної ланки імунітету коропа, що висується за різного типу годівлі та вітаміну А у раціоні.

Матеріали та методи досліджень. Дослідження проведено на трьох групах лускатого коропа (*Cyprinus carpio L.*) дворічного віку, які вирощувалися у дослідних ставках львівської дослідної станції Інституту рибного господарства НААН. Протягом вегетаційного періоду, який тривав 80 діб, риби 1-ої групи (контрольної) споживали лише природний корм, наявний у ставку, риbam 2-ої групи окрім природного корму додатково згодували стандартний комбікорм, а риbam 3-ої групи – стандартний комбікорм, до якого додатково вводили вітамін А у вигляді 3,44 % масляного розчину ретинілацетату (ЗАО «Технолог», м. Умань) поступово збільшуючи його концентрацію в раціоні зі збільшенням кількості корму у відповідності з нормами годівлі.

Після закінчення досліду в кінці вегетаційного періоду для імунологічних досліджень у п'яти коропів з кожної групи брали кров. У стабілізованій гепарином крові визначали загальну кількість Т-лімфоцитів (ТЕ-РУЛ) і кількість «активних», (ТА-РУЛ) і теофілінрезистентних – Т-хелперів (Th) – у реакції розеткоутворення з еритроцитами барана, кількість Т-лімфоцитів з переважно супресорною активністю (Ts) – шляхом віднімання числа (Th) від загальної кількості Т-лімфоцитів. В-лімфоцити (ЕАС-РУЛ) визначали у реакції комплементарного розеткоутворення з еритроцитами барана. При підрахунку кількості Т- і В-лімфоцитів та їх регуляторних субпопуляцій на фіксованих і фарбованих мазках крові визначали лімфоцити із низькою (3–5), середньою (6–10) і високою (М) щільністю рецепторів і функціонально недиференційовані лімфоцити (0).

Результати досліджень. З наведених у табл. 1 даних бачимо, що загальна кількість Т-лімфоцитів (загальних, активних, теофілінрезистентних і Т-супресорів) у крові коропів усіх дослідних груп порівняно до контрольної істотно не відрізнялась. Однак, у крові коропів другої групи, яким окрім природного корму згодували комбікорм виявлено тенденцію до зменшення кількості ТЕ-РУЛ та теофілін-чутливих Т-лімфоцитів. Як видно з даних табл. 1 зменшення кількості ТЕ-РУЛ у крові коропів другої групи відбувалось за рахунок зниження кількості ТЕ-РУЛ з низьким ступінь авідності ($p < 0,01$). При цьому кількість «нульових», а також ТЕ-РУЛ з середньою та високою щільністю рецепторів у крові коропів другої групи мали тенденцію до зростання. Згодування коропам третьої групи разом із комбікормом вітаміну А спричиняє стимулювальний вплив на кількість і функціональну активність ТЕ-РУЛ. Про що свідчить тенденція до збільшення кількості ТЕ-РУЛ у крові риб третьої групи. Указані зміни у крові коропа третьої групи порівняно до другої відбувались за рахунок зростання кількості ТЕ-РУЛ з низькою щільністю рецепторів і зниження високоавідних їх форм ($p < 0,005$).

Як показали результати проведених досліджень (табл. 1), загальна кількість «активних» Т-лімфоцитів у крові коропів контрольної та обох дослідних груп була на однаковому рівні. При цьому, у крові риб другої групи порівняно до контрольної виявлено в 1,43 рази ($p < 0,05$) меншу кількість ТА-РУЛ з середньою щільністю рецепторів. Такі зміни перерозподілу авідності рецепторного апарату Т-лімфоцитів у крові коропів другої дослідної групи ймовірно, обумовлені додатковим згодуванням у складі раціону стандартного комбікорму, що спричиняє додаткове антигенне навантаження на організм досліджуваних риб.

Згодування коропам третьої групи разом із комбікормом вітаміну А призводить до збільшення загальної кількості ТА-РУЛ і зростання їхньої функціональної активності. Зокрема, у крові риб виявлено в 1,17 рази ($p < 0,05$) більшу кількість ТА-РУЛ з низьким ступенем авідності. Аналогічні різниці в кількості «активних» Т-лімфоцитів спостерігали у крові коропів третьої групи, порівняно до другої.

Збільшення кількості та функціональної активності ТЕ і ТА-РУЛ у крові коропів третьої групи можна пояснити стимулювальним впливом вітаміну А, що додатково згодували риbam у складі комбікорму.

Таблиця 1 – Кількість Т-лімфоцитів та їх функціональна активність у крові досліджуваних коропів, % ($M \pm t$, $n = 5$)

Показники	Група риб		
	1	2	3
Загальні (ТЕ-РУЛ), 0	57,6±1,03	60,4±0,9	57,0±1,26
3-5	34,2±0,97	30,2±0,37**	36,8±0,97***
6-10	5,6±0,24	6,2±0,66	4,8±0,37
М	2,6±0,51	3,2±0,58	1,4±0,24°
%	42,4±1,03	39,6±0,93	43,0±1,26
Активні (ТА-РУЛ), 0	79,4±0,75	80,0±0,7	77,6±0,93
3-5	16,2±0,73	17,0±0,71	19,0±0,71*
6-10	4,0±0,45	2,8±0,20*	3,4±0,42
%	20,6±0,75	20,0±0,71	22,4±0,93
Т-хелпери, 0	77,0±1,14	78,2±1,16	78,2±0,86
3-5	20,6±1,03	19,0±0,45	19,8±0,58
6-10	2,4±0,68	3,2±0,58	2,0±0,45
%	23,0±1,14	22,0±1,05	21,8±0,86
Т-супресори	20,2±0,97	17,6±0,93	21,2±1,74
ІРІ	1,15±0,11	1,27±0,11	1,08±0,15

Примітки: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$ порівняно з групою риб, які споживали природний корм; ° – $p < 0,05$; °° – $p < 0,001$ у порівнянні між 2 і 3 групами

Із наведених у табл. 1 даних, бачимо, що у крові коропів другої та третьої груп загальна кількість Тh-лімфоцитів, а також теофілін-резистентних Т-лімфоцитів з низькою щільністю рецепторів мала тенденцію до зменшення, а недиференційованих – до зростання, порівняно з їх кількістю у крові коропів першої групи. При визначенні кількості теофілін-чутливої популяції Т-лімфоцитів у крові риб усіх дослідних груп виявлено подібні зміни, що і при визначенні загальної кількості ТЕ- і ТА-РУЛ. Так, кількість теофілін-чутливих Т-лімфоцитів у крові коропів другої групи мала тенденцію до зменшення порівняно до контрольної групи. При цьому кількість теофілін-чутливих Т-лімфоцитів у крові коропів третьої групи була більша, порівняно до першої і другої груп, проте різниці виявились не вірогідними. Отримані результати досліджень свідчать, що додаткове згодовування коропам дослідних груп комбікорму істотно не впливає на загальну кількість Т-лімфоцитів та їх окремих популяцій, проте спричиняє супресивний вплив на функціональну активність ТЕ- і ТА-РУЛ.

Дослідження В-лімфоцитів у крові характеризує рівень гуморальної ланки імунітету. Як бачимо з одержаних результатів (табл. 2), загальна кількість ЕАС-РУЛ у крові коропів другої та третьої груп мала тенденцію до збільшення, а кількість недиференційованої популяції зменшувалася, порівняно з контрольною, що вказує на імуностимулювальний вплив досліджуваних чинників на активність гуморальної ланки імунної відповіді організму риб. За ступенем диференціації В-лімфоцитів у крові коропів другої групи виявлено вірогідно ($p < 0,05$) більшу кількість низькоавідних і меншу кількість високоавідних популяцій клітин, відповідно в 1,11 і 1,71 рази. Водночас, у крові коропів третьої групи, порівняно до першої, вірогідно підвищується число антитілопродукуючих В-лімфоцитів з низькою і зменшується з високою щільністю рецепторів, відповідно в 1,15 рази ($p < 0,001$) і вдвічі ($p < 0,01$).

Таблиця 2 – Відносна кількість В-лімфоцитів (ЕАС-РУЛ) у досліджуваних коропів, % ($M \pm m$, $n = 5$)

Показники	Група риб		
	1	2	3
В-лімфоцитів (ЕАС-РУЛ), 0	66±0,89	63,8±1,53	63,6±1,22
3-5	26,4±0,60	29,2±0,86*	30,4±0,51***
6-10	5,2±0,58	5±0,78	4,8±0,73
М	2,4±0,24	1,4±0,25*	1,2±0,20**
%	34±0,89	36±1,55	36,4±1,21

Дослідження показали, що відносна кількість В-лімфоцитів у крові коропів другої та третьої груп була на однаковому рівні. Збільшення кількості ЕАС-РУЛ у крові коропів обох дослідних груп, порівняно до контрольної, можна пояснити комплексною дією досліджуваних чинників у складі комбікорму на кількість теофілін-резистентної популяції Т-лімфоцитів, які активують лімфопоез і диференціацію В-лімфоцитів.

Отже, проведені дослідження показали, що загальна кількість Т-лімфоцитів і їх окремих популяцій і В-лімфоцитів вірогідно не змінювалась у залежності від умов вирощування коропів, проте, їх функціональна активність залежала від рівня вітаміну А у складі комбікорму. Додаткове введення коропам до складу комбікорму вітаміну А призводить до збільшення кількості Т-лімфоцитів (загальних, активних і теофілін-чутливих) і В-лімфоцитів у їх крові та підвищує функціональну активність імунокомпетентних клітин за рахунок перерозподілу рецепторного апарату Т- і В-лімфоцитів у бік збільшення їхньої авідності.

Висновки. 1. Встановлено, що загальна кількість Т-лімфоцитів і їх окремих популяцій і В-лімфоцитів у крові коропів, що споживали природний корм, а також, яким додатково згодовували комбікорм з різним рівнем вітаміну А у раціоні, суттєво не відрізнялось. Проте, кількість низькоавідних популяцій ТЕ-РУЛ і ТА-РУЛ із середньою щільністю рецепторів у крові коропів, яким згодовували комбікорм була менша, ніж у риб контрольної групи, що споживали тільки природний корм.

2. Додавання ретинілацетату до комбікорму сприяло підвищенню функціональної активності імунокомпетентних клітин, про що свідчить більша кількість низькоавідних ТЕ-РУЛ і середньоавідних ТА-РУЛ у крові коропів дослідної групи.

Перспективи подальших досліджень: У подальшому плануємо вивчити вплив різних умов вирощування коропа на неспецифічну резистентність.

Список літератури

- Грициняк, І.І. Пріоритетні напрями наукового забезпечення рибного господарства України [Текст] / І.І. Грициняк, О.М. Третяк // Рибогосподарська наука України. – 2007. – № 1. – С. 5–20.
- Катасонов, В.Я. Селекція риб с основами генетики [Текст] / В.Я. Катасонов, Б.И. Гомельський. – М. : Агропромиздат, 1991. – 208 с.
- Катасонов, В.Я. Селекція риб і племенне дело в рыбководстве [Текст] / В.Я. Катасонов, Н.Б. Черфас. – М. : Агропромиздат, 1986. – 182 с.
- Давыдов, О.Н. Ихтиопатологическая энциклопедия [Текст] / О.Н. Давыдов, Н.М. Исаева, Л.Я. Куровская. – К. : НАН Украины, 2000. – 164 с.
- Вихман, А.А. Иммунофизиологический статус рыб объектов аквакультуры [Текст] : автореф. дис. ... д-ра биол. наук / А.А. Вихман. – М., 1994. – 48 с.
- Шерман, І.М. Годівля риб [Текст] / І.М. Шерман, М.В. Гринжевський, Ю.О. Желтов. – К. : Вища освіта, 2001. – 269 с.
- Куртяк, Б.М. Жиророзчинні вітаміни у ветеринарній медицині і тваринництві [Текст] / Б.М. Куртяк, В.Г. Янович. – Львів : Тріада плюс, 2004. – 426 с.

NUMBER OF T-AND B- LYMPHOCYTES AND THEIR FUNCTIONAL ACTIVITY IN THE BLOOD OF CARP UNDER DIFFERENT TYPES OF FEEDING

Popyk I.M., Vishchur O.I.

Institute of Animal Biology NAAS, Lviv

The article presents data on the effect of different levels of vitamin A in the diet on the number of T and B lymphocytes and their functional activity in the blood of carp. It was determined that additional administration in the composition of the diet of two years of age carp vitamin A in the form retinilatsetatu finds stimulating effect on the activity of fish T-and B-cell immunity. In particular, the number of T-lymphocytes (total, active, suppressors) and B-lymphocytes in the blood of carp, which additionally fed a diet consisting of vitamin A was greater than that of fish that eat a natural diet.