
ФИЗИОЛОГИЯ И БИОХИМИЯ ГИДРОБИОНТОВ

УДК 639.371.2:591.1

**ИЗУЧЕНИЕ ДЕЙСТВИЯ *IL-2* НА ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ
ПОКАЗАТЕЛИ МОЛОДИ БЕЛУГИ (*HUSO HUSO*) В УСЛОВИЯХ
СИСТЕМАТИЧЕСКОГО ХЕНДЛИНГА**

© 2008 г. С.Ю. Касаева¹, Н.В. Судакова¹, Е.Н. Савенкова¹,
М.Н. Смирнов², М.В. Островский²

1 – ФГУП ННЦ «БИОС», Астрахань

2 – ООО «БИОТЕХ», Санкт-Петербург

Поступила в редакцию 20.06.2007 г.

Окончательный вариант получен 07.09.2007 г.

При выращивании осетровых зачастую сталкиваются с проблемами нарушения иммунного статуса у рыб обусловленными воздействием различных стресс факторов. В связи с этим особую актуальность приобретает изучение физиологических реакций у осетровых рыб под действием регулярных рыбоводных манипуляций и профилактика медикаментозными средствами, способствующих устранению дефицита клеточного звена иммунитета. В процессе исследований доказано, что под действием хендлинга происходит угнетение клеточного иммунитета у рыб. Также изучено действие Ронколейкина на физиологические показатели молоди белуги при использовании его в качестве антистрессанта.

Систематическое воздействие стрессирующих факторов на осетровых рыб, выращиваемых в условиях аквакультуры, способствует развитию иммунодефицитных состояний. При этом страдает не только гуморальные, но и клеточные звенья иммунитета. Главным образом это касается клеток иммунного надзора – лимфоцитов (Вихман, 1996; Junko, Takaji, 2002; Житенева и др., 2004; Головин, 2004).

В связи с этим особую актуальность приобретает профилактика и лечебная терапия экологически чистыми, безопасными для рыб и человека медикаментозными средствами группы иммуномодуляторов, обладающих иммуностимулирующими свойствами и способствующих устранению Т-клеточных дефицитов.

Интерлейкины являются неспецифическими препаратами и имеют по сравнению с интерфероном большие потенциальные возможности использования в качестве терапевтических препаратов для коррекции Т-клеточных дефицитов. Компоненты системы интерлейкинов (IL) координированно вовлечены в регуляцию иммунного ответа и необходимы для дифференцировки, активации Т и В – лимфоцитов и других клеток иммунного ответа и интегрированы в цитокиновую сеть (Хаитов, Пинегин, 2003). Мишенями регуляторного действия IL-2 являются различные субпопуляции Т-клеток, В-клетки, натуральные киллерные клетки, макрофаги (Smith, 1988). В последние годы в медицине и ветеринарии широко

используется отечественный генно-инженерный аналог интерлейкина-2 – рекомбинантный интерлейкин-2 (rIL-2) «Ронколейкин», производство ООО «БИОТЕХ», Санкт-Петербург. Рекомбинантный интерлейкин-2 (rIL-2) применяют в качестве иммунокорректора при различных инфекционных, гнойно-воспалительных, кожных, онкологических заболеваниях, постоперационных осложнениях и их профилактике, при заболеваниях глаз, дыхательных путей, воздействии стресс-факторов, в качестве адъюванта вакцин (Hank et al., 1999; Козлов, 2002).

Несмотря на довольно большое количество исследований в области физиологии стресса, еще остаются малоизученными видовые особенности физиологических реакций характерных для осетровых рыб, в частности для белуги. Многолетние наблюдения свидетельствуют о том, что молодь белуги более восприимчива к возникновению вторичных инфекционных заболеваний, связанных с интенсификацией рыбоводных процессов, по сравнению со стерлядью, гибридами: бестер, русско-сибирский осетр и т.д. В связи с этим была осуществлена экспериментальная работа по изучению физиолого-иммунологического статуса молоди белуги под воздействием «хендлинга» и применения rIL-2 в качестве антистрессанта.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования стала молодь белуги (*Huso huso*), материал экспериментальных работ – молодь в возрасте 100 суток. Экспериментальные работы были проведены в период с 6.09.2006 г. по 7.10.2006 г. Для эксперимента сформировали четыре группы рыб. Плотность посадки в среднем составила 6,99 кг на бассейн, при средней массе молоди 116,21 г. Рыб первой группы в количестве 75 экз. обработали Ронколейкином трехкратно, с интервалом 48 ч. в дозе 2 тыс. ед./кг массы тела, второй (75 экз.) – однократно 4 тыс. ед./кг массы тела, третьей (75 экз.) однократно обработали в дозе 6 тыс. ед./кг массы тела, четвертую (75 экз.) не обрабатывали (контроль). Сухую форму Ронколейкина предварительно разводили в 0,65% физиологическом растворе. Подготовленный таким образом препарат в вышеуказанных дозах вносили в кормовую пасту. Контрольным рыбам также давали пастообразный корм, но не содержащий Ронколейкин. Опытную и контрольную молодь белуги, регулярно, раз в 7 дней подвергали хендлингу (облов, измерение, взвешивание, отбор крови).

Размерно-весовые показатели у сеголеток белуги определяли еженедельно. Отбор крови у рыб всех групп осуществляли пункцией хвостовой вены до применения препарата и на 0, 7, 14, 21, 28-е сутки эксперимента. Кормовой рацион рыб, а также условия их содержания не имели различий между контролем и опытом.

Подсчет форменных элементов крови проводили унифицированным методом в счетной камере Горяева, СОЭ – по методу Панченкова. Мазки крови фиксировали раствором Майн-Грюнвальда и докрашивали азур-эозином по Романовскому. Анализ лейкоцитарной формулы проводили по методике Ивановой (1983). Уровень гемоглобина в крови определяли гемоглобинцианидным методом. Содержание общего белка в сыворотке крови исследовали биуретовым методом, альбумина – по реакции с бромкрезоловым зеленым. Лизосомально-катионный тест (ЛКТ) проводили по методу Пигаревского В.Е. (1981). Уровень иммуноглобулинов определяли по унифицированной методике Воловенко М.А. (1975). В работе использовали диагностические наборы фирмы «Агат-Мед», «Ольвекс», «Лахема».

Экспериментальные работы проводили в условиях благоприятных для развития и роста рыб. Температура воды с начала до конца сентября имела четкую тенденцию к понижению с 22,4 до 16,2 °С. Концентрация кислорода в воде была относительно стабильна и в среднем составляла 8,7 мг/л. Содержание NO_2^- , NO_3^- , NH_4^+ , CO_3^{2-} , а так же уровни pH и перманганатной окисляемости колебались в диапазонах 0,03-0,08; 2,8-4,9; 0,51-0,79; 0,80-0,83; 8,20-8,40; 9,26-10,37 соответственно, и были в пределах рыбоводных норм.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Размерно-весовые показатели молоди белуги в условиях эксперимента

Анализ размерно-весовых показателей молоди белуги свидетельствует о том, что в начале эксперимента все группы рыб были практически одинаковы. На 7-е сутки обнаружено отставание рыб группы контроля по средней массе и длине на 6,22% и 8,73% соответственно по показателям от особей группы 3. При этом различия между контролем и опытом 3 были достоверны при $p < 0,05$ (табл. 1). Также отличалась на 9,88% от третьей опытной группы рыб по средней массе молодь из первой опытной группы с дозой Ронколейкина – 2 тыс. ед./кг массы тела с трехкратной дачей препарата в корм. В дальнейшем, на 14, 21 и 28-е сутки эксперимента тенденция сохранялась. Однако, к 21-м суткам средняя масса рыб из группы 1 стала выше, чем контрольные на 5,22%. О более интенсивном росте рыб из опытных вариантов свидетельствуют и данные относительно среднесуточного прироста (рис. 1). Но при детальном изучении данных процессов обнаружено, что в период с 14 по 21-е сутки отмечено снижение темпа роста у особей из всех групп. Периоды усиления и снижения относительного прироста у рыб связаны с тем, что накопление массы чередуется с ростом в длину. Характер изменений может свидетельствовать о состоянии организма рыб.

Таблица 1. Размерно-весовые показатели молоди белуги.
Table 1. Size-weight parameters beluga juveniles.

Вариант	Сутки	$M \pm m$ (кг)	$L \pm m$ (см)	$l \pm m$ (см)
Контроль	0	$120,03 \pm 6,97$	$31,42 \pm 0,16$	$24,62 \pm 0,11$
Опыт 1		$114,11 \pm 3,74$	$31,15 \pm 0,19$	$25,37 \pm 0,22$
Опыт 2		$113,97 \pm 4,22$	$32,84 \pm 0,09$	$27,29 \pm 0,12$
Опыт 3		$120,26 \pm 5,84$	$33,19 \pm 0,11$	$27,90 \pm 0,19$
Контроль	7	$135,70 \pm 2,18^*$	$32,37 \pm 0,18^*$	$28,41 \pm 0,23$
Опыт 1		$130,40 \pm 1,25^*$	$33,91 \pm 0,08$	$27,06 \pm 0,11$
Опыт 2		$137,02 \pm 3,57$	$34,73 \pm 0,24$	$28,96 \pm 0,10$
Опыт 3		$144,71 \pm 2,29^*$	$35,47 \pm 0,20^*$	$29,85 \pm 0,21$
Контроль	14	$167,80 \pm 2,53^*$	$36,65 \pm 0,13$	$31,63 \pm 0,14$
Опыт 1		$167,50 \pm 2,80^*$	$36,56 \pm 0,15$	$30,67 \pm 0,17$
Опыт 2		$171,94 \pm 2,19$	$36,49 \pm 0,12$	$30,41 \pm 0,10$
Опыт 3		$186,68 \pm 2,86^*$	$37,87 \pm 0,16$	$31,32 \pm 0,11$
Контроль	21	$190,10 \pm 2,87^*$	$36,45 \pm 0,18$	$32,04 \pm 0,24$
Опыт 1		$201,50 \pm 4,28$	$38,15 \pm 0,15$	$33,30 \pm 0,21$
Опыт 2		$192,97 \pm 2,50$	$37,68 \pm 0,24$	$32,67 \pm 0,19$
Опыт 3		$208,98 \pm 3,06^*$	$38,75 \pm 0,14$	$32,54 \pm 0,10$
Контроль	28	$221,40 \pm 3,17^*$	$38,18 \pm 0,16^*$	$32,04 \pm 0,16$
Опыт 1		$229,00 \pm 3,29$	$42,25 \pm 0,20$	$33,30 \pm 0,24$
Опыт 2		$228,04 \pm 3,59$	$43,66 \pm 0,19$	$32,67 \pm 0,23$
Опыт 3		$247,00 \pm 2,60^*$	$44,53 \pm 0,19^*$	$32,54 \pm 0,24$

Примечание: «*» различия достоверны при $p < 0,05$.

Note: «*» distinctions are authentic at $p < 0,05$.

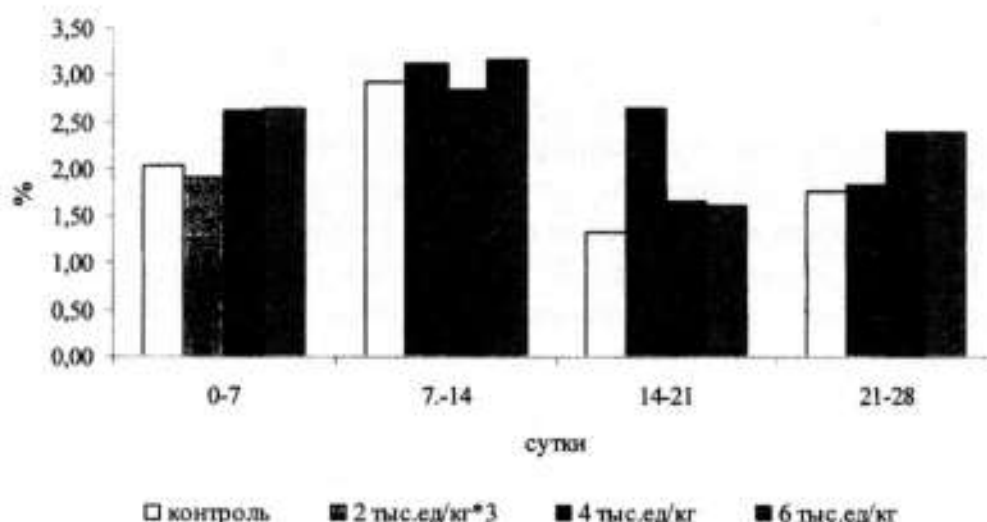


Рис. 1. Относительный среднесуточный прирост молоди белуги.

Fig. 1. The Relative daily average gain beluga juveniles.

Так, контрольные рыбы имели самые низкие показатели с 14 по 28-е сутки эксперимента. В этот же период у этой молоди отмечено покраснение брюшных жучек. Это, вероятно, связано с тем, что эта молодь была больше подвержена стрессу в отличие от молоди из опытных вариантов. Кроме того, в период с 14 по 21-е сутки отмечено, что молодь белуги из опыта-1 в среднем росла интенсивнее на 41,88% относительно контрольного, второго и третьего опытного

вариантов. Это, по-видимому, обусловлено пролонгированным действием gIL-2 в низких дозах при многократном, пероральном введении препарата. Однако, при анализе коэффициента упитанности по Фультону особых различий между группами не зарегистрировано (табл. 2).

Таблица 2. Показатели коэффициента упитанности рыб по Фультону.
Table 2. Parameters of factor of fatness of fishes on Fulton.

Вариант	Показатель	Сутки				
		0	7	14	21	28
Контроль	K(ф) ± m (y.e)	0,65±0,01	0,64±0,02	0,69±0,01	0,66±0,02	0,70±0,01
Опыт 1		0,67±0,01	0,68±0,01	0,71±0,01	0,69±0,02	0,72±0,01
Опыт 2		0,67±0,01	0,67±0,01	0,70±0,01	0,68±0,01	0,72±0,01
Опыт 3		0,66±0,02	0,67±0,02	0,68±0,01	0,69±0,02	0,71±0,01

Таким образом, в результате анализа размерно-весовых показателей рыб в течение эксперимента обнаружено, что gIL-2 стимулирует рост рыб при наличии стрессовой нагрузки во всех исследуемых дозах и способствует более стабильному массонакоплению при трехкратном введении препарата в минимальной дозе.

Гематологические показатели молоди белуги в условиях эксперимента

До начала эксперимента все особи, участвующие в эксперименте были относительно однородны по гематологическим показателям (табл. 3).

Таблица 3. Гематологические показатели молоди белуги
Table 3. Hematological parameters of beluga juveniles.

Вариант	Показатели	0 сутки	7 сутки	14 сутки	21 сутки	28 сутки
Контроль	Hb ± m г/л	41,55±0,86	51,39±1,87	51,05±1,50	48,79±1,57	45,15±1,47
Опыт 1		43,44±1,08	50,74±2,43	57,77±4,84	54,37±1,91	45,32±1,33
Опыт 2		43,47±0,92	49,08±1,55	53,20±1,52	50,99±3,42	41,68±2,04
Опыт 3		41,51±0,97	45,27±1,89	44,83±4,55	47,25±2,77	48,17±3,15
Контроль	Hb/Er пкг	57,30±3,61	77,27±5,19*	68,38±5,42	64,07±3,91	85,43±5,83*
Опыт 1		47,49±4,17	60,80±2,54	56,62±4,75	68,56±5,67	77,77±5,04
Опыт 2		50,80±3,91	66,30±4,37	55,38±3,22	65,66±6,69	68,49±5,39*
Опыт 3		54,66±3,99	57,39±5,62*	76,11±7,99	75,85±6,06	69,97±6,36
Контроль	Er ± m, 10 ⁻¹² л	0,81±0,04	0,69±0,05	0,79±0,06	0,78±0,04	0,55±0,04*
Опыт 1		0,99±0,07	0,84±0,04	1,04±0,05*	0,83±0,06*	0,61±0,06
Опыт 2		1,02±0,03	0,76±0,04	0,99±0,06	0,81±0,05	0,64±0,06
Опыт 3		0,89±0,06	0,84±0,07	0,59±0,03*	0,65±0,05*	0,74±0,08*
Контроль	Le ± m 10 ⁻¹² л	0,13±0,01	0,07±0,01*	0,07±0,00	0,07±0,00*	0,04±0,00
Опыт 1		0,14±0,00	0,12±0,00*	0,07±0,00	0,09±0,13*	0,06±0,00
Опыт 2		0,13±0,00	0,09±0,00	0,07±0,00	0,06±0,00*	0,05±0,00
Опыт 3		0,11±0,01	0,09±0,00	0,09±0,00	0,08±0,10	0,07±0,00
Контроль	СОЭ мм/ч	3,21±0,15	5,70±0,39	3,45±0,15	4,05±0,13	3,55±0,15
Опыт 1		2,93±0,10	5,68±0,43	3,41±0,22	3,59±0,14	3,73±0,23
Опыт 2		3,00±0,11	5,15±0,33	3,30±0,17	3,25±0,13	3,75±0,13
Опыт 3		3,24±0,09	4,85±0,45	3,00±0,21	3,55±0,28	3,60±0,29

Примечание: «*» различия достоверны при p<0,05.

Note: «*» distinctions are authentic at p<0,05.

Результаты исследования показали, что под воздействием контактного стресса в крови всей молодежи белуги, происходили достоверные изменения ряда гематологических показателей в течение всего периода эксперимента.

Так, выявлены различия по концентрации гемоглобина в крови и в одном эритроците, по количеству эритроцитов и лейкоцитов. В первые две недели отмечено повышение уровня гемоглобина на 18,60, 24,80, 18,28%, соответственно в контроле, опыт 1, 2, по отношению к первоначальным показателям. При этом, исключением были особи опыта 3, которым однократно в корм был внесен Ронколейкин в дозе 6 тыс. ед./кг массы тела. В этом варианте уровень гемоглобина в крови оставался довольно стабильным, его незначительное повышение составляло 7,4%, и было в пределах ошибки. К концу эксперимента у особей из всех групп рыб этот показатель практически был равен первоначальным значениям. Однако, количество эритроцитов в крови снизилось относительно первоначальных показателей на 47,27; 62,29; 37,83; 20,27%, соответственно по группам контроль, опыт 1, опыт 2, опыт 3, что свидетельствует о процессах истощения депонированного резерва этих клеток под воздействием регулярного хендлинга. При этом, анализ концентрации гемоглобина в одном эритроците показал, что насыщение им красных клеток крови было выше чем в начале эксперимента на 32,92; 38,93; 25,82; 21,88%, соответственно по группам рыб.

Абсолютное количество лейкоцитов в крови молодежи белуги к концу эксперимента снизилось на 69,23; 57,14; 61,53 и 36,16%, соответственно по группам рыб (контроль, опыт 1, опыт 2, опыт 3). Это, вероятно, связано не только с негативным влиянием регулярного стресса, но и со снижением температуры воды. При анализе этого показателя на 7-е сутки обнаружено, что количество лейкоцитов у рыб с трехкратной дачей Ронколейкина в дозе 2 тыс. ед./кг и однократной – в дозах 4-6 тыс. ед./кг было на 1,7, 1,2 и 1,2 раза выше, чем у контрольных особей ($p < 0,05$). До конца эксперимента эта тенденция сохранялась, в среднем разница между этими группами и контролем составила 25,0%.

На 7-е сутки отмечено незначительное повышение скорости оседания эритроцитов у всех групп рыб, что также связано с реакцией их организма на стресс. При этом СОЭ находилась в пределах физиологических норм для осетровых рыб (2-10 мм/ч). В дальнейшем до конца эксперимента СОЭ снизилась до первоначальных показателей и достоверных различий между группами молодежи белуги не зарегистрировано.

Таким образом, в результате анализа гематологических показателей молодежи белуги, находящейся под воздействием систематического хендлинга обнаружено увеличение концентрации гемоглобина за счет увеличения его уровня в эритроцитах с постепенной стабилизацией относительно первоначальных показателей.

Отмечено, также развитие лейкопении у всех рыб, но у контрольных рыб этот процесс происходил более активно по сравнению с опытными рыбами.

Биохимические показатели молоди белуги в условиях эксперимента

Данные таблицы 4 свидетельствуют о том, что в начале эксперимента вся молодь из экспериментальных групп имела определенное сходство по биохимическим показателям сыворотки крови.

Таблица 4. Биохимические показатели крови молоди белуги.

Table 4. Biochemical parameters of blood beluga juveniles.

Вариант	Показатели	0 сутки	7 сутки	14 сутки	21 сутки	28 сутки
Контроль	Общий белок (ОБ г/л)	13,78±0,59	14,64±0,55	15,12±0,74	17,46±0,45	14,54±0,55
Опыт 1		13,57±0,44	14,19±0,57	16,23±0,63	18,17±0,68	15,08±0,69
Опыт 2		13,63±0,47	13,97±0,19	15,67±0,66	18,70±1,01	13,90±1,13
Опыт 3		13,99±0,52	13,58±0,59	15,21±0,70	16,93±0,92	14,20±0,61
Контроль	Альбумины (г/л)	6,45±0,24	5,45±0,12	5,74±0,13	5,36±0,16	5,38±0,10
Опыт 1		5,77±0,13	5,19±0,16	5,84±0,15	5,27±0,18	5,63±0,20*
Опыт 2		5,90±0,17	5,34±0,31	5,90±0,17	5,48±0,18	4,91±0,29*
Опыт 3		6,01±0,20	4,81±0,10	5,84±0,10	5,66±0,25	5,55±0,09
Контроль	Иммуноглобулины Ig (г/л)	3,27±0,26	3,65±0,12	3,25±0,13	3,26±0,18	2,80±0,12*
Опыт 1		3,55±0,15	3,43±0,16	3,76±0,16	3,72±0,09	3,45±0,25*
Опыт 2		3,40±0,20	3,06±0,16	3,22±0,15	3,84±0,20	2,43±0,36
Опыт 3		3,35±0,19	2,99±0,13	3,51±0,19	3,69±0,21	2,85±0,15
Контроль	Ig от ОБ %	23,88±0,51	22,45±1,05	21,31±0,80	18,69±1,00	19,37±0,76*
Опыт 1		25,76±0,89	22,36±0,89	23,32±0,84*	20,63±0,51	22,75±1,14*
Опыт 2		24,00±0,53	21,70±1,09	21,05±0,94*	20,60±0,53	19,91±1,59
Опыт 3		23,31±0,51	20,54±0,53	22,61±0,95	21,91±0,83	21,70±1,19

Примечание: «*» различия достоверны $p < 0,05$.

Note: «*» distinctions are authentic at $p < 0,05$.

В дальнейшем, т.е. на 7, 14, 21-е сутки у особей из всех вариантов зарегистрировано увеличение общего белка в сыворотке крови на 21,08; 25,31; 27,43; 17,36%. Если на 7-14-е сутки это может быть связано с усилением пластического обмена, то на 21-е сутки может быть обусловлено снижением пищевой активности рыб или синтезирующей функции печени, а также с реакцией организма рыб на систематический стресс, вызываемый «хендлингом». В этот период отмечено уменьшение концентрации альбуминов в крови. На 28-е сутки отмечены более низкие показатели концентрации общего белка на 20,08; 20,49; 34,83, 19,22%, соответственно по группам контроль, опыт 1, опыт 2, опыт 3. Однако, при статистическом анализе достоверных различий в целом между группами не выявлено. Кроме того, рассматриваемые показатели были на уровне таковых до начала эксперимента.

Данные таблицы 4 свидетельствуют, что в первую неделю происходило снижение концентрации иммуноглобулинов в опытных группах, но при $p > 0,05$. У молоди контрольной группы напротив отмечено незначительное увеличение данного показателя на 10,40%, что, возможно, обусловлено напряжением

факторов гуморального иммунитета. Поскольку в процентном отношении к общему белку зарегистрировано снижение на 6,36%, а альбуминов на 18,34 то, скорее всего увеличение общего белка в тот период у рыб контрольной группы связано с увеличением факторов системы свертывания крови. В дальнейшем у рыб из опытных вариантов концентрация иммуноглобулинов была довольно стабильной. При этом процентное отношение иммуноглобулинов было в диапазоне от 20,0 до 23,0%, что характеризует вполне удовлетворительное физиологическое состояние молоди белуги из опытных вариантов.

На 21 и 28-е сутки обнаружены достоверные различия ($p < 0,05$) по уровню иммуноглобулинов и отношению иммуноглобулинов к общему белку между контрольной и первой опытной группой. При этом у рыб из группы контроля концентрация иммуноглобулинов в сыворотке крови была в среднем на 18,8% ниже, чем у опытных рыб и на 14,4% относительно первоначальных показателей.

Таким образом, анализ основных фракций сывороточных белков показал, что особи из всех опытных групп отличались от контрольных относительно стабильным содержанием иммуноглобулинов в пределах физиологической нормы. В тоже время у молоди из контрольного варианта к концу эксперимента отмечено снижение таковых, что свидетельствует об угнетении гуморального звена иммунитета под действием систематического «хендлинга».

Показатели клеток белой крови молоди белуги в условиях эксперимента.

Наиболее существенные изменения зарегистрированы со стороны клеточного иммунитета. В самом начале эксперимента в лейкоцитарной формуле молоди белуги отмечены отклонения, связанные ярко выраженной эозинофилией (табл. 5).

Это, очевидно, обусловлено рядом факторов, в том числе с повышенной для белуги температурой воды – 23,0-23,5 °С и неоптимальными условиями содержания молоди за неделю до начала эксперимента. Таким образом, в начале эксперимента молодь белуги характеризовалась довольно напряженным состоянием клеточного иммунитета. На седьмые сутки у рыб из опытных групп отмечено уменьшение числа эозинофилов в крови в среднем в 2,06 раза относительно первоначальных показателей. При этом относительное содержание эозинофилов в крови белуги было в пределах характерной лейкограммы молоди белуги. У контрольных особей абсолютное число эозинофилов снизилось на 58,23% (рис. 2), причем относительное оставалось практически на том же уровне (табл. 5). Обнаруженные различия в лейкограмме по количеству лимфоцитов между группой контроля и опытом 1, а также по эозинофилам между всеми опытными вариантами и контролем были достоверны при $p < 0,05$.

К 28-ым суткам у рыб из контрольной группы на фоне снижения абсолютного числа лимфоцитов – клеток иммунного надзора на 30,8%,

происходило снижение и других клеток белой крови, в том числе эозинофилов на 27,8%, сегментоядерных нейтрофилов на 50,0%, относительно первоначальных показателей, что свидетельствует о явных иммунологических нарушениях. Данные показатели у молоди белуги из опытных групп, также имели тенденцию к снижению, но были в пределах физиологической нормы.

Таблица 5. Лейкоцитарная формула молоди белуги.

Table 5. Leukocytes formula of beluga juveniles.

Вариант	Сутки	Лимфоциты	Моноциты	Эозинофилы	Сегменто-ядерные нейтрофилы	Палочко-ядерные нейтрофилы
Контроль	0	37,71±2,26	1,64±0,26	27,93±3,50	9,36±1,13	24,36±2,20
Опыт 1		40,56±2,30	1,25±0,21	30,50±2,70	10,56±3,12	16,13±1,98
Опыт 2		38,32±3,45	2,14±0,19	28,12±3,55	6,92±0,98	24,49±3,65
Опыт 3		40,60±2,66	0,90±0,48	25,60±3,13	10,90±2,21	22,00±2,18
Контроль	7	32,89±2,60*	2,25±0,53	31,86±3,74*	7,11±1,01	25,89±2,62
Опыт 1		48,18±1,61*	3,41±0,48	13,14±0,80*	11,82±1,40	23,45±2,08
Опыт 2		47,55±1,98	4,40±1,02	13,10±1,41*	11,45±1,47	23,50±1,79
Опыт 3		44,70±2,88	4,45±0,76	13,10±1,37*	10,60±0,97	27,15±3,05
Контроль	14	37,75±3,28	0,85±0,25	21,35±1,30	15,10±1,84	24,95±2,23
Опыт 1		54,09±2,89	4,18±0,40	12,45±1,47	9,91±1,68	19,36±2,38
Опыт 2		47,45±2,32	2,25±0,34	17,35±2,24	12,50±1,08	20,45±1,65
Опыт 3		46,50±2,22	4,45±0,53	15,60±1,29	12,05±1,49	21,40±1,73
Контроль	21	37,70±3,15*	3,95±1,17	23,70±2,94	8,75±1,85	25,90±3,08
Опыт 1		53,23±3,06*	2,27±0,41	12,45±1,18	11,73±1,67	20,32±1,50
Опыт 2		45,80±2,61	3,25±0,63	20,35±3,33	10,40±1,93	20,20±3,26
Опыт 3		41,35±3,67	2,95±0,71	17,65±2,16	12,25±1,96	25,80±2,52
Контроль	28	32,10±2,99*	2,20±0,37	23,75±3,36*	14,50±1,48	27,45±2,33*
Опыт 1		47,41±1,97*	2,55±0,43	16,00±1,69*	14,73±1,27	19,32±1,66*
Опыт 2		44,90±3,35	1,60±0,35	15,00±1,64*	15,65±1,92	22,45±1,12
Опыт 3		47,95±2,42*	2,55±0,32	20,05±2,72	12,10±1,62	17,35±2,35*

Примечание: «*» различия достоверны $p < 0,05$.

Note: «*» distinctions are authentic at $p < 0,05$.

При оценке способности палочкоядерных нейтрофилов к фагоцитозу по среднему цитохимическому коэффициенту (СЦК) лизосомально-катионных белков (ЛКБ), т.е. бескислородной микробоцидной системы палочкоядерных нейтрофилов выявлено, что на протяжении всего эксперимента у особей из контрольной группы СЦК ЛКБ был нестабилен и к концу эксперимента снижение коэффициента составляло 14,7% относительно первоначальных показателей (табл. 6).

У рыб из опытных вариантов напротив зарегистрировано повышение данного показателя. Так у рыб из 1-ой группы рыб, которым был перорально трехкратно введен RIL-2 в дозе 2 тыс. ед./кг массы тела СЦК лизосомально-катионных белков возрос на 53,4%, у молоди из второй и третьей опытных групп на 45,83 и 53,78% и соответствовал по пяти балльной системе – 5-ти баллам.

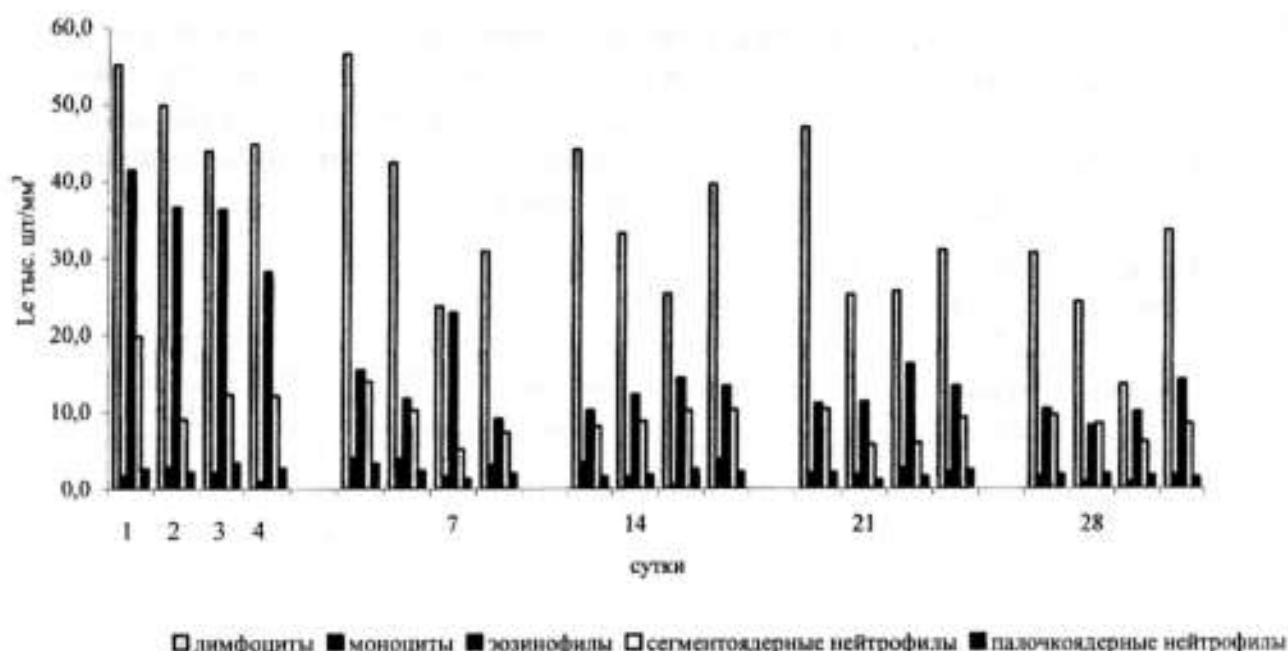


Рис. 2. Лейкоцитарный профиль молоди белуги в условиях эксперимента. Примечание: 1 – (опыт 1); 2 – (опыт 2); 3 – контроль; 4 – (опыт 3).

Fig. 2. Leukocytes structure beluga juveniles in conditions of experiment. Note: 1 – (experience 1); 2 – (experience 2); 3 – control; 4 – (experience 3).

На 7-е сутки отмечены достоверные различия между опытом 3 и контролем ($p < 0,05$). У контрольной молоди белуги СЦК был на 58% ниже такового рыб, которым был дан IL-2 в дозе 6 тыс. ед./кг массы тела. На 21 и 28-е сутки эксперимента различия между СЦК рыб из контрольного и всех опытных вариантов были также существенными ($p < 0,05$). Коэффициент корреляции данного показателя и количества лимфоцитов в крови составил 0,83.

Таблица 6. Лизосомально-катионный тест нейтрофилов молоди белуги в условиях эксперимента (СЦК у.е.).

Вариант	сутки				
	0	7	14	21	28
Контроль	$0,61 \pm 0,04$	$0,58 \pm 0,05^*$	$0,72 \pm 0,06$	$0,60 \pm 0,05^*$	$0,52 \pm 0,07^*$
Опыт 1	$0,58 \pm 0,03$	$0,77 \pm 0,08$	$1,00 \pm 0,11$	$1,08 \pm 0,06^*$	$1,18 \pm 0,11^*$
Опыт 2	$0,52 \pm 0,03$	$0,91 \pm 0,08$	$1,09 \pm 0,13$	$1,18 \pm 0,10^*$	$0,96 \pm 0,11^*$
Опыт 3	$0,55 \pm 0,03$	$1,00 \pm 0,10^*$	$1,08 \pm 0,13$	$1,29 \pm 0,13^*$	$1,19 \pm 0,11^*$

Примечание: «*» различия достоверны $p < 0,05$.

Note: «*» distinctions are authentic at $p < 0,05$.

Таким образом, проведенные исследования показали, что увеличение времени контакта с рыбой и усложнение манипуляций с молодь белуги не оказывает существенного влияния на белковый обмен, но, способствует снижению концентрации иммуноглобулинов в сыворотке крови рыб и приводит к серьезным

нарушениям в лейкопозе. Снижается способность палочкоядерных нейтрофилов к фагоцитозу, о чем свидетельствует уменьшение СЦК лизосомально-катионных белков. При этом в короткий срок могут создаваться предпосылки для развития вторичного иммунодефицита и возникновения вторичных заболеваний у рыб.

Пероральное применение Ронколейкина способствует коррекции соотношения форменных элементов, сохранению лимфоидного характера крови осетровых рыб. Ронколейкин оказывает позитивное влияние на микробоцидную бескислородную систему палочкоядерных нейтрофилов и соответственно на их способность к фагоцитозу. Ронколейкин на длительное время стабилизирует соотношение иммуноглобулиновой фракции и общего белка, и таким образом, воздействует на гуморальное звено иммунитета. Кроме того, за счет оптимизации клеточного иммунитета обеспечивает активный рост организма независимо от стрессовых ситуаций, вызванных хендлингом. Однако, несмотря на то, что выявлена адекватная реакция организма опытных групп на rIL-2, оптимальной дозой можно считать дозу в 2 тыс. ед. при трехкратном пероральном введении препарата через 48 ч., поскольку, она не способствует резким изменениям в организме рыб и обладает более пролонгированным действием в отличие от других доз.

ВЫВОДЫ

1. В результате исследований обнаружено, что систематический хендлинг оказывает негативное воздействие на физиологические показатели молоди белуги. При этом в короткий срок могут создаваться предпосылки для возникновения иммунодефицита у рыб.

2. Показано, что влияние rIL-2 на физиологическое состояние осетровых рыб имеет дозозависимый характер.

3. rIL-2, оптимизируя обменные процессы, стимулирует рост рыб при наличии стрессовой нагрузки во всех исследуемых дозах и способствует более стабильному массонакоплению при трехкратном введении препарата в дозе 2 тыс. ед./кг массы тела.

4. Обнаружено, что rIL-2 сдерживает развитие лейкопении, что свидетельствует о стимуляции функциональной активности лейкопоза.

5. Зарегистрировано позитивное влияние rIL-2 на клеточный иммунитет в первую очередь на активную пролиферацию лимфоцитов и восстановление фагоцитарной функции нейтрофильных гранулоцитов осетровых рыб. Координируя межклеточные взаимодействия, он обеспечивает повышение устойчивости организма к вторичным инфекциям.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Вихман А.А.* Системный анализ иммунофизиологической реактивности рыб в условиях аквакультуры. М.: Экспедитор, 1996.
- Воловенко М.А.* Определение уровня иммуноглобулинов в сыворотке крови новорожденных телят // Ветеринария. 1975. №4. С. 39-40.
- Головин П.П.* Проблемы стресса у рыб в пресноводной аквакультуре: способы диагностики и коррекции. Сб. науч. тр.: Болезни рыб. М.: ВНИИПРХ, 2004. С. 54-61.
- Житенева Л.Д., Макаров Э.В., Рудницкая О.А.* Основы ихтиогематологии (в сравнительном аспекте). Ростов-на-Дону: Эверест, 2004. 312 с.
- Иванова Н.Т.* Атлас клеток крови рыб. М.: Легкая и пищевая промышленность, 1983.
- Козлов В.К.* Ронколейкин®: биологическая эффективность, иммунокорригирующая и клиническая эффективность. СПб., 2002. 86 с.
- Пигаревский В.Е., Мазинг Ю.А.* Лизосомально-катионные белки // Лаб. дело. 1981. №10. С. 579-582.
- Хаитов Р.М., Пинегин Б.В.* Иммуномодуляторы: механизм действия и клиническое применение. М.: ГНЦ Институт Иммунологии, 2003. 23 с.
- Hank J.A., Surfus J., Gan J.* Distinct clinical and laboratory activity of two recombinant interleukin-2 preparations // Clin. Cancer res. 1999. V. 5. №2. Pp. 281-289.
- Junko K., Takaji I.* Cortisol directly inhibits neutrophil defense activates in tilapia (*Oreochromis niloticus*). In: 9th Intern.conf. «Diseases of fish and shellfish». Greece. Rodos. 2002. P. 293.
- Smith K.A.* Interleukin-2: infection, impact and implication // Science. 1988. №240. P. 1169.

STUDYING OF ACTION RIL-2 ON PHYSIOLOGICAL INDICES OF BELUGA (*HUSO HUSO*) JUVENILES IN CONDITIONS REGULAR HANDLING

© 2008 y. S.Yu. Kasaeva¹, N.V. Sudakova¹, E.N. Savenkova¹,
M.N. Smirnov², M.V. Ostrovski²

1 – Federal State Unitary Enterprise «BIOS» Research-and-Production
Center for Sturgeon Breeding, Astrakhan

2 – SLL of «BIOTECH», Sankt-Petersburg

At cultivation sturgeon frequently face with problems of infringement of the immune status at fishes caused by influence various stress of factors. In this connection the special urgency is got with studying physiological reactions at sturgeon fishes under action of regular fish-breeding manipulations and preventive maintenance by the medicamentous means, promoting elimination of deficiency of a cellular link of immunity. During researches it is proved, that under action handling there is an oppression of cellular immunity at fishes. Action Roncoleikin on physiological parameters of small beluga also is investigated at his use in quality antisresses.