

В. Л. ВЛАДИМИРОВ

ЕСТЕСТВЕННАЯ, ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ РЕЗИСТЕНТНОСТЬ У КАРПА (*CYPRINUS CARPIO L.*) ПРИ КРАСНУХЕ

(Представлено академиком Б. Е. Быловским 11 I 1971)

Обнаруженные у рыб механизмы иммунитета — комплемент, пропердин, лизоцим, фагоцитарная активность элементов белой крови, антителообразование и аллергические реакции замедленного действия — по методам выявления аналогичны таковым у теплокровных. Однако изучение активности и динамики развития этих механизмов у рыб проводилось до сих пор в основном или на здоровых особях или при иммунизации последних авирулентными антигенными веществами или неспецифическими условно патогенными агентами (различные гетерогенные сыворотки и эритроциты крови, гемоцианин, микробы *Aeromonas punctata*, вирусы гриппа, бактериофаги). Лишь в немногих работах приведены сведения по иммунитету у рыб при специфичных для них инфекционных заболеваниях⁽¹⁻⁶⁾. В общем, имеющиеся литературные данные позволяют констатировать у рыб лишь наличие механизмов, сходных по методам серологической идентификации с соответствующими механизмами иммунитета теплокровных. Функциональная же значимость этих механизмов у рыб, их роль в системе иммунологической резистентности при инфекционных заболеваниях не изучена. Не установлена и динамика проявления этих механизмов в инфекционном процессе, так как моделирование последнего с помощью условно патогенных агентов не может отражать истинных взаимоотношений между специфическими микро- и макроорганизмами.

Решение этих вопросов и было задачей данного исследования. Объектом изучения послужил иммунитет у карпа при краснухе — инфекционном заболевании рыб. Возникновение иммунитета у переболевших краснухой карпов отмечалось и ранее⁽⁵⁾.

Приводятся результаты изучения только факторов естественной иммунологической невосприимчивости — комплемента, пропердина, лизоцима и фагоцитарной активности, — динамики их проявления, роли и взаимосвязи в инфекционном процессе и защитных реакциях у карпа при краснухе.

Работа проводилась в 1968—1969 гг. на базе Центральной экспериментальной станции нашего института «Ропша» (Ленинградская область).

Всего в опытах участвовало 1232 экз. двухлеток ропшинского гибридного карпа (карп × амурский сазан) весом по 89—90 г и со средним коэффициентом упитанности, представляющих однотипную генетическую линию и не подвергавшихся ранее инфекционным заболеваниям.

Обследование проводилось как при естественном, так и экспериментальном заражении рыб. При естественном заражении инфицирование здоровых особей осуществлялось при совместном содержании их с карпами, уже пораженными острой формой краснухи, при экспериментальном заражении — инъекцированием различных доз нативного возбудителя краснухи. Дозировка возбудителя определялась по методу кумулятивной летальности⁽⁷⁾ на двухлетках карпа.

Возбудитель краснухи добывался преимущественно из мозга, сыворотки крови и эксудата от производителей и ремонта, больных острой формой. Методы его получения, очистки, концентрации и длительного сохранения будут описаны в другой статье. Подопытная рыба содержалась в небольших прудиках, разнообразных садках, чанах и аквариумах и регулярно подкармливалась.

Определение активности комплемента осуществлялось микрометодом (⁸), активности лизоцима — по (⁸), активности пропердина — по (¹⁰), фагоцитарной активности и фагоцитарного числа — по (¹¹), титры сывороточных антител устанавливались реакцией связывания комплемента по общепринятой схеме (¹²). Антисыворотка для выявления в органах и тканях больных рыб возбудителя краснухи получена у кроликов путем внут-

Т а б л и ц а 1

Уровень факторов естественного иммунитета у двухлеток карпа в зависимости от формы заболевания краснухой

Факторы иммунитета	Здоровые	Начальная стадия болезни	Острая фаза	Хроническая фаза
Комплемент	0,8±0,03	0,75±0,02	0,7±0,02	0,9±0,04
Пропердин	6,0±0,3	5,4±0,2	4,5±0,4	7,1±0,6
Лизоцим	4,0±0,5	2,0±0,4	1,0±0,5	1,0±0,6
Фагоцитоз				
активность	32±3	38±5	48±4	22±9
число	1,2±0,05	1,3±0,05	1,5±0,06	1,4±0,09

П р и м е ч а н и я. 1. Заболевание происходило при естественном заражении в температуре 20—22°. 2. В каждой группе обследовано не менее 25 экз. рыб, всего 107 экз.

ривенного введения им вызывающего это заболевание агента в общей дозе, соответствующей 10 DL_{50} для двухлетка карпа.

Поскольку комплемент, лизоцим и пропердин проявляют свою активность не у каждой особи рыб (⁸, ¹²), учет динамики выраженности этих факторов проводился не по двум показателям — проценту встречаемости фактора в какой-либо группе рыб и его среднему титру активности у рыб с этим фактором, а по одному показателю — средней активности, приходящейся на каждый обследованный экземпляр рыб данной группы. Для наглядности такой средней показатель выражался в условных единицах — миллилитрах сыворотки, потребных для полного лизиса 1 мл 3% взвеси соответствующим образом обработанных эритроцитов барана в случае с комплементом и пропердином или 2-миллиардной взвеси микробов *Micrococcus lisodeikticus* в случае с лизоцимом. Численные результаты базируются в каждом случае на показателях не менее чем от 25 рыб. Все результаты подвергнуты статистической обработке.

Специфика получения возбудителя краснухи и свойства, проявленные им, позволяют автору присоединиться к точке зрения о вирусной природе этого заболевания.

Комплемент вместе с пропердином и ионом Mg образует, как известно, иммунологическую систему комплемент — пропердин, наиболее характерную для теплокровных. Эта защитная система имеется и у рыб. Из двух главных ее компонентов пропердин оказался более лабильным. Уже в начале заболевания рыб краснухой его активность возрастает на $10 \pm 3\%$, а в острой фазе болезни — на $25 \pm 11\%$. В дальнейшем, при хроническом течении заболевания, уровень активности этого фактора снижается в 1,5 раза по сравнению с наивысшим и остается таким вплоть до полного клинического выздоровления пораженных краснухой особей (табл. 1). Такова же динамика проявления и комплемента в инфекционном процессе, но она менее четко выражена.

Лизоцим — один из самых лабильных механизмов естественной иммунологической невосприимчивости рыб. Известно, что активность лизоцима у рыб определяется, при прочих равных условиях, интенсивностью антигенного раздражения и выраженностью антителогенеза у макроорганизма (⁸). Это наблюдалось и при моделировании инфекционного процесса — иммунизации рыб условно патогенными микробами *Aeromonas punctata*, а также при краснухе у карпов. Пик активности лизоцима совпадает

с таковым сывороточных антител, нарастает и снижается параллельно ему. У фагоцитарной реакции наблюдается изменение активности при инфицировании организма: сперва, при острой фазе течения болезни, некоторая активизация, а в дальнейшем — незначительное угнетение, если заболевание приобретает хронический характер.

Вирулицидная и вируснейтрализующая роль комплемента, пропердина и лизоцима в системе факторов естественного иммунитета при вирусных заболеваниях дискутируется в настоящее время даже у теплокровных и не может считаться до конца установленной.

Для определения степени возможного антивирусного действия этих факторов на возбудителя краснухи его стопроцентная смертельная доза ($2DL_{50}$) смешивалась с сыворотками здоровых карпов, обладающих каким-либо одним из вышеперечисленных факторов с титром $1/2$, как наиболее часто встречающимся у двухлеток. Сыоротки со 100% смертельной дозой возбудителя выдерживались 1 час при 24° , после чего интрацеребрально инъецировались подопытным рыбам. Контролем служила выживаемость карпов при интрацеребральном введении им такой же дозы вируса, но с полностью инактивированной сыороткой карпа.

Оказалось, что наибольшим вируснейтрализующим свойством обладает лизоцим: под его действием возбудитель краснухи снизил свою вирулентность на $25 \pm 9\%$ в сравнении с контролем; подобное же свойство, но в несколько меньшей степени, проявил и пропердин — уменьшение вирулентности у вируса на $10 \pm 3\%$. У комплемента не было отмечено статистически достоверного вируснейтрализующего действия.

Установлено также, что фагоцитоз не принимает какого-либо статистически достоверного прямого участия в системе противовирусного иммунитета у рыб. Смесь дозы $2DL_{50}$ возбудителя с 1 млн элементов белой крови, отмытых в 0,64% физиологическом растворе и полученных как от здоровых, так и инфицированных краснухой карпов, после инкубации при 24° в течение 1 часа и последующего интрацеребрального инъецирования двухлеткам вызывала гибель последних в такой же степени, как и без элементов белой крови.

Таким образом, из четырех вышеперечисленных факторов общей иммунологической резистентности рыб — лизоцим, пропердин, комплемент и фагоцитоз — лишь первые два проявляют непосредственную вируснейтрализующую активность. Однако противовирусное действие этих факторов не обеспечивает карпам абсолютной иммунологической устойчивости к краснухе. Заражение подопытных рыб наблюдается и при наличии в сыоротке их крови лизоцима и пропердина, но заболевание протекает клинически менее остро и выздоровление наступает быстрее, чем при отсутствии этих факторов. Абсолютная иммунологическая резистентность рыб к краснухе обеспечивается другим, еще не зарегистрированным для рыб, фактором иммунитета — неспецифическими противовирусными ингибиторами, относящимися, судя по предварительным данным, к β -липопротеидным фракциям сыоротки крови и обладающими высокой вируснейтрализующей активностью.

Государственный научно-исследовательский
институт озерного и речного рыбного хозяйства
Ленинград

Поступило
21 XII 1971

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ Н. М. Аршаница, Изв. Гос. н.-и. инст. озерн. и речн. рыбн. хоз., 69 (1969).
² Г. Д. Гончаров, Рыбное хозяйство, 4 (1949). ³ Г. Д. Гончаров, Тр. Всесоюзн. н.-и. инст. морск. рыбн. хоз. и океаногр., 19 (1951). ⁴ Г. Д. Гончаров, ДАН, 78, № 3 (1951). ⁵ А. К. Щербина, Болезни рыб и меры борьбы с ними, Киев, 1960.
⁶ G. E. Krantz, J. M. Redcliffe, C. E. Heist, Progressive Fish-Culturist, 26, № 1 (1964). ⁷ L. I. Reed, H. A. Muench, Am. J. Hyg., 27 (1938). ⁸ В. Л. Владимиров, Изв. Гос. н.-и. инст. озерн. и речн. рыбн. хоз., 69 (1969). ⁹ M. A. Fleming, Proc. Roy. Soc., 93, № 13 (1922). ¹⁰ С. Д. Яковлева, Определение пропердина в сыоротке крови, Л., 1962. ¹¹ Н. В. Пучков, Физиология рыб, М., 1954.
¹² М. О. Биргер, Справочник по микробиологич. и вирусологич. методам исследования, М., 1967. ¹³ V. L. Vladimirov, Bull. Off. Inst. Epiz., 69 (9—10) (1968).