

В. И. Лукьяненко

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ГУМОРАЛЬНЫХ ФАКТОРОВ ЕСТЕСТВЕННОГО ИММУНИТЕТА У ДВУХ СИСТЕМАТИЧЕСКИ УДАЛЕННЫХ МОРСКИХ ВИДОВ РЫБ

Всестороннее изучение факторов естественного и приобретенного иммунитета рыб представляет первостепенный интерес не только для сравнительной иммунофизиологии, но, в первую очередь, для понимания роли иммунобиологических факторов в жизнедеятельности рыб.

Ведущиеся нами на протяжении ряда лет исследования гуморальных факторов естественного иммунитета, таких, как комплемент, пропердин и лизоцим, играющих ведущую роль в защите организма от инфекционных и, в значительной мере, паразитарных возбудителей, призваны ответить на вопрос о распространенности, выраженности и удельном весе этих факторов в иммунитете рыб. Полученные нами данные (Лукьяненко и Миесерова, 1962; Лукьяненко и Михеева, 1963; Лукьяненко, 1964) свидетельствуют о чрезвычайно резких колебаниях частоты обнаружения и уровня содержания названных факторов иммунитета у пресноводных отрядов, семейств, родов и видов.

В связи с этим для создания общих исходных представлений о содержании и степени активности того или иного фактора иммунитета у рыб двух резко отличающихся экологических групп — морских и пресноводных — и было предпринято настоящее исследование.

МЕТОДИКА

Иммунобиологическому обследованию было подвергнуто два резко различающихся вида рыб: черноморская пикша (*Gadus merlangus euxinus* Nordm.) — 60 особей и морской кот (*Trygon pastinaca* L.) — 10 особей.

Такой выбор объектов исследования позволял составить предварительное мнение о выраженности гуморальных факторов естественного иммунитета у низших хрящевых рыб и у более высокоорганизованных костистых.

Исследование проводилось в зимний период. Кровь бралась от каждой рыбы порознь из хвостовых сосудов путем каудотомии, и сыворотка поступала в опыт через 24 часа. В сыворотке

каждой из 70 обследованных рыб параллельно определялись титры комплемента, лизоцима и пропердина.

Титрование комплемента проводилось по разработанному нами (Лукьяненко и Миесерова, 1962) микрометоду на основе схемы титрования комплемента по Феилу.

Частота обнаружения и титр пропердина определялись зимозаным методом Пиллемера в модификации Машкова и Михайловой (1962).

Титрование лизоцима проводилось общепринятым методом Флеминга с использованием в качестве стандарта 1 миллиардной взвеси *Micrassococcus lysodeicticus* при 37° С в течение 3 часов.

Полученные результаты изучения гуморальных факторов естественного иммунитета у морского кота подвергали статистической обработке по методу малой выборки Ван дер Вардена, рабочие формулы которого

$$p = \frac{a+1}{n+2} 100\% \quad (1)$$

и

$$m_p = \pm \sqrt{\frac{p(100-p)}{n+3}}, \quad (2)$$

где p — показатель частоты, m_p — средняя ошибка показателя, a — число рыб с обнаруженным признаком, n — общее число изученных рыб. Средняя ошибка показателя частоты обнаружения пропердина у черноморской пикши рассчитывалась по формуле

$$m_p = \pm \sqrt{\frac{p(100-p)}{n}}. \quad (3)$$

РЕЗУЛЬТАТЫ ОПЫТОВ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты изучения частоты обнаружения и уровня содержания комплемента в сыворотке особей морского кота показали, что только у 2 особей из 10 имелся комплемент. Сыворотки остальных особей оказались рефрактерными, т. е. в них не удалось определить содержание комплемента. Вычислив по формуле (1) относительное число рыб, имеющих комплемент $p = 25\%$, и среднюю ошибку показателя $m = \pm 12$, рассчитаем пределы случайного колебания рассматриваемого признака по формуле: $p \pm 2m_p$. Из полученных данных следует, что случайные колебания полученного нами в выборочном исследовании показателя рыб, имеющих комплемент — 25%, имеют более широкие пределы, а именно: от 0 до 49%.

Наиболее вероятное объяснение столь низкой частоты обнаружения комплемента в сыворотке крови морского кота можно дать, исходя из установленного нами при изучении пресноводных рыб факта сезонного колебания уровня активности компле-

мента и процента рыб, у которых его можно обнаружить. Так, например, по опубликованным нами данным (Лукьяненко и Миссерова, 1962), в зимний период процент щук, имеющих комплемент, немногим менее половины — 45%, а сыворотки остальных 55% рыб рефрактерны. Если, однако, аналогичные исследования провести в летне-осенний период, то, согласно нашим неопубликованным данным, процент позитивных сывороток возрастает от 45 до 95. Сходная картина отмечается и при изучении частоты обнаружения комплемента у налима.

Измерение активности комплемента показало его чрезвычайно низкий уровень: 1,0 (в дозах сыворотки) или 0,5 единицы комплемента. Заметим, что наиболее высокая активность комплемента у пресноводных рыб достигает 25 единиц. Можно думать, что, как и в случае с частотой обнаружения комплемента, низкий уровень его активности обусловлен сезонными колебаниями.

Результаты опытов по титрации комплемента в сыворотке крови черноморской пикши оказались полностью отрицательными, и ни у одной из 60 не удалось отметить гемолиз 0,1 мл 0,5%-ной взвеси сенсibilизированных эритроцитов даже в 0,4 мл нативной сыворотки (по схеме Фейля — 2 мл сыворотки). Хотя исследование выборочной совокупности не позволило определить процент позитивных особей, т. е. имеющих комплемент, можно себе представить, что при дальнейшем увеличении испытуемых особей данного вида и проведении опытов в летне-осенний период, когда все иммунобиологические факторы сыворотки крови рыб становятся активнее, процент негативных сывороток, возможно, уменьшится.

Определение содержания лизоцима в сыворотке крови 10 особей морского кота и 60 особей черноморской пикши показало его отсутствие у всех испытуемых рыб (сыворотка считалась рефрактерной, если при разведении 1 : 5 в течение 3 часов не вызывала лизиса 1 млрд. взвеси кокков).

Полученные результаты исследования лизоцима у двух морских видов рыб в известной мере согласуются с имеющимися в нашем распоряжении данными, согласно которым частота обнаружения лизоцима у мирных пресноводных рыб весьма низка в сравнении с хищными видами.

Существенно иная картина была получена при титровании пропердина в сыворотке крови двух рассматриваемых видов рыб. Определение частоты позитивных сывороток и уровня активности пропердина в сыворотке двух рассматриваемых видов рыб выявило существенные различия между ними по каждому из этих показателей. Пропердин был обнаружен в 29 сыворотках из 60 у черноморской пикши, что составляет 48,3% от общего числа испытуемых рыб. Высчитав по формуле (3) среднюю ошибку для полученного показателя, равную $\pm 20,4$, находим, что

случайные колебания показателя, ограниченные удвоенной средней ошибкой, чрезвычайно широки — от 7,5 до 89,3%.

В противоположность данным, полученным при титровании сывороток черноморской пикши, определение пропердина у 10 особей морского кота позволило выявить его содержание только у одной рыбы. Рассчитав по формулам (1) и (2) показатель частоты $p = 16,6\%$ и $m_p = \pm 10,3$, находим диапазон случайных колебаний, ограниченный удвоенной средней ошибкой: от 0 до 36,9%.

Ниже представлены данные, характеризующие общий уровень и диапазон индивидуальных колебаний активности пропердина у черноморской пикши.

количество рыб, у которых обнаружен пропердин . . .	9	8	5	7
титр пропердина, ед/мл . . .	1,25	2,5	3,7	4,0

Следует подчеркнуть, что средняя активность пропердина у черноморской пикши, равная 2,68 ед/мл, оказалась самой высокой среди 15 изученных нами видов рыб, большинство которых являются пресноводными формами. Средняя активность пропердина у черноморской пикши в 2 с лишним раза выше, чем у морского кота — 1 ед/мл.

Суммируя полученные материалы, характеризующие частоту обнаружения и уровень активности трех гуморальных факторов естественного иммунитета, необходимо прийти к выводу, что наиболее выразительные данные были получены при определении пропердина в сыворотке крови черноморской пикши. Высокий процент позитивных сывороток и относительно высокая для рыб средняя активность пропердина позволяют предположить, что этому важнейшему гуморальному фактору естественного иммунитета принадлежит важное место в обеспечении устойчивости организма к альтерирующим воздействиям инфекционной природы.

Дальнейшие опыты должны показать распространенность и уровень активности двух других гуморальных факторов естественного иммунитета: комплемента и лизоцима.

ЛИТЕРАТУРА

- Лукьяненко В. И. 1964. Межвидовые различия частоты обнаружения и уровня содержания сывороточного лизоцима рыб.—Изв. АН СССР (серия биол.), № 32.
- Лукьяненко В. И. и Миесерова Е. К. 1962. Сравнительно-иммунологическое изучение комплементарной функции крови рыб.—Докл. АН СССР, т. 146, № 4.
- Лукьяненко В. И. и Михеева Г. А. 1963. Содержание пропердина у рыб.—Докл. АН СССР, т. 148, № 2.
- Машков А. В. и Михайлова З. М. 1962. К вопросу о методике определения пропердина в человеческой сыворотке зимозанным способом.—Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунол., № 5.