

ВЛИЯНИЕ «ЦИТРИМИНА» НА СТРУКТУРУ ЛЕЙКОЦИТАРНОЙ ФОРМУЛЫ У РЫБ

Шленкина Татьяна Матвеевна, кандидат биологических наук, доцент кафедры «Биология, экология, паразитология водные биоресурсы и аквакультура

Романова Елена Михайловна, доктор биологических наук, профессор кафедры «Биология, экология, паразитология водные биоресурсы и аквакультура

Романов Василий Васильевич, кандидат технических наук, доцент кафедры «Информатика»

Шадыева Людмила Алексеевна, кандидат биологических наук, доцент кафедры «Биология, экология, паразитология водные биоресурсы и аквакультура

ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ

432017, г. Ульяновск, бульвар Новый Венец, 1; тел.: 8(8422)55-23-75; e-mail: t-shlenkina@yandex.ru

Ключевые слова: аквакультура, африканский клариевый сом, «Цитримин», лейкоцитарная формула.

Очевидным трендом отечественной и зарубежной аквакультуры последних лет является использование биологически активных веществ различного механизма действия. Было наглядно продемонстрировано, что такие биологически активные вещества, как адаптогены, пробиотики, витамины, аминокислоты оказывают явное позитивное влияние на организм рыб, повышая экономические показатели отрасли. В частности, использование адаптогена «Иркутин» в раннем онтогенезе рыб повышало сохранность личинок в период перехода на экзогенное питание, выживаемость мальков, скорость роста, выносливость, снижало уровень каннибализма и стресса, поэтому поиск новых веществ со свойствами адаптогенов для рыбоводства является актуальным. Есть основания полагать, что таким новым веществом может стать «Цитримин». «Цитримин» – это комплекс трис-(2-гидроксиэтил) амина с бис-(2-метилфенокси-ацетатом) цинка и имеет формулу: $(\text{HOCH}_2\text{CH}_2)_3\text{N}\cdot\text{Zn}(\text{OOCCH}_2\text{OC}_6\text{H}_4\text{CH}_3)_2$. Исследование спектра физиологической активности «Цитримина» (одного из представителей протатранов), показало, что он защищает сосуды от образования холестериновых бляшек, является антидотом алкоголя, способен повышать работоспособность, претендуя на роль адаптогена. До настоящего времени «Цитримин» в рыбоводстве не использовался. Целью работы было исследование влияния «Цитримина» на показатели системы крови, в частности на структуру лейкоцитарной формулы африканского клариевого сома. Было установлено, что на фоне «цитримина» достоверных изменений содержания общего количества лейкоцитов в крови африканских сомов не было выявлено, однако было выявлено перераспределение функционально разных групп клеток в лейкограмме африканского сома. Это перераспределение выражалось в незначительном снижении доли лимфоцитов при достоверном увеличении доли сегментоядерных нейтрофилов и моноцитов в пределах физиологической нормы.

Исследование выполнено при поддержке Программы развития Саратовского государственного университета генетики, биотехнологии и инженерии имени Н.И. Вавилова (Приоритет-2030).

Введение

В последнее время аквакультура для своего развития стала активно использовать биологически активные вещества. Проведенные нами исследования показали, что выраженное позитивное влияние на показатели здоровья рыб и экономические показатели аквакультуры оказывают такие биологически активные вещества как адаптогены [1, 2] пробиотики [3], витамины [4] и аминокислоты [5].

На протяжении нескольких лет в своих исследованиях мы изучали адаптоген «Иркутин» (трекрезан) [1, 6]. Этот адаптоген показал хорошие результаты при использовании в рыбоводстве. Наиболее выраженное позитивное влияние «Иркутина» проявлялось в раннем онтогенезе рыб. Адаптоген повышал такие основополагающие показатели, как сохранность личинок в период перехода на экзогенное питание, выживаемость мальков и взрослой рыбы, скорость роста,

выносливость по отношению к неблагоприятным факторам внешней среды, активировал иммунные клетки, снижал уровень каннибализма и стресса.

Высокая оценка результативности использования адаптогенов в рыбоводстве способствовала проявлению интереса к новым веществам со свойствами адаптогенов, и поиск таких веществ является актуальным. Есть основания полагать, что аналогичные свойства могут быть присущи «Цитримину». «Цитримин» – это комплекс трис-(2-гидроксиэтил) амина с бис-(2-метилфенокси-ацетатом) цинка и имеет формулу: $(\text{HOCH}_2\text{CH}_2)_3\text{N}\cdot\text{Zn}(\text{OOCCH}_2\text{OC}_6\text{H}_4\text{CH}_3)_2$.

На сегодня известно, что «Цитримин» является антидотом при алкогольном отравлении [7] и рекомендован к использованию в качестве средства, модулирующего активность кислот

фосфолипазы А1, что позволяет отнести его к классу веществ, способных защитить кровеносные сосуды от возникновения холестериновых бляшек [8].

Исследование спектра физиологической активности «Цитримина» (одного из представителей протатранов) показало, что он обладает свойством повышать работоспособность, является аналогом хлоркрезацина [9] и может рассматриваться как адаптоген.

По данным литературных источников хлоркрезацин вдвое меньшей дозе, чем его аналог - «Цитримин», оказывает выраженное увеличение как статической, так и динамической работоспособности в опытах на животных [7].

Следовательно, хлоркрезацин обладает более выраженной адаптогенной активностью, чем «Цитримин» [9].

В настоящее время во всем мире оказывается государственная поддержка рыбоводству, формируется нормативно-законодательная база, являющаяся важным инструментом в работе отрасли. Повышенное внимание объясняется тем, что рост уловов снижается из-за критического состояния запасов гидробионтов во внутренних водоемах. В связи с истощением диких объектов промысла эксперты предлагают решать эту проблему посредством развития аквакультуры.

В целях повышения эффективности аквакультуры важно наладить тесную связь между наукой и реальным производством.

В настоящее время в России искусственно выращивается 49 видов рыб, в том числе и африканский клариевый сом. Он хорошо приспособлен к высокой плотности посадки, которая может достигать 400 кг/м³.

Этот вид рыб характеризуется деликатесным мясом и относится к продуктам диетического и детского питания, содержащим незаменимые аминокислоты и жирные кислоты.

Африканский сом обладает высокой скоростью роста, вынослив, хорошо адаптируется, стрессоустойчив.

Для оценки физиологического благополучия рыбного поголовья проводят исследования гематологических и биохимических показателей крови, которые оперативно позволяют выявить изменения гомеостаза и гомеокинеза. [10]. Высокую информативность имеет структура лейкограммы. В число лейкоцитарных клеток у сома входят лимфоциты, палочкоядерные и сегментоядерные нейтрофилы, базофилы, моноциты, эозинофилы [11].

Цель работы заключалась в изучении влия-

ния «Цитримина», используемого в качестве адаптогена, на структурные элементы лейкограммы рыб.

Материалы и методы исследований

Исследования выполнялись на факультете ветеринарной медицины и биотехнологии УлГАУ. «Цитримин» для исследований был предоставлен ЦВТ «Инноком» (Иркутск).

Объектом исследований, на котором оценивалось влияние цитримина, являлся африканский клариевый сом половозрелого возраста.

Для проведения эксперимента было сформировано 2 группы рыб: контрольная и опытная. В каждой из групп было по 50 особей. Опытная группа получала с кормами «Цитримин».

Рыба обеих групп получала корма фирмы ЛимКорм. Корма для экспериментальной группы дополнительно орошали раствором «Цитримина» – 0,08 г/кг.

Рыба содержалась в бассейнах объемом 1,9 м³. Для очистки воды использовали испанские фильтры «Гранада».

Кровь для исследований забирали из хвостовой артерии. Кровь сомов имеет свойство быстро сворачиваться, поэтому все инструменты и пробирки требовали обработки гепарином.

В полученных образцах крови определяли содержание лейкоцитов, затем готовили мазки, которые окрашивали по Паппенгейму, и проводили исследование лейкограммы, основываясь на морфологии окрасившихся клеток [12, 13].

Результаты исследований

Исследование содержания лейкоцитов в контрольной и опытной группах сомов, получавших «Цитримин», показало, что достоверной разницы между ними не было выявлено (табл. 1).

Таблица 1

Содержание лейкоцитов у контрольной и опытной групп сомов

Лейкоциты, *10 ⁹ /л	Контрольная	Опытная
	0,9±0,14	1,02±0,16

В лейкоформуле африканского клариевого сома опытной и контрольной групп преобладали лимфоциты. У сомов опытной группы, получавших цитримин, на долю лимфоцитов приходилось 78,20% клеток белой крови. У сомов контрольной группы лимфоцитов было больше – 81,78% (рис. 1). Тенденция снижения доли лимфоцитов на фоне цитримина была кажущейся, т.к. различия были статистически недостоверны.

Показатели палочкоядерных нейтрофилов между опытной группой, получавшей «Цитри-

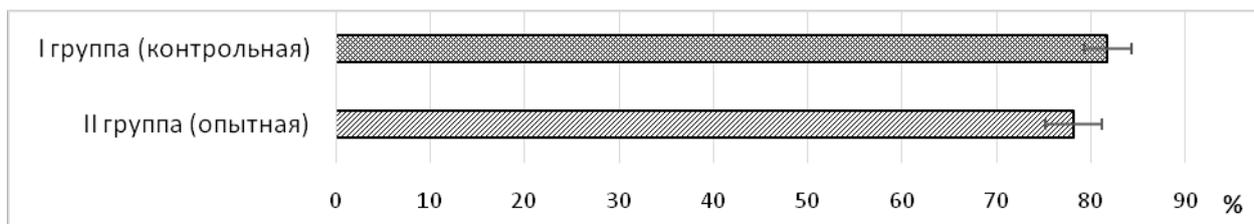
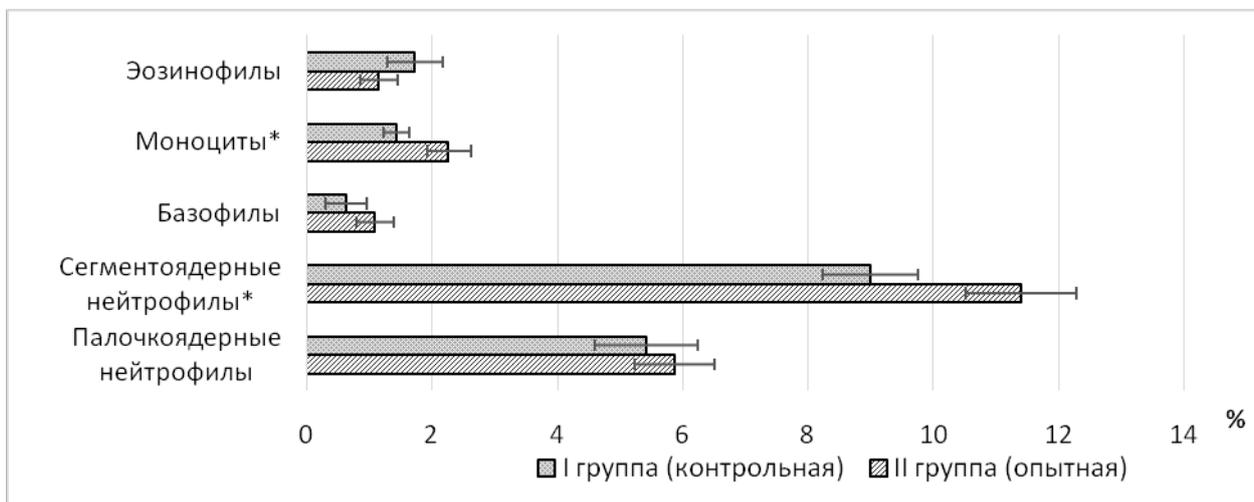


Рис. 1 - Соотношение лимфоцитов у сомов контрольной и опытной групп, %.



* - различия статистически достоверны ($p \leq 0,05$)

Рис. 2 – Лейкоцитарная формула крови клариевых сомов (%) за исключением лимфоцитов (доля лимфоцитов показана на рис. 1).

мин», и контрольной группой достоверных различий не имели. В опытной группе на долю палочкоядерных нейтрофилов приходилось 5,88% клеток белой крови, а в контрольной 5,42% (рис. 2). Их роль заключается в дозревании с последующим превращением в полноценные сегментоядерные нейтрофилы, которые будут демонстрировать свою защитную функцию.

Сегментоядерные нейтрофилы обладают способностью к фагоцитозу, осуществляют бактериальную защиту и дезинтоксикацию. Основной функцией нейтрофилов является иммунная активность против бактерий [14].

Статистически достоверные различия между двумя группами отмечены по содержанию количества сегментоядерных нейтрофилов в лейкоцитарной формуле крови сомов (рис. 2). Доля сегментоядерных нейтрофилов в опытной группе была выше на 8,5% по отношению к контрольной группе. Это дает возможность предположить активацию фагоцитарной активности и дезинтоксикации в организме рыб, получавших «Цитримин».

Эозинофилы также относятся к компонентам системы защиты в организме рыб. У особей контрольной группы их содержание составило 1,73%. Эозинофилы характеризуются лизосомны-

ми включениями, способны к фагоцитозу и окислительному метаболизму [13].

Количество эозинофилов в опытной группе было меньше и составило 1,16%. Однако, различия были статистически не достоверны. Нельзя не отметить, что основная функция эозинофилов у рыб - это борьба с многоклеточными паразитами.

Базофилы - клетки белой крови отвечают за уничтожение токсинов и аллергенов в крови рыб. Базофилы участвуют в реакциях замедленного типа при воспалительных и аллергических процессах [14].

В крови исследуемых рыб доля базофилов в контрольной группе составляла 0,63%, что было меньше по сравнению с опытной группой - 1,09%, однако различия являлись статистически не достоверными.

Следующий структурный компонент лейкограммы – моноциты, они так же, как и нейтрофилы, обладают способностью к фагоцитозу. Моноциты мигрируют в очаги воспаления, трансформируясь в макрофаги [15].

У исследуемых рыб доля моноцитов была больше в опытной группе, получавшей цитримин, она составляла 2,27% по сравнению с контрольной - 1,44%. Различия были статистически

достоверны.

Обсуждение

По данным литературных источников, африканский клариевый сом имеет лейкоцитарную формулу лимфоидного типа, результаты наших исследований хорошо согласуются с этими данными. Лимфоциты обеспечивают специфический иммунитет за счет способности к реализации механизма иммунной памяти.

Полученные нами результаты показали, что на фоне «Цитримина» отмечается тенденция снижения в пределах физиологической нормы доли основных клеток лейкоцитарной формулы африканского сома – лимфоцитов. При этом активируются нейтрофилы и моноциты, обладающие способностью к фагоцитозу и реализующие широкий спектр защитных функций в организме рыб.

На фоне «Цитримина» достоверно возросла доля сегментоядерных нейтрофилов и моноцитов, а также проявлялась тенденция к увеличению доли базофилов. Такое перераспределение функционально неравнозначных клеток свидетельствует в пользу активации отдельных звеньев системы лейкоцитарной защиты.

Сегментоядерные, т.е. зрелые нейтрофилы - основа иммунной системы в лейкоцитарной формуле. Их главная роль – защита от бактерий. При возникновении в организме бактериальной инфекции сегментоядерные нейтрофилы выступают как первые участники иммунного ответа.

Базофилы поглощают токсические вещества, накапливают и выводят гистамин и гепарин. Базофилы способны мигрировать из кровотока в инфицированные ткани, интенсифицировать микроциркуляцию инфицированной зоны, активировать выход других клеток лейкоцитарного ряда через стенку капилляров в зону поражения.

На всем протяжении эксперимента рыба, выращенная с использованием «Цитримина», более активно потребляла корма. Можно предполагать, что у клариевых сомов, получавших к основному рациону «Цитримин», интенсифицировались метаболические процессы. Увеличение доли моноцитов при использовании «Цитримина» может свидетельствовать также об интенсификации процессов устранения продуктов распада клеток из организма.

Заключение

По данным наших исследований на долю лимфоцитов в лейкоцитарной формуле сомов контрольной группы приходилось 81,78%, а

опытной - 78,20%.

Изменение в лейкоцитарной формуле крови проявилось за счет перераспределения клеток в сторону достоверного увеличения доли сегментоядерных нейтрофилов и моноцитов.

Нами было показано, что «Цитримин» способствовал структурным перестройкам в лейкограмме рыб, он активировал фагоцитарно компетентные клетки, достоверно увеличивая долю сегментоядерных нейтрофилов и моноцитов в пределах физиологической нормы. «Цитримин» не оказал достоверного влияния на содержание лейкоцитов в крови рыб и на лимфоцитарное звено лейкограммы.

Можно заключить, что включение в рацион питания рыб «Цитримина» достоверно активизирует фагоцитарное звено системы лейкоцитарной защиты, позитивно влияет на физиологические процессы в организме рыб и успешную адаптацию к факторам среды.

Библиографический список:

1. Шленкина, Т.М. Морфометрические биомаркеры африканского клариевого сома при использовании Иркутина / Т.М. Шленкина, В.В. Романов, И.С. Галушко, Л.Ю. Ракова, Ю.В. Фаткудинова // В сборнике: Наука и инновации: исследование и достижения Сборник статей Международной научно-практической конференции. Под редакцией Б.Н. Герасимова. 2019. С. 69-74.
2. Воронков М.Г., Расулов М.М. Трекрезан – родоначальник нового класса адаптогенов и иммуномодуляторов / М.Г. Воронков, М.М. Расулов // Химико-фармацевтический журнал. 2007. № 1. С. 3–9.
3. Шленкина, Т.М. Влияние пробиотиков на лейкограмму африканского клариевого сома в условиях индустриальной аквакультуры/ Т.М. Шленкина, Е.М. Романова, М.Э. Мухитова// Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. 2018. № 3 (43). С. 222-228.
4. Любомирова В.Н. Влияние витаминов и аминокислот на критические периоды эмбрионального развития африканского клариевого сома. /В.Н. Любомирова, Е.М.Романова, В.В.Романов, Е.В.Спирина, Л.А.Шадыева// Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. 2021. № 3 (55). С. 139-144.
5. Шленкина Т.М. Влияние витаминно - аминокислотного комплекса «чиктоник» на показатели крови рыб / Т.М.Шленкина, Е.М. Романова, Л.А.Шадыева, В.Н.Любомирова // В сбор-

нике: Актуальные вопросы аграрной науки. Материалы Национальной научно-практической конференции. Ульяновск, 2021. С. 266-272.

6. Воронков М.Г. Иммуномодуляторная эффективность трекрезана /Воронков М.Г., Мирскова А.Н., Расулов М.М // Химико-фармацевтический журнал. 2007. № 5. С. 7–11.]

7. Машанов А.В. Морфофункциональные изменения у экспериментальных животных при однократном введении различных доз цинкосо-державшего фармакологического вещества «цитримин» /А.В.Машанов, Г.Г. Юшков, В.В. Бенеманский, М.М. Бун, В.Г. Соболев, М.Г. Воронков, А.Ю. Федорин/ Бюллетень ВСНЦ СО РАМН, 2010, № 5 (75)].

8. М.М. Расулов Полифенолы как стимуляторы биологической активности / М.М. Расулов, И.В. Жигачева, И.А. Кузнецов, В.М. Гукасов, Ю.Л. Рыбаков, Л.Л. Мякинкова / Инноватика и экспертиза, 2021, Выпуск 1 (31), с.19-30.

9. Расулов М.М. Повышение работоспособности / М.М. Расулов, М.К. Нурбеков, П.А. Стороженко // Патент на изобретение RU № 2540476 от 27.03.2014

10. Алиев, А.Б. Анализ современного состояния товарной аквакультуры/ А.Б. Алиев, Б.И.

Шихшабекова, А.Д. Гусейнов, И.В. Мусаева, Е.М. Алиева, А.Р. Шихшабеков// Проблемы развития АПК региона. 2017. Т.3.№3(31). С. 102-106.

11. Пронина, Г. И. Физиолого-иммунологическая оценка культивируемых гидробионтов: карпа, сома обыкновенного, речных раков. Автореф. дисс. ...док. биол. наук. М.: РГАУ МСХА им. К. А. Тимирязева. 2012. 36 с.

12. Иванова, Н.Т. 1982. Атлас клеток крови рыб. М.: Легкая и пищевая промышленность. 184 с.

13. Аджиев Д.Д. Функциональные показатели пойкилотермных гидробионтов из природных и искусственных водных биоценозов / Д.Д. Аджиев, Г.И. Пронина, А.А. Иванов, Н.Ю. Корягина //Сельскохозяйственная биология. 2018. Т. 53. № 2. С. 337-347.

14. Валедская О.М. Лизосомально-катионные белки нейтрофилов крови рыб / О.М. Валедская О.М.// Ветеринария. 2005. № 10. С. 45-46.

15. Иванов А.А Иммунологические и гематологические константы гомеостаза в селекционной работе с карпом/ А.А.Иванов, Г.И.Пронина// Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии. 2012. № 1. С. 174-180.

INFLUENCE OF CYTRIMIN ON LEUKOCYTE FORMULA STRUCTURE OF FISH

Shlenkina T.M., Romanova E.M., Romanov V.V., Shadyeva L.A.

*Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education Ulyanovsk State Agrarian University
432017, Ulyanovsk, Novyi Venets boulevard, 1; tel.: 8(8422)55-23-75; e-mail: t-shlenkina@yandex.ru*

Key words: aquaculture, African sharptooth catfish, Cytrimin, leukocyte formula.

An obvious trend in domestic and foreign aquaculture in recent years is usage of biologically active substances of various mechanisms of action. It was clearly demonstrated that such biologically active substances as adaptogens, probiotics, vitamins, amino acids have a positive effect on the fish organism, increasing economic parameters of the industry. In particular, usage of "Irkutin" adaptogen in early ontogenesis of fish increased survivability of larvae during transition to exogenous nutrition, survivability of the fry, growth rate, endurance and it also reduced the level of cannibalism and stress. Therefore, the search for new substances with the properties of adaptogens for fish farming is of great importance. There is reason to believe that "cytrimin" can become such new substance. "Cytrimin" is a complex of tris-(2-hydroxyethyl) amine with zinc bis-(2-methylphenoxyacetate) and has the formula: $(\text{HOCH}_2\text{CH}_2)_3\text{N} \cdot \text{Zn}(\text{OOCCH}_2\text{OC}_6\text{H}_4\text{CH}_3)_2$. A study of the spectrum of physiological activity of "cytrimin" (one of the representatives of protatrans) showed that it protects blood vessels from formation of cholesterol plaques, it is also an antidote to alcohol and can increase performance, claiming to be an adaptogen. So far, "cytrimin" has not been used in fish farming. The aim of the work was to study the effect of "cytrimin" on parameters of blood system, in particular, on the structure of leukocyte formula of the African sharptooth catfish. It was found that there were no significant changes in the content of the total number of leukocytes in the blood of African catfish in case of "cytrimin" application, however, a redistribution of functionally different groups of cells in the leukogram of the African catfish was revealed. This redistribution was expressed in a slight decrease in the proportion of lymphocytes with a significant increase in the proportion of segmented neutrophils and monocytes within the physiological norm.

Bibliography:

1. Morphometric biomarkers of African catfish in case of Irkutin application / T. M. Shlenkina, V. V. Romanov, I. S. Galushko, L. Yu. Rakova, Yu. V. Fatkudinova // Science and innovation: research and achievements: collection of articles of the International Scientific and Practical Conference / edited by B. N. Gerasimov. - 2019. - P. 69-74.

2. Voronkov, M. G. Trekrezan - the founder of a new class of adaptogens and immunomodulators / M. G. Voronkov, M. M. Rasulov // Chemical and Pharmaceutical Journal. - 2007. - № 1. - P. 3–9.

3. Shlenkina, T. M. Influence of probiotics on the leukogram of African catfish in the conditions of industrial aquaculture / T. M. Shlenkina, E. M. Romanova, M. E. Mukhitova // Vestnik of Ulyanovsk State Agricultural Academy. - 2018. - № 3 (43). - P. 222-228.

4. Effect of vitamins and amino acids on critical periods of embryonic development of the African catfish / V. N. Lubomirova, E. M. Romanova, V. V. Romanov, E. V. Spirina, L. A. Shadyeva // Vestnik of Ulyanovsk State Agricultural Academy. -2021. - № 3(55). - P. 139-144.

5. Influence of the vitamin - amino acid complex "chiktonik" on the blood parameters of fish / T. M. Shlenkina, E. M. Romanova, L. A. Shadyeva, V. N. Lyubomirova // Current issues of the agrarian science: materials of the National Scientific and Practical conferences. - Ulyanovsk, 2021. - P. 266-272.

6. Voronkov, M. G. Immunomodulatory efficiency of trekrezan / M. G. Voronkov, A. N. Mirskova, M. M. Rasulov // Chemical-pharmaceutical journal. - 2007. - № 5. - P. 7–11.

7. Morphofunctional changes of experimental animals in case of a single injection of various doses of "cytrimin" zinc-containing pharmacological substance / A. V. Mashanov, G. G. Yushkov, V. V. Benemanskiy, M. M. Bun, V. G. Sobolev, M. G. Voronkov, A. Yu. Fedorin // Vestnik of East Siberian Scientific Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences. - 2010. - № 5 (75). - P. 185-188.

8. Polyphenols as stimulators of biological activity / M. M. Rasulov, I. V. Zhigacheva, I. A. Kuznetsov, V. M. Gukasov, Yu. L. Rybakov, L. L. Myakinkova //

Innovation and expertise. - 2021. - Issue. 1(31). - P.19-30.

9. Patent № 2540476 Russian Federation. Increase of working efficiency: № 2014111586: Appl. 27.03.2014: publ. 10.02.2015 / Rasulov M. M., Nurbekov M. K., Storozhenko P. A.

10. Analysis of the current state of commercial aquaculture / A. B. Aliev, B. I. Shikhshabekova, A. D. Guseynov, I. V. Musaeva, E. M. Alieva, A. R. Shikhshabekov // *Problems of development of the agro-industrial complex of the region*. - 2017. - V. 3, № 3(31). - P. 102-106.

11. Pronina, G. I. Physiological and immunological assessment of cultivated hydrobionts: carp, common catfish, crayfish: spec. 03.03.01 : abstract of the dissertation for the degree of Doctor of Biological Sciences / Pronina Galina Iozepovna ; Russian State Agrarian University. - Moscow, 2012. - 36 p.

12. Ivanova, N. T. Atlas of fish blood cells / N. T. Ivanova. - Moscow: TCF and food industry, 1982. - 184 p.

13. Functional parameters of poikilothermal hydrobionts from natural and artificial aquatic biocenoses / D. D. Adzhiev, G. I. Pronina, A. A. Ivanov, N. Yu. Koryagina // *Agricultural Biology*. -2018. - V. 53, № 2. - P. 337-347.

14. Valedskaya, O.M. Lysosomal-cationic proteins of fish blood neutrophils / O.M. Valedskaya // *Veterinary science*. - 2005. - № 10. - P. 45-46.

15. Ivanov, A. A. Immunological and hematological constants of homeostasis in breeding work with carp / A. A. Ivanov, G. I. Pronina // *Izvestiya of Timiryazev Agricultural Academy*. - 2012. - № 1. - P. 174-180.