

Литература. 1. Холод, В. М. Клиническая биохимия : учебное пособие : в 2 ч. / В. М. Холод, А. П. Курдеко. – Витебск : УО ВГАВМ, 2005. – Ч. 1. – 188 с. 2. Холод, В. М. Справочник по ветеринарной биохимии / В. М. Холод, Г. Ф. Ермолаев. – Минск : Ураджай, 1988. – 168 с. 3. Методы ветеринарной клинической лабораторной диагностики / под. ред. И. П. Кондрахина. – М. : КолосС, 2004. – 520 с. 4. Холод, В. М. Биохимический мониторинг состояния здоровья крупного рогатого скота / В. М. Холод, Ю. Г. Соболева // Ученые записки учреждение образования «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины» : научно-практический журнал. – Витебск, 2018. – Т. 54, вып. 2. – С. 80–83. 5. Биометрия в животноводстве и ветеринарной медицине : учебно-методическое пособие для аспирантов, соискателей, магистрантов и студентов / В. К. Смуниева [и др.]. – Витебск : УО ВГАВМ, 2006. – 38 с. 6. Рекомендации по клинико-биохимическому контролю состояния здоровья свиней / А. П. Курдеко [и др.]. – Горки : БГСХА, 2013. – 56 с. 7. Холод, В. М. Рекомендации по использованию в диагностике патологии печени гепатоспецифического метаболического профиля сыворотки крови крупного рогатого скота / В. М. Холод, Ю. Г. Соболева. – Витебск : ВГАВМ, 2008. – 31 с. 8. Нормативные требования к показателям обмена веществ у животных при проведении биохимических исследований крови / С. В. Петровский [и др.]. – Витебск : ВГАВМ, 2019. – 68 с. 9. Значение и оценка биохимических исследований в системе лечебно-профилактических мероприятий у крупного рогатого скота / В. М. Холод, Ю. Г. Соболева, В. П. Баран, А. М. Синцерова, И. Ю. Постраш // Ученые записки учреждение образования «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины» : научно-практический журнал. – Витебск, 2019. – Т. 55, вып. 4. – С. 124–129. 10. Роль биохимических исследований в оценке клинического статуса сельскохозяйственных животных / Ю. Г. Соболева, В. М. Холод, В. П. Баран, И. В. Котович, Д. С. Конопот // Веснік Мазыр. Дзярж. Пед. Ун-таімя І.П. Шамякіна. – Мозырь, 2019. – № 1 (53). – С. 50–54.

Поступила в редакцию 26.04.2021.

DOI 10.52368/2078-0109-2021-57-2-178-182
УДК 619: 616-091.83: 639.371.5

ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ЯДЕРНЫХ АНОМАЛИЙ ЭРИТРОЦИТОВ КАРПА ОБЫКНОВЕННОГО (*CYPRINUS CARPIO*)

Шабанов Д.И., Паршин П.А., Жукова В.В., Шабунин Б.В., Михайлов Е.В.

ФГБНУ «Всероссийский научный исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии», г. Воронеж, Российская Федерация

*Кровь рыб является высокочувствительной системой, быстро реагирующей на воздействие токсинов и других стрессовых факторов абиотической и биотической природы. Среди различных патологий крови рыб выделяют образование микроядер и аномалий ядра эритроцитов, которые могут выступать маркерами стабильности генома гидробионтов. Поэтому в данной работе представлен цитогенетический анализ ядерных аномалий эритроцитов карпа обыкновенного. У исследуемых рыб выявлялись эритроциты с микроядрами, с почкующимся и пузырящимся ядром, эритроциты с хвостатым нитевидным и клювовидным ядром, клетки с двулопастным ядром. В крови преобладали такие типы аномалий ядра, как эритроциты с почкующимся и пузырящимся ядром, составляющие $0,16 \pm 0,031$ и $0,28 \pm 0,153$ % соответственно. Средний суммарный уровень патологий ядра эритроцитов у исследуемых карпов составил $0,89 \pm 0,202\%$, что соответствовало показателям здоровых рыб. **Ключевые слова:** карп обыкновенный, *Cyprinus Carpio*, эритроциты, патологии ядра, цитогенетический анализ, рыбоводческие хозяйства.*

CYTOGENETIC ANALYSIS OF NUCLEAR ANOMALIES OF ERITHROCYTES OF COMMON CARP (*CYPRINUS CARPIO*)

Shabanov D.I., Parshin P.A., Zhukova V.V., Shabunin B.V., Mikhailov E.V.

FSBSI «All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy»,
Voronezh, Russian Federation

*Blood of fish is a highly sensitive system that quickly responds to the effects of toxins and other stress factors of abiotic and biotic nature. Among the various pathologies of fish blood the formation of micronuclei and anomalies of the nucleus of erythrocytes are distinguished, which can act as markers of the stability of the genome of aquatic life. Therefore, this work presents a cytogenetic analysis of nuclear abnormalities in erythrocytes of common carp. In fish under investigation, erythrocytes with micronuclei, with a budding and bubbling nucleus, erythrocytes with a caudate filamentous and coracoid nucleus, and cells with a bilobed nucleus were detected. In the blood such types of nucleus anomalies as erythrocytes with a budding and bubbling nucleus prevailed, constituting 0.16 ± 0.031 and $0.28 \pm 0.153\%$, respectively. The average total level of pathologies of the nucleus of erythrocytes in the studied carp was $0.89 \pm 0.202\%$, which corresponded to the parameters of healthy fish. **Keywords:** common carp, *Cyprinus carpio*, erythrocytes, nuclear pathologies, cytogenetic analysis, fish farms.*

Введение. Современные рыбоводческие предприятия в своей хозяйственной деятельности часто выбирают интенсивные технологии выращивания карповых и других рыб, использование которых может быть связано с риском нарушения оптимальных условий содержания аквакультуры

и накоплением в водоемах токсичных соединений, что может быть причиной недополучения рыбами питательных веществ, кислорода и вследствие этого приводить к болезням, дистрофии и гибели гидробионтов [1].

Факторы внешнего воздействия, такие как некачественный корм, транспортировка, плохое качество воды и высокая плотность популяции при первом воздействии могут вызывать значительную стрессовую реакцию у большинства рыб, которая может лишь частично снижаться при хроническом воздействии неблагоприятного фактора или при акклиматизации. Реакция на стресс у рыб аналогична реакции высших позвоночных и связана с быстрым высвобождением катехоламинов с последующим высвобождением кортикостероидов [2].

Кроветворная система рыб обладает выраженной чувствительностью к воздействию на организм различных токсинов. Плазма крови и различные форменные элементы – неотъемлемая часть кровеносной системы. А организация иммунной системы у рыб позволяет ей развивать все формы иммунного ответа, встречающиеся у наземных животных, однако в связи с различием среды обитания у рыб кровеносная система имеет свои особенности [3]. Гематологические нарушения, связанные с эритроцитами рыб, включают полицитемию, анемию, аномальную морфологию, а также ядерные или цитоплазматические включения и аномалии [4]. Представленные патологии могут проявляться при воздействии различных стрессовых факторов абиогенной и биогенной природы [2].

Так, неинфекционные заболевания, проявляющиеся в крови рыб, часто связаны с сельскохозяйственной деятельностью человека или загрязнением окружающей среды. Например, одним из заболеваний, связанных с хозяйственной деятельностью, является микроцитарная нормохромная анемия, которая может быть результатом таких стрессовых факторов окружающей среды, как увеличение плотности популяции [5]. Кроме того, известен «синдром нового резервуара», который возникает из-за неполной нитрификации аммониевых отходов в условиях закрытого или высокоплотного культивирования и может привести к цианозу и гемолитической анемии [4]. Токсикозы аммиака и тяжелых металлов могут вызывать различные формы нерегенеративной анемии и индуцировать цитогенетическую нестабильность [6]. А хроническое воздействие циперметрина – синтетического пиретроидного инсектицида, может вызвать увеличение размеров эритроцитов и их аномальную морфологию, что может приводить к макроцитарной анемии [2]. Нарушения питания, такие как дефицит фолиевой кислоты и витамина Е или токсикоз из-за прогорклых масел и загрязнителей окружающей среды, может способствовать образованию аномальных ядер эритроцитов и эритропластид [2]. Дефицит пищевых витаминов К и В, инозита и холина может вызвать нарушения свертывания крови, приводящие к геморрагической анемии [6]. Содержание карповых рыб при повышенной температуре также может быть причиной повышения уровня цитогенетической нестабильности эритроцитов и изменения других гематологических показателей [7].

Среди стрессовых факторов инфекционной природы можно выделить влияние грамотрицательных бактерий, таких как *Aeromonas spp.* и *Pseudomonas spp.*, которые являются частыми причинами сепсиса и геморрагической анемии у пресноводных рыб [6]. Кроме того, *Aeromonas spp.*, *Pseudomonas spp.* и *Vibrio anguillarum* продуцируют гемолизины и являются наиболее частой причиной гемолитической анемии у рыб [6]. Вирус эритроцитарного некроза вызывает гемолитическую анемию и связан с внутрицитоплазматическими включениями и ядерными изменениями в эритроцитах рыб. Вирус синдрома включения эритроцитарных телец также приводит к внутрицитоплазматическим включениям. Другое вирусное заболевание, ограниченное пресноводными карповыми рыбами, – весенняя виремия карпа – способно вызывать геморрагическую анемию [2].

Ранее неоднократно применялись различные методики использования гематологических показателей для мониторинга экологического состояния водоемов и в качестве показателей адаптации отдельных особей. Гематологические параметры у рыб считаются эффективными маркерами при различных воздействиях токсикантов, загрязнении водной среды, активации иммунной системы [3]. Так, значительным преимуществом исследования различных параметров крови, связанных со стрессовой реакцией, является то, что они могут сохраняться в течение нескольких дней после устранения стрессора [2].

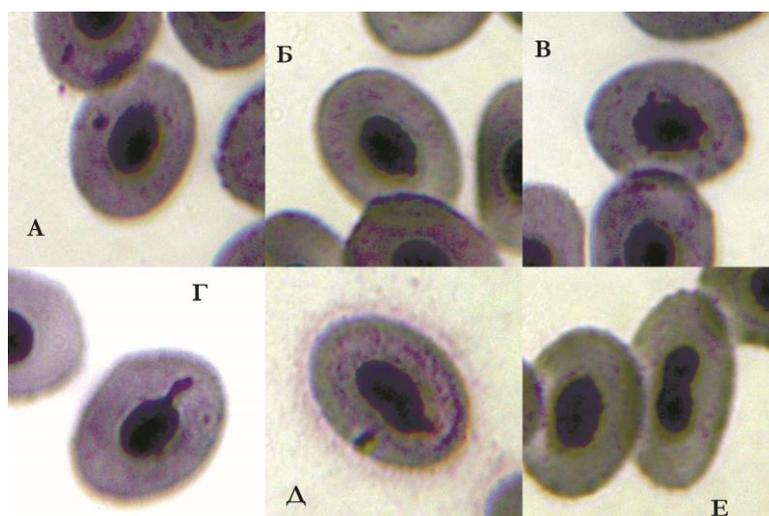
Исследование морфо-физиологических показателей крови, уровня микроядер и патологий ядра у рыб служит эффективным инструментом диагностики стресса, мутагенеза или болезней рыб, поскольку изменения в крови появляются раньше, чем дегенеративные изменения в других органах и тканях [8]. Поэтому нами были изучены цитогенетические характеристики клеток крови исследуемых рыб.

Цель исследования: изучить уровень ядерных аномалий эритроцитов обыкновенного карпа, выращенного в условиях интенсификации производства.

Материалы и методы исследований. В качестве объекта исследования использовали периферическую кровь шести карпов обыкновенных (*Cyprinus Caprio L.*), полученных из прудовых рыбных хозяйств Воронежской области (n=6). Препараты крови изготавливали общепринятым спо-

собом с окраской по Романовскому-Гимзе [9]. Просмотр препаратов проводили с использованием микроскопа БИОСКОП-1 ($\times 1000$). Исследовали не менее 10000 эритроцитов на препарат. В качестве цитогенетических параметров нестабильности генома определяли частоту аномалий ядра. Для определения типов аномалий ядра использовали классификацию Крюкова В.И. [10].

Результаты исследований. При изучении исследуемых рыб нами были обнаружены патологии следующих типов: эритроциты с микроядрами, эритроциты с почкующимся и пузырящимся ядром, эритроциты с хвостатым нитевидным и клювовидным ядром, клетки с двулопастным ядром (рисунок 1). Также нами были выявлены эритроциты с ядром со впадиной, вакуолизированным ядром или ядром, находившимся на стадии кариорексиса. Помимо этого, в исследуемых образцах нами были обнаружены эритроцитарные клетки с двойными ядрами, соединенными мостами.



А – эритроцит с микроядром; Б – эритроцит с почкующимся ядром; В – эритроцит с пузырящимся ядром; Г – эритроцит с хвостатым нитевидным ядром; Д – эритроцит с хвостатым клювовидным ядром; Е – эритроцит с двулопастным ядром

Рисунок 1 – Некоторые типы патологий ядра эритроцитов периферической крови карпа

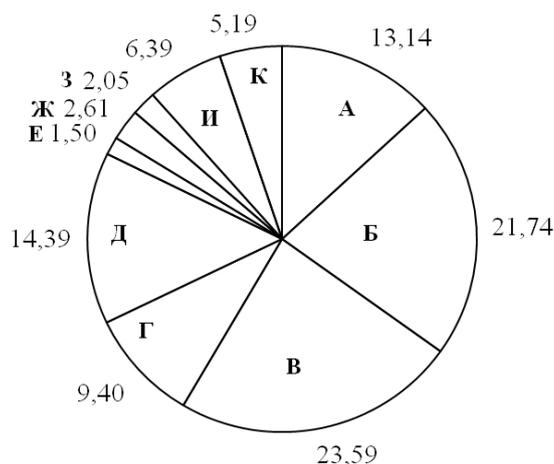
В результате проведенных исследований нами были выявлены частоты патологий ядра эритроцитов периферической крови карпов (таблица). Общая частота аномалий ядра составила $0,89 \pm 0,202\%$. В целом, эритроциты исследуемых рыб характеризовались невысоким уровнем патологии ядра, характерным для здоровых карпов [11, 12].

Таблица – Частота микроядер и аномалий ядра в эритроцитах периферической крови рыб, %

Тип патологии	Значение ($M \pm SE$)	Тип патологии	Значение ($M \pm SE$)
Эритроцит с микро-ядром	$0,08 \pm 0,027$	Эритроцит с дву-лопастным яд-ром	$0,03 \pm 0,005$
Эритроцит с почку-ющимся ядром	$0,16 \pm 0,031$	Эритроцит с яд-ром со впадиной	$0,01 \pm 0,004$
Эритроцит с пузы-рящимся ядром	$0,28 \pm 0,153$	Эритроцит с ва-куолью в ядре	$0,08 \pm 0,043$
Эритроцит с хвоста-тым нитевидным ядром	$0,07 \pm 0,017$	Эритроцит с ка-риорексисом ядра	$0,01 \pm 0,009$
Эритроцит с хвоста-тым клювовидным ядром	$0,08 \pm 0,029$	Эритроцит с со-единенными мо-стом ядрами	$0,08 \pm 0,027$

Примечания: $M \pm SE$ – среднее арифметическое \pm стандартная ошибка.

В спектре патологий преобладали такие типы аномалий ядра, как почкующееся и пузырящееся ядро (21,74 и 23,59% соответственно), возникновение которых относят к чувствительным маркерам хромосомной нестабильности до конца неустановленного происхождения (рисунок 2) [10]. Частота встречаемости данных патологий ядра имела максимальный уровень в эритроцитах исследуемых нами рыб ($0,16 \pm 0,031$ и $0,28 \pm 0,153\%$ соответственно).



А – эритроцит с микроядром; Б – эритроцит с почкующимся ядром; В – эритроцит с пузырящимся ядром; Г – эритроцит с хвостатым нитевидным ядром; Д – эритроцит с хвостатым клювовидным ядром; Е – эритроцит с двулопастным ядром; Ж – эритроцит с ядром со впадиной; З – эритроцит с вакуолью в ядре; И – эритроцит с кариорексисом ядра; К – эритроцит с соединенными мостом ядрами

Рисунок 2 – Спектр патологий ядра эритроцитов карпа, %

Среди других маркеров цитогенетической нестабильности, значительно представленных в спектре патологий ядра исследуемых рыб, наблюдались микроядра (13,14%), частота встречаемости которых в крови составляла $0,08 \pm 0,027\%$, возникающие вследствие невключения хромосом или их частей в ядро клетки, а также нитчатые и клювовидные хвостатые ядра (9,40 и 14,39%), вероятно, образующиеся при разрыве межклеточных мостов (5,19%) при делении клеток [13]. Частота встречаемости данных патологий в крови карпов составляла $0,07 \pm 0,017$, $0,08 \pm 0,029$ и $0,08 \pm 0,027\%$ соответственно. Остальные типы ядерных аномалий были представлены в меньшей степени (от 1,5 до 6,39%). Так, эритроциты с кариорексисом ядра, вакуолью в ядре, с ядром со впадиной и двулопастным ядром встречались в спектре патологий в количестве 6,39; 2,05; 2,61 и 1,50% соответственно. Представленные патологии могут быть в некоторой степени связаны с патологическими состояниями гидробионтов, которые препятствуют удалению селезенкой стареющих или поврежденных эритроцитов из периферического кровообращения [14], а также незначительному уровню гематопозеза в крови карпов [2]. Таким образом, средний уровень патологий ядра эритроцитов исследуемых нами карпов не превышал показателей, характерных для здоровых рыб [11, 12].

Вместе с тем следует отметить, что гематологическая оценка может быть полезна при мониторинге состояния здоровья рыб, если интерпретация учитывает внутренние и внешние факторы, которые могут влиять на внешний вид клеток и полученные количественные значения. При сравнении данных необходимо проявлять осторожность, поскольку многие опубликованные диапазоны значений не учитывают различия, связанные с такими факторами, как возраст, пол, качество воды и время года. Даже сбор, обработка и обезболивание, используемые при взятии образцов крови у рыб, могут иметь сильное влияние на гемограмму [15]. Поэтому данное направление требует дальнейшего изучения.

Заключение. Таким образом, проведенные исследования показывают, что у исследуемых рыб уровень аномалий ядра эритроцитов соответствовал физиологическим показателям, что указывает на цитогенетическую и гемопозитическую стабильность гидробионтов, выращенных в условиях рыбоводческих хозяйств Воронежской области.

Литература. 1. Гаврилин, К. В. Влияние интенсивного прудового рыбоводства на качество воды в открытом природном водоеме / К. В. Гаврилин, А. В. Ридигер, В. Ю. Александров // Символ науки. – 2016. – № 5-3 (17). – С. 50–53. 2. Clauss, M. T. Hematologic disorders of fish / M. T. Clauss, A. D. M. Dove, J. E. Arnold // *Vet. Clin. North. Am. Exot. Anim. Pract.* – 2008. – № 11 (3). – P. 445–462. – doi: 10.1016/j.cvex.2008.03.007. 3. Минеев, А. К. Патологии эритроцитов у рыб Р. Большой черемшан / А. К. Минеев // Экологический сборник 7 : труды молодых ученых : Всероссийская (с международным участием) молодежная научная конференция / Институт экологии Волжского бассейна РАН. – 2019. – № 1. – С. 316–318. 4. Campbell, T. Avian and exotic animal hematology and cytology / T. Campbell, C. Ellis // New York: Wiley-Blackwell. – 2007. – P. 2440. 5. Burton, C. B. Effects of density on goldfish blood. 1. / C. B. Burton, S. A. Murray // *Hematology Comp. Biochem. Physiol.* – 1979. – № 62. – P. 555–558. 6. Groff, J. M. Hematology and clinical chemistry of cyprinid fish / J. M. Groff, J. G. Zinkl // *Vet. Clin. North. Am. Exot. Anim. Pract.* – 1999. – № 2(3). – P. 741–776. 7. Nuclear and Cellular Abnormalities of Erythro-

cytes in Response to Thermal Stress in Common Carp *Cyprinus carpio* / Md. Shahjahan [et al.] // *Front. Physiol.* – 2020. – № 11. – P. 543. – doi: 10.3389/fphys.2020.00543. 8. Studies on the alterations in haematological indices, micronuclei induction and pathological marker enzyme activities in *Channa punctatus* (spotted snakehead) *perciformes, channidae* exposed to thermal power plant effluent / M. Javed [et al.] // *Springerplus.* – 2016. – № 5 (1). – P. 761. – doi: 10.1186/s40064-016-2478-9. 9. Farag, M. R. Erythrocytes as a biological model for screening of xenobiotics toxicity / M. R. Farag, M. Alagawany // *Chem. Biol. Interact.* – 2018. – Vol. 279. – P. 73–83. – doi: 10.1016/j.cbi.2017.11.007. 10. Крюков, В. И. Вариант методики учёта ядерных аномалий в эритроцитах птиц / В. И. Крюков // *Вестник аграрной науки.* – 2020. – № 1 (82). – С. 81–100. – doi: 10.15217/48484. 11. Fipronil (Phenylpyrazole) induces hemato-biochemical, histological and genetic damage at low doses in common carp, *Cyprinus carpio* (Linnaeus, 1758) / A. Ghaffar [et al.] // *Ecotoxicology.* – 2018. – Vol. 27 (9). – P. 1261–1271. – doi: 10.1007/s10646-018-1979-4. 12. Mitkovska, V. Chlorpyrifos levels within permitted limits induce nuclear abnormalities and DNA damage in the erythrocytes of the common carp / V. Mitkovska, T. Chassovnikarova // *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* – 2020. – Vol. 27 (7). – P. 7166–7176. – doi: 10.1007/s11356-019-07408-9. 13. Цитогенетические параметры нестабильности генома птиц в эколого-генетическом мониторинге / М. А. Курса [и др.] // *Проблемы безопасности атомных электростанций и Чернобыля.* – 2005. – № 3 (2). – С. 92–98. 14. Ellis, A. E. Bizarre forms of erythrocytes in a specimen of plaice, *Pleuronectes platessa* L. / A. E. Ellis // *J. Fish. Dis.* – 1984. – № 7. – P. 411–414. 15. Bolasina, S. N. Cortisol and hematological response in Brazilian codling, *Urophycis brasiliensis* (Pisces, Phycidae) subjected to anesthetic treatment / S. N. Bolasina // *Aquac. Int.* – 2006. – № 14. – P. 569–575.

Поступила в редакцию 22.04.2021.

DOI 10.52368/2078-0109-2021-57-2-182-186
УДК 619:616-091.8:098:639.371.5

АРХИТЕКТОНИКА ПОЧЕК КАРПА ОБЫКНОВЕННОГО (*CYPRINUS CARPIO*) ПРИ ВЫРАЩИВАНИИ В УСЛОВИЯХ ИНТЕНСИФИКАЦИИ НА ТЕРРИТОРИИ ВОРОНЕЖСКОЙ ОБЛАСТИ

Шабунин Б.В., Петренко О.В., Степанов Е.М., Пономарева Ю.О., Михайлов Е.В.,
Жукова В.В., Стрельников Н.А., Пархоменко Ю.С., Болотова В.С.

ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии»,
г. Воронеж, Российская Федерация

*В статье проведена морфологическая и структурная оценка почек карпа обыкновенного (*Cyprinus carpio*), выращиваемого в условиях интенсификации на территории Воронежской области. При гистологических исследованиях были выявлены патологические процессы, протекающие в почечных канальцах. Это проявлялось в присутствии вакуольной, зернистой и смешанной дистрофии паренхимы канальцев. Полученные данные свидетельствуют о том, что высокая интенсификация роста рыбы оказывает негативное влияние на выделительную систему, в частности – повреждается почечный эпителий. **Ключевые слова:** карп обыкновенный, *Cyprinus carpio*, Воронежская область, гистологическое исследование, почки, интенсификация рыбоводства.*

ARCHITECTONICS OF KIDNEYS OF COMMON CARP (*CYPRINUS CARPIO*) GROWN UNDER CONDITIONS OF INTENSIFICATION IN THE VORONEZH REGION

Shabunin B.V., Petrenko O.V., Stepanov E.M., Ponomareva Yu.O., Mikhailov E.V.,
Zhukova V.V., Strelnikov N.A., Parkhomenko Yu.S., Bolotova V.S.

FSBSI «All-Russian Scientific Research Veterinary Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy»,
Voronezh, Russian Federation

*The article presents a morphological and structural assessment of the kidneys of common carp (*Cyprinus carpio*) grown under conditions of intensification in the Voronezh region. Histological studies revealed pathological processes occurring in the renal tubules. This was manifested in the presence of vacuole, granular, and mixed dystrophy of the tubule parenchyma. The data obtained indicate that a high growth rate of fish has a negative effect on the excretory system, in particular – the renal epithelium is damaged. **Keywords:** common carp, *Cyprinus carpio*, Voronezh region, histological examination, kidneys, intensification of fish farming.*

Введение. Промышленное рыбоводство имеет очень долгую историю своего развития, длящуюся с древних времен. Основной толчок в популяризации данная отрасль сельского хозяйства приобретает именно в настоящее время, что связано со многими факторами, один из главных - возрастающий спрос на продукцию рыбоводческих предприятий [1].

Промышленное разведение гидробионтов заключается в интегрированной индустриализации данной отрасли хозяйства. Выращивание рыб осуществляется в искусственных водоемах – прудах, комплексных системах с карьерами, переносных бассейнах, где человек участвует в контроле всех процессов и предусмотренных технологических циклов. Одним из подходов индустриального рыбоводства является использование интенсификации роста рыб, посредством кормовых добавок искус-