

УДК: 636/639:576.3.:639.215.2  
DOI 10.52419/issn2072-2419.2022.4.139

## КЛЕТОЧНЫЙ СОСТАВ ПОЧЕК КАРПА ОБЫКНОВЕННОГО ПОСЛЕ ПРИМЕНЕНИЯ ЦЕЛЛОБАКТЕРИНА-Т В УСЛОВИЯХ АНТРОПОГЕННОГО ПРЕССИНГА

Михайлов Е.В., к. вет. н, вед. науч. сотр. (ORCID ID 0000-0001-5457-1325), Болотова В.С., млад. науч. сотр. (ORCID ID 0000-0002-6967-7162), Буторакина Д.М, млад. науч. сотр., Стрельников Н.А., стар. лаборант (ORCID ID 0000-0002-0781-7713), Жукова В.В., аспирант (ORCID ID 0000-0001-9348-462X)  
ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии»

**Ключевые слова:** клеточный состав, цитология, почка, карп обыкновенный, экология, «Целлобактерин-Т».

**Keywords:** cellular composition, cytology, kidney, common carp, ecology, Cellobacterin-T.



### РЕФЕРАТ

В исследовании представлены данные о клеточном составе почек карпа на фоне применения пробиотика «Целлобактерин –Т». Опыт был спланирован и проведён в специализированном рыбоводческом хозяйстве на территории Воронежской области. Для опыта отбирались особи карпа обыкновенного возрастом 1 год и весом в диапазоне 250-300 грамм.

В рамках фонового исследования от рыб (n=5) отбирали почки для проведения цитологических исследований. После этого проводили разделение рыб на 2 группы: Карпы из контрольного (n=8000) и опытного (n=8000) прудов. Контрольный пруд получал основной рацион питания, а в опытном пруду в совокупности с основным рационом применялся пробиотический препарат «Целлобактерин-Т», рассчитанной дозой 2 кг/т корма. Затем проводился контрольный облов, в рамках которого у особей обоих прудов (n=8 из каждого) отбирались почки для цитологических исследований. Они проводились через 14 дней после начала применения пробиотика и через 42 дня после начала (что соответствовало 12 дням после окончания приёма пробиотика).

При фоновом исследовании нами было выявлено угнетение лимфоидного роста переднего отдела почек, воспалительная нейтрофильная реакция, обусловленные влиянием тяжелых металлов, о чем говорит низкое число лимфоцитов (16,5%) и высокое число нейтрофилов и их предшественников (10,5%). На фоне применения «Целлобактерина-Т» наблюдалась активация лимфоцитов, их количество увеличивается в 1,9 раз относительно фонового исследования. Количество нейтрофилов и их предшественников при этом снижается в 3 раза. После отмены препарата результаты опытной группы близки к результатами фонового исследования.

### ВВЕДЕНИЕ

Рыбы, обитающие в искусственных и естественных условиях выращивания, подвергаются воздействию различных по происхождению и природе факторов. Из-

менения экологической обстановки, особенно хроническая интоксикация гидробионтов, могут привести к серьезным физиологическим патологиям в различных системах организма рыб. В связи с

этим крайне необходима оценка современного состояния рыб по биологическим критериям [1]. Выяснение механизмов адаптаций рыб к различным факторам среды, в том числе и антропогенным, является важным аспектом решения одной из проблем экологии – взаимодействия организма и среды [5]. Почки рыб, наряду с печенью и жабрами, являются важнейшими маркерами загрязнения [2,5].

Половозрелые рыбы имеют значимые отличия в строении почек по сравнению с высшими позвоночными животными. Если они имеют компактную тазовую почку (метанефрос), то рыбы располагают более примитивной по строению туловищной почкой (мезонефрос), а у их личинок – пронефрос. Туловищные почки представляют собой парные паренхиматозные органы. Они имеют вид красных лентовидных тяжей и располагаются между позвоночником и плавательным пузырём.

В строении почек у рыб выделяют 3 основных отдела: передний, средний и задний. Передний отдел почки не выполняет выделительные функции. Как и в селезенке, здесь образуются клетки крови и разрушаются переживающие эритроциты. Средний и задний отделы почки обеспечивают осморегуляцию и мочеотделение. Однако у некоторых видов рыб отделы почек могут сливаться воедино [6].

Для более глубокого понимания механизмов устойчивости рыб к инфекционным заболеваниям, изучение почек карпа обыкновенного является важной частью исследований. Полученные данные по клеточному составу могут быть востребованы при разработке селекционных программ по созданию более резистентных к инфекционным заболеваниям пород рыб в аквакультуре [3].

Целью данного исследования являлось изучение клеточного состава в почках карпа обыкновенного при антропогенном прессинге после дачи пробиотика «Целлобактерин-Т».

#### **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Опыт был спланирован и проведён в

специализированном рыбоводческом хозяйстве на территории Воронежской области. В качестве исследуемого животного выступал карп обыкновенный (*Cyprinus carpio*). Все лабораторные исследования были проведены на базе ФГБНУ «ВНИВИПФиТ» (Научно-исследовательский центр (НИЦ), отдел экспериментальной фармакологии). Для опыта отбирались особи карпа обыкновенного возрастом 1 год и весом в диапазоне 250-300 грамм.

В рамках фонового исследования от рыб (n=5) были отобраны почки для цитологического исследования. Затем было разделение на 2 группы: опытный и контрольный пруды. Карпы в контрольном пруде (n=8000) получали основной рацион, а рыба из опытного пруда (n=8000) вдобавок к основному рациону получала пробиотический препарат «Целлобактерин-Т». Рассчитанная доза составляла 2 кг/т корма.

В рамках контрольного облова у рыб из опытного (n=8) и контрольного прудов (n=8) отбирали почки для цитологического исследования через 14 дней после начала применения препарата и через 42 дня после начала приёма (спустя 12 дней после окончания приёма препарата) соответственно.

Препараты цитологии почек окрашивались по Паппенгейму (3 минуты фиксации в фиксаторе-красителе по Май-Грюнвальду, 40 минут выдержки в растворе азур-эозина по Романовскому, заключение в полистирол для возможности дальнейшего исследования. Его проводили с помощью микроскопов марки «Hospitex Diagnostics». Для получения снимков препаратов использовалась встроенная камера с разрешением 5 Мпикс. По итогу проводился подсчёт процентного соотношения клеток. Условными 100% являлись 1000 посчитанных клеток [4].

Статистический анализ полученных данных и достоверность различий осуществляли с помощью прикладных компьютерных программ «Statistica 6.0» (Stat Soft Inc., США) и Microsoft Excel. Резуль-

таты исследований представлены в таблицах и на диаграммах виде средней арифметической величины и стандартной ошибки средней ( $M \pm m$ ). Сравнения двух групп из совокупностей с нормальным распределением проводили с использованием t-критерия Стьюдента. Статистически значимыми считались различия при  $p < 0,05$ .

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ОБСУЖДЕНИЯ

При изучении среды обитания гидробионтов участвующих в эксперименте были проведены химикотоксикологические исследования. Было выявлено повышение предельно допустимой концентрации содержания железа, меди, марганца. Данные металлы могут аккумулироваться в тканях и органах промышленной рыбы. Это может вызвать патологические изменения, у самой рыбы вызывая нарушения гомеостаза, приводить к снижению общей резистентности, а также вызывать гибель гидробионтов.

Как видно из таблицы, при фоновом исследовании мазков-отпечатков почек, выявляли преобладающую группу клеток среди лейкоцитов - моноциты и их предшественники (32,38%). Эритроидномиелоидное соотношение 0,3. Количество эритробластов у опытной группы в последующих заборах не имеет существенных различий, но их в 1,5 раза больше, чем в контрольной группе при втором опыте и в 1,7 раза больше, чем в третьем опыте. Количество зрелых нейтрофилов и их предшественников на 14 день эксперимента - в опытной группе в 2,3 раза больше, чем в контрольной. На 42 день исследования, напротив, их количество увеличивается в опытной группе в 1,4 раза. При этом в финальном исследовании значительно отличается соотношение незрелых и зрелых форм: 4:1 в контрольной группе, 0,21:1. При фоновом исследовании оно составляло 0,72:1. При подсчёте моноцитов на 14 день применения пробиотика наблюдали различие в соотношении незрелых и зрелых моноцитов 1,86:1 в контрольной группе, 0,14:1 в опытной

группе. В финальном исследовании наблюдалась аналогичная тенденция соотношения незрелых и зрелых форм: 6,25:1 в контрольной группе, 0,37 в опытной группе. При фоновом исследовании соотношение незрелых и зрелых нейтрофилов 0,15. Стоит отметить, что цитоплазма в финальном исследовании у моноцитов имеет обильную зернистость [7, 8].

### ВЫВОДЫ

При фоновом исследовании нами было выявлено угнетение лимфоидного ростка переднего отдела почек, воспалительная нейтрофильная реакция, обусловленные влиянием тяжелых металлов, о чем говорит низкое число лимфоцитов (16,5%) и высокое число нейтрофилов и их предшественников (10,5%). На фоне применения «Целлобактерина-Т» наблюдалась активация лимфоцитов, их количество увеличивается в 1,9 раз относительно фонового исследования. Количество нейтрофилов и их предшественников при этом снижается в 3 раза. После отмены препарата результаты опытной группы близки с результатами фонового исследования.

На основе изложенных исследований можем сделать вывод, что пробиотик Целлобактерин-Т, имеющий в своём составе *Bacillus subtilis*, является транзиторным в кишечнике. При этом происходит снижение воспалительной реакции, за счёт вытеснения патогенной микрофлоры, которая могла попасть в организм рыбы на фоне угнетённого иммунитета, который обусловлен влиянием тяжелых металлов.

### CELLULAR COMPOSITION OF THE KIDNEYS OF THE COMMON CARP AFTER THE USE OF CELLOBACTERIN-T UNDER CONDITIONS OF ANTHROPOGENIC PRESSURE

Mikhaylov E.V., Cand. of Vet. Sciences, Principal Scientific Associate (ORCID ID 0000-0001-5457-1325), Bolotova V.S., Junior Scientific Associate (ORCID ID 0000-0002-6967-7162), Butorakina D.M., Junior Scientific Associate, Strelnikov N.A., Senior Laboratory Assistant (ORCID ID 0000-0002-0781-7713), Zhukova V.V.,

Таблица

Процентное соотношение клеток в микропрепаратах почки карпа обыкновенного под влиянием «Целлобактерина-Т».

Фоновое исследование		
Вид клеток	Содержание, %	
Эритробласты	23,2 ±6,42	
Предшественники нейтрофилов	8,4 ±2,82	
Палочкоядерные нейтрофилы	2,1 ±0,79	
Нейтрофилы	14,6 ±2,72	
Предшественники моноцитов	4,4 ±2,01	
Моноциты	27,98 ±7,1	
Лимфоциты	16,5 ±6,93	
Псевдозозинофилы	0,64 ±0,35	
Митозы	0,7 ±0,22	
Через 14 дней после начала применения препарата		
Вид клеток	Контроль, %	Опыт, %
Эритробласты	13,6 ±4,1	20,5 ±1,77
Предшественники нейтрофилов	9,3 ±0,4	3,0 ±3,0
Палочкоядерные нейтрофилы	2,0 ±0,57	0,5 ±0,5
Нейтрофилы	8,1 ±2,25	4,99 ±3,92
Предшественники моноцитов	24,4 ±6,7	4,5 ±2,37
Моноциты	13,1 ±2,3	31,56 ±6,04*
Лимфоциты	24,1 ±4,6	31,71 ±11,91
Псевдозозинофилы	-	2,13 ±2,13
Митозы	1,2 ±0,07	1,03 ±0,04
Через 42 дня после начала применения препарата		
Вид клеток	Контроль, %	Опыт, %
Эритробласты	10,38 ±2,09	17,33 ±8,25
Предшественники нейтрофилов	13,0 ±3,9	1,57 ±0,87
Палочкоядерные нейтрофилы	1,06 ±0,45	2,69 ±2,1
Нейтрофилы	3,18 ±1,1	20,68 ±13,84
Предшественники моноцитов	30,6 ±4,7	10,26 ±4,28
Моноциты	7,45 ±2,0	28,1 ±4,61*
Лимфоциты	37,23 ±5,5	17,61 ±7,05*
Предшественники псевдозозинфилов	-	0,45 ±0,45
Псевдозозинофилы	-	1,49 ±0,75
Предшественники базофилов	-	0,23 ±0,23
Базофилы	-	1,13 ±1,13
Митозы	1,06 ±0,75	1,17 ±0,7

\* $p < 0,05$ 

Postgraduate Student (ORCID ID 0000-0001-9348-462X), FSBSI «All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy»,

Voronezh, Russian Federation  
ABSTRACT

The study presents the data on the cellular composition of the kidneys of the com-

mon carp against the background of the use of the probiotic Cellobacterin-T. The experiment was planned and carried out at a specialized fish farm in Voronezh region. Specimens of the common carp aged 1 year and weighing in the range of 250-300 grams were selected for the experiment.

As part of the baseline study, kidneys were taken from fish (n=5) for cytological studies. After that, the fish were divided into 2 groups: carps from the control (n=8000) and experimental (n=8000) ponds. The fish from the control pond received the main diet, and the fish from the experimental pond received the probiotic drug Cellobacterin-T (with the main diet), calculated at a dose of 2 kg/t of feed. Then a test fishing was carried out, during which kidneys were taken from the specimens of both ponds (n=8 from each) for cytological studies. They were conducted 14 days after the beginning of using the probiotic and 42 days after the beginning (12 days after the end of using the probiotic).

In the baseline study, we revealed inhibition of the lymphoid lineage of the anterior kidney, an inflammatory neutrophilic reaction caused by the effect of heavy metals, as evidenced by a low number of lymphocytes (16.5%) and a high number of neutrophils and their precursors (10.5%). Against the background of the use of Cellobacterin-T, activation of lymphocytes was observed, their number increased by 1.9 times relative to the baseline study. The number of neutrophils and their precursors was reduced by 3 times. After discontinuation of the drug, the results of the experimental group were close to the results of the baseline study.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Абдуллаева н. М., Омаров р. Р. Морфо-функциональная характеристика тканей мышц и почек карповых рыб (cyprinidae), обитающих в естественных и искусственных условиях на территории республики Дагестан // вестник дагестанского научно-го центра РАН. – 2016. – №. 61. – с. 19-22.
2. Лукин А.А., Шарова Ю.Н. Оценка качества вод на основе гистологического анализа // Междун. форум по сохранению местообитаний в Баренцевом регионе. 2005. С.114-116.
3. Микряков В. Р. Реакция иммунной си-

стемы рыб на загрязнение воды токсикантами и закисление среды / В. Р. Микряков, Л. В. Балабанова, Е. А. Заботкина, Т. Б. Лапинова, А. В. Попов, Н. И. Силкина. М.: Наука, 2001. 126 с.

4. Михайлов Е.В. Влияние микотоксина «Дон» на структурную организацию печени карпа обыкновенного / Е.В. Михайлов, Б.В. Шабунин, К.О. Копытина [и др.] // Ученые записки учреждения образования витебская ордена знака почета государственная академия ветеринарной медицины. – 2022. – Т. 58, № 1. – С. 106-109.

5. Назарова Е. А. Последовательность морфо-патологических изменений в почках пресноводных костистых рыб при хронической интоксикации солями кадмия // Токсикологический вестник. – 2010. – №. 4 (103). – С. 46-51.

6. Оношенко, Д. Е. Особенности строения почки карпа / Д. Е. Оношенко ; науч. рук. Ж. Г. Стегней // Иностранные студенты - белорусской науке : материалы III Международной научно-практической конференции иностранных студентов и магистрантов, посвященной 85-летию биотехнологического факультета (г. Витебск, 20 апреля 2018 г.) / Витебская государственная академия ветеринарной медицины. - Витебск : ВГАВМ, 2018. - С. 93.

7. Prichal M. Estimation of genetic parameters of body reserves in one-year common carp (*Cyprinus carpio* L.) / M. Prichal, A. Kause, H. Kocour Kroupová, G. Kumar, D. Gela, V. Piačková, L. Genestout, M. Kocour // Aquaculture Europe 2016. Edinburgh, Scotland. – 2016. «Food for Thought». P. 808

8. Dzafic S. Effects of hyperthermia on erythrocyte parameters of carp *Cyprinus carpio* (Linnaeus, 1758) from Bardaca swamp, Bosnia and Herzegovina / S. Dzafic, A. Bakrac, D. Suljevic, R. Dekic // Asian Journal of Fisheries and Aquatic Research. – 2018. – Vol. 2(4). – P. 1-7. Article no. AJFAR. 47351.

#### REFERENCES

1. Abdullaeva n. M., Omarov r. R. Morpho-functional characteristics of muscle tissues and kidneys of cyprinids (cyprinidae) living in natural and artificial conditions on the

- territory of the Republic of Dagestan [Вестник дагестанского научного центра РАН]. 2016. – No. 61. - p. 19-22 (in Russ.)
2. Lukin A.A., Sharova Yu.N. Assessment of water quality based on histological analysis [Междун. форум по сохранению местобитаний в Баренцевом регионе]. 2005. P.114-116 (in Russ.)
3. Mikryakov V.R., Balabanova L.V., Zabolotkina E.A., Lapirova T.B., Popov A.V., Silikina N.I. Response of the immune system of fish to water pollution with toxicants and acidification of the environment. M.: Nauka, 2001. 126 p. (in Russ.)
4. Mikhaylov E.V., Shabunin B.V., Kopytina K.O. [et al.] Effect of mycotoxin "Don" on the structural organization of the common carp liver [Ученые записки учреждения образования витебская ордена знака почета государственная академия ветеринарной медицины]. 2022. - V. 58, No. 1. - P. 106-109 (in Russ.)
5. Nazarova E.A. The sequence of morphological and pathological changes in the kidneys of freshwater bony fish in case of chronic intoxication with cadmium salts [Токсикологический вестник]. 2010. – No. 4 (103). - P. 46-51 (in Russ.)
6. Onoshenko, D. E. Structural features of the carp kidney / D. E. Onoshenko; scientific supervisor Zh.G. Stegney [Иностранные студенты - белорусской науке: материалы III Международной научно-практической конференции иностранных студентов и магистрантов, посвященной 85-летию биотехнологического факультета (г. Витебск, 20 апреля 2018 г.) / Витебская государственная академия ветеринарной медицины], 2018. - P. 93 (in Russ.)
7. Prichal M. Estimation of genetic parameters of body reserves in one-year common carp (*Cyprinus carpio* L.) / M. Prichal, A. Kause, H. Kocour Kroupová, G. Kumar, D. Gela, V. Piačková, L. Genestout, M. Kocour // *Aquaculture Europe* 2016. Edinburgh. Scotland. – 2016. «Food for Thought». P. 808
8. Dzafic S. Effects of hyperthermia on erythrocyte parameters of carp *Cyprinus carpio* (Linnaeus, 1758) from Bardaca swamp, Bosnia and Herzegovina / S. Dzafic, A. Bakrac, D. Suljevic, R. Dekic // *Asian Journal of Fisheries and Aquatic Research*. – 2018. – Vol. 2(4). – P. 1-7. Article no. AJFAR. 47351.