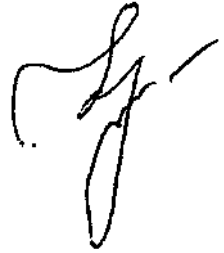


На правах рукописи



КРЮЧКОВ Виктор Николаевич

**Эколого-морфологические особенности патологии и
адаптации органов и тканей рыб
при воздействии токсикантов**

Специальность 03.00.16 - экология

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
доктора биологических наук

Махачкала, 2004

Работа выполнена в Астраханском государственном
техническом университете

Научный консультант: заслуженный деятель науки РФ,
доктор сельскохозяйственных наук,
профессор В.Ф. Зайцев

Официальные оппоненты: доктор биологических наук,
профессор **Д. С Краюшкина**

почетный работник рыбного хозяйства РФ,
доктор биологических наук
А.Ф. Сокольский

заслуженный деятель науки Республики
Дагестан, доктор биологических наук,
профессор М.М. Шихшабеков

Ведущая организация: Калмыцкий государственный университет

Защита состоится 30 июня 2004 г. в 14 часов на заседании диссертационного совета Д 212.053.03 по присуждению ученой степени доктора наук при Дагестанском государственном университете по адресу: 367025, г. Махачкала, ул. Дахадаева, 21.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института прикладной экологии

Автореферат разослан 28 мая 2004 г.

Ученый секретарь
Диссертационного Совета
к.б.н., доцент



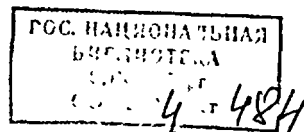
А.Л. Теймуров

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность работы. Проблема изучения влияния на живые организмы вредных факторов окружающей среды приобрела в последние годы универсальное биологическое значение, при этом большое внимание уделяется токсикологическим исследованиям. В настоящее время приоритеты исследований по проблеме влияния загрязнения водоемов на гидробионтов меняются. В связи с проводимыми природоохранными мероприятиями и современным падением промышленного производства острые экзотоксикозы водных животных стали относительно редкими. Вместе с тем, в водоемах, в частности, в р. Волге и в Каспийском море, постоянно присутствуют загрязняющие вещества в концентрациях, зачастую превышающие предельно допустимые (Хорошко и др., 1989; Андреев и др., 1990; Кукса, 1994).

В экологической токсикологии патоморфологические изменения внутренних органов рыб являются одним из объективных критериев токсичности, чему посвящено большое количество исследований (Кондратенко, Щербин, 1991; Корниенко и др., 1996; Ткачева, Рыжков, 1997; Федорова и др., 1999 и др.). Авторы этих и других работ убедительно показали значение изменений в микроструктуре органов и тканей рыб для оценки степени токсичности среды для рыб. Вместе с тем, многие принципиальные вопросы, такие, как значение выявляемых изменений для функции органа или для устойчивости всего организма рыб зачастую еще остаются вне поля зрения исследователей. Мало изучены вопросы единства структуры и функции органов, единства процессов деструкции и восстановления (Саркисов, 1988). Требуют дальнейшего обобщения огромные по объему фактические данные по патологии органов и тканей рыб с целью возможности сравнения результатов, полученных разными исследователями.

Для нормального функционирования организма необходим высокий уровень резистентности к неблагоприятным условиям среды. В этой связи необходимо отметить, что устойчивость животных к действию многих био-



логических, химических и физических факторов обусловлена деятельностью иммунной и других гомеостатических систем. Оценка иммунофизиологического статуса животных получила широкое распространение при диагностике заболеваний, установлении физиологической опасности техногенных воздействий, изучении общей адаптационной реакции организма в условиях интенсификации животноводства (Коромыслов, 1988; Федоров, 1990 и др.). Принципы данного подхода с успехом реализованы для системного анализа иммунофизиологической реактивности рыб в условиях аквакультуры (Вихман, 1996). Несомненно, что эти или подобные методы могут быть применены и в практике эколого-токсикологических исследований.

Как известно, зачастую суждение о негативном воздействии на организм экстремальных факторов среды, в том числе и токсикантов, основывается на самом факте выявления изменения исследуемого показателя. При этом, как правило, не всегда учитывается, какое значение для организма имеет наблюдаемое изменение биологической функции (Флеров, 1989). Кроме того, необходимо сопоставление изменений с биологической нормой, что по ряду причин тоже не всегда оказывается возможным (Трахтенберг и ДР-, 1991).

Целью исследований явилось выявление современных морфологических и функциональных признаков патологии и адаптации у рыб, а также оценка общей резистентности при патологических изменениях в организме рыб, вызванных действием токсикантов, находящихся в воде.

Для достижения поставленной цели решались следующие задачи:

1. Установить уровень кумуляции некоторых тяжелых металлов и хлорорганических пестицидов в органах и тканях рыб.
2. Оценить основные патологические изменения в печени и экскреторных отделах почек некоторых видов рыб дельты Волги и Каспийского моря, возникающих в современных условиях внешней среды, а

также изучить частоту распространения основных морфологических нарушений в печени рыб.

3. Изучить механизмы патологии и адаптации печени рыб к воздействиям токсических веществ на тканевом, клеточном и субклеточном уровнях, а также определить экспериментальными методами функциональное значение адаптивных и репаративных процессов в печени рыб после интоксикаций.
4. Исследовать механизм нефротоксичности некоторых ксенобиотиков, а также определить роль иммунных процессов в развитии патологии экскреторных отделов почек рыб. Изучить толерантность карповых рыб к кадмию как к одному из важных экотоксикантов.
5. Изучить направленность и характер морфофункциональных нарушений периферической крови рыб при хронических токсикозах.
6. Оценить влияние на иммунофизиологический статус рыб токсикологических стресс-факторов и выявить характер и направленность изменений общей резистентности рыб.

Научная новизна работы

Впервые проведено обобщение патоморфологических изменений в жизненно важных органах осетровых и карповых рыб в современных экологических условиях Нижней Волги и Каспийского моря, а также приводятся сведения о распространении основных видов патологии печени у осетровых видов рыб, возникающих под действием внешних факторов. Впервые на тканевом, клеточном и субклеточном уровнях описаны как патологические, так и репаративные процессы в печени и в экскреторных отделах почек при действии на них различных токсикантов. Показано, что патология печени при некоторых токсикозах характеризуется функциональным напряжением гепатоцитов, вследствие чего происходит разрушение их органелл. Адаптивные процессы в печени происходят в виде внутриклеточной гиперплазии

и регенерации ультраструктур, функционально связанных с синтезом белка. На основании морфофункционального анализа показано, что состояние печени у рыб оценивается как компенсированная патология.

Впервые исследован один из основных механизмов хронического токсического действия кадмия на рыб, в связи с чем изучена роль иммунных процессов при развитии морфологических и функциональных нарушений в экскреторных отделах почек карповых рыб. Выявлен дозозависимый эффект развития гломерулярных изменений почек рыб при накоплении в них кадмия.

Описан процесс отторжения первичного чешуйного аллотрансплантата у рыб, показана возможность использования данного показателя для оценки иммунной реактивности рыб при токсикозах.

Выявлена связь патоморфологических нарушений в паренхиматозных органах рыб с некоторыми показателями неспецифической резистентности, изменения которых приводят к развитию состояния, характеризующимся иммунодефицитом. Доказана возможность неспецифического проявления экзотоксикозов в виде сопутствующей инфекции.

Практическое значение работы состоит в систематизации основных форм патологии печени и экскреторных отделов почек рыб, развивающихся под влиянием современных экологических условий. Предложен комплекс морфофизиологических методов, позволяющих оценить степень развития адаптивных и патологических реакций организма рыб, который применим при проведении мониторинговых токсикологических исследованиях популяций рыб в естественных ареалах. Материалы исследования используются в преподавании курсов «Прикладная экология», «Экологическая токсикология», «Цитология», «Гистология» в институте биологии и природопользования Астраханского государственного технического университета.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Накопление из окружающей среды некоторых тяжелых металлов и хлорорганических пестицидов в органах и тканях рыб зависит от функциональных свойств тканей. Уровень накопления указанных токсикантов в современных экологических условиях не оказывает непосредственного влияния на характер и степень развития изменений во внутренних органах рыб. Исключение составляет кадмий, для которого выявлен критический уровень накопления в экскреторных отделах почек рыб, что приводит к развитию почечной патологии.
2. Действие различных по своей природе поллютантов (нефть, кадмий) приводит к развитию схожих изменений в печени, т.е. их действие на тканевом и клеточном уровнях неспецифично. Основным механизмом развития патологии печени рыб при действии изученных токсических веществ является функциональное перенапряжение гепатоцитов, приводящее к появлению морфологически измененных структур клетки. Морфологическим субстратом функциональных резервных возможностей печени является гипертрофия и гиперплазия внутриклеточных органелл гепатоцита.
3. Кадмий играет важную роль при возникновении изменений в экскреторных отделах почек рыб даже при относительно небольших его концентрациях в воде. Иммунным процессам принадлежит ведущая роль в развитии гломерулярных форм почечной патологии у рыб.
4. На фоне патологических изменений в жизненно важных органах рыб при действии токсикантов развивается состояние, характеризующееся лейкопенией и функциональной недостаточностью иммунной системы. Торможение реакции отторжения первичного аллотрансплантата и снижение толерантности к условно-патогенной микрофлоре рассматривается как неспецифическое проявление хронического токсикоза.

Апробация работы. Материалы диссертации были доложены и обсуждены на Первом российско-американский симпозиуме «Аквакультура и здоровье рыб» (Москва, 1998), Первом конгрессе ихтиологов России (Астрахань, 1977), на Международном Форуме по проблемам науки, техники и образования (Москва, 1998), Юбилейной научной конференции, посвященной 80-летию Астраханского заповедника (Астрахань, 1999), Девятой Международной конференции «Diseases of Fish and Shellfish» (Родос, 1999), V Всероссийской конференции ' «Нейроэндокринология-2000» (С-Петербург, 2000), Международной конференции «Островые на рубеже 21 века» (Астрахань, 2000), Симпозиуме, посвященном 100-летию со дня рождения проф. Н.Л. Гербильского (С-Петербург, 2000), X Международном симпозиуме «Эколого-физиологические проблемы адаптации» (Москва, 2001), ежегодных конференциях профессорско-преподавательского состава Астраханского государственного технического университета.

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 48 работ.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, литературного обзора, материалов и методов исследования, результатов собственных исследований, изложенных в трех главах, заключения и выводов. Материал изложен на 266 страницах, имеет 62 рисунка и 41 таблицу. Список использованной литературы содержит 257 наименований.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Работа выполнена на кафедре гидробиологии и общей экологии Астраханского государственного технического университета.

Основу работы составляют многолетние данные, собранные с 1989 года на водоемах дельты Волги и Северного Каспия и на рыбоводных хозяйствах Астраханской области. Неотъемлемую часть составляют результаты экспериментальных работ в аквариальных условиях.

В качестве объекта исследования были использованы карп (беспородный чешуйчатый) *Cyprinus carpio* (L.), карась *Carassius auratus gibelio* (Bloch.), русский осетр *Acipenser guldenstadti* Brand. Кроме того, для патогистологического анализа использовались органы и ткани севрюги *Acipenser stellatus*, белуги *Huso huso* (L.), белого амура *Stenopharingodon idella* (Val.), бычка-кругляка *Neogobius melanostomus* (Pall.).

В работе использовался комплекс методов.

1. Химические: для определения уровня накопления токсикантов в органах и тканях рыб.
2. Иммунологические и биохимические: для изучения иммуноглобулинов и циркулирующих иммунных комплексов, фагоцитарной активности, активности лизоцима, содержания естественных антител и др.
3. Гистологические: классические гистологические, морфометрические методы, электронно-микроскопические.
4. Экспериментальные методы с использованием различных токсикантов (тяжелые металлы, нефть).

Химический анализ

Изучение кумуляции металлов в органах и тканях карпа проводилось методом атомно-абсорбционной спектофотометрии (Прайс, 1976) на спектрофотометре «Hitachi» модели AA-S 180-50.

Анализ хлорорганических пестицидов (ХОП) выполнен на газовом хроматографе «Янако» с детектором по захвату электронов. Колонка стеклянная, длина 1,0 м, диаметр 3 мм. Неподвижная фаза - метил-силикон SE-30 (5%). Температурный режим: испарителя - 220⁰С, колонки - 190⁰С. Скорость газа-носителя (азот о.с.ч.) - 30 мл/мин.

Патоморфологический анализ

Гистологические препараты тканей рыб приготавливали по общепринятым методикам: фиксация в растворе Буэна, проводка через спирты возрастающей крепости, заливка в парафин-целлоидиновые блоки, окраска гема-

токсилин-эозином, кислым фуксином с докраской по Маллори (Ромейс, 1953). Анализ и фотографирование микропрепаратов осуществлялись на микроскопе «Olympus BH-2».

Для ультрамикроскопического исследования использовались ткани печени и экскреторного отдела почек. Материал фиксировался и обрабатывался по общепринятым методикам: фиксация в глютаровом альдегиде на фосфатном или кокодилатовом буфере (**pH 7,3**), дофиксация в 1% растворе осмия тетроксидом на том же буфере, проводка через этанол возрастающей концентрации, заключение в аралдит. Срезы изготавливались на ультратоме типа ЛКБ и анализировались под электронным микроскопом JEM 100CX.

Биохимический анализ и иммунологический анализ

Концентрация иммуноглобулинов в сыворотке крови определялась по реакции с раствором - сульфата цинка с измерением оптической плотности растворов - и пересчетом единиц оптической плотности в **г%** (Воловенко, 1975).

Содержание циркулирующих иммунных комплексов изучали осаждением **2,5%** раствором полиэтиленгликоля (ПЭГ-600) (Методы..., 1985).

Лизосомально-катионный тест проводили по методике, предложенной Пигаревским (1981), которая основана на применении красителей прочного зеленого и азура А: Подсчет среднего цветного коэффициента осуществлялся по схеме, разработанной для крупного рогатого скота (Макаревич, 1988).

Фагоцитарную активность нейтрофилов определяли общепринятым способом (Козлюк и др., 1987; Лукьяненко, 1989). В качестве корпускулярного антигена брали раствор китайской туши в физиологическом растворе, а также золотистый стафилококк. Параллельно определяли фагоцитарный индекс.

Бактерицидную активность сыворотки крови находили по методике А. С. Козлюк с соавторами (1987), использовали стандартные разведения

лиофилизированной культуры кишечной палочки штамма М-17 (колибак-терин) (Мальцев, Насонова, 1989).

Для определения гетерогемагглютининов применяли микрэтитратор Такачи. Эритроциты группы В (III) человека и беспородных кроликов фиксировали общепринятыми методами (Никитин, 1977; Мусселиус и др., 1983). Результаты оценивали по системе четырех крестов (Никитин, 1977).

Лизоцим в экстрактах органов и тканей и сыворотке крови определяли диффузно-гелевым методом с помощью серийных разведений (Генералова, Ситнова, 1994).

Для оценки иммунной реактивности применялась реакция отторжения первичного чешуйного аллотрансплантата. Течение реакции отторжения оценивали по следующим параметрам: по количеству хроматофоров в эпидермисе чешуи (Hildeman, 1957), по длительности воспалительной реакции вокруг аллотрансплантата, по времени выживания аллотрансплантата.

Оценку антигенных свойств белков почек рыб оценивали следующим способом. Антитела к почечным белкам рыб как контрольных, так и подвергшихся отравлению кадмием, получали путем иммунизации мышей. Предварительно готовили экстракт тканей почек рыб по обычной схеме (Антитела..., 1991). Иммунизацию мышей проводили однократно, антиген вводили одновременно внутримышечно и подкожно с неполным адьювантом Фрейнда. Кровь у мышей отбирали на 10 сутки после иммунизации.

Выявление антител к «нормальным» и к «измененным» почкам проводили с помощью реакции коаггутинации. Предварительно готовился диагностикум. Стабилизированные *Staphylococcus aureus* штамм Cowan 1 в количестве 1,0 мл 10%-ной взвеси смешивали с иммунной сывороткой. Взвесь с сорбированными антигенами отмывали фосфатным буфером (**pH=7,2**) от несвязавшихся иммуноглобулинов. Готовили два вида диагностикумов: 1 - содержащий антитела к нормальным, неповрежденным тканям почек рыб (А); 2 — содержащий антитела к неповрежденным тканям почек и к тканям

почек, поврежденных кадмием (В). Белковый антиген, содержащий нормальные и поврежденные кадмием белки, истощали диагноститумом «А» для получения раствора антигена, содержащего только белки, измененные кадмием.

Изучение гематологических показателей проводилось по методикам, рекомендованным Н.Т. Ивановой (1983).

Были проведены эксперименты по заражению карпов, подвергнутых воздействию иона меди, условно-патогенной *Pseudomonas fluorescens*. Суточную культуру, выращенную на мясо-пептонном агаре, смывали физиологическим раствором хлорида натрия и доводили до концентрации 750-850 млн. микробных тел по оптическому стандарту мутности. Приготовленную взвесь внутрибрюшинно вводили карпам по 0,5 мл.

Для изучения функции почек рыб (карпа) отбиралась в течение суток выделяемая моча при помощи приспособления оригинальной конструкции, минимально травмирующего рыбу. В моче определялись общий белок, осадок, наличие клеток крови. Осмоляльность мочи определяли криоскопическим методом на осмометре «ОМКА-Щ». В качестве стандарта применяли раствор NaCl концентрацией 400 ммоль/кгH₂O.

Регенерационную способность печени изучали как после токсического поражения, так и после частичной гепатэктомии. У карпов массой 40-45г удаляли в среднем 25% (максимально до 1/3) объема печени. После частичной гепатэктомии разрез зашивали, рану обрабатывали антисептиком, швы снимали через неделю. Периодически осуществлялся отбор проб и снятие показателей. Оценка изменений в структуре печени проводилась на уровне световой микроскопии с использованием общепринятых гистологических методик и электронной микроскопии. Изменение функции печени регистрировалась с помощью пробы на билирубин.

Экспериментальные работы проведены в аквариальных условиях на базе лаборатории кафедры гидробиологии и общей экологии АГТУ. Подопыт-

ных рыбу содержали в аквариумах емкостью от 50 до 100 литров. В качестве токсикантов использовали медь в концентрации 0,02-0,5 мгCu²⁺/л, кадмий в концентрациях 0,2-0,25 мгCd²⁺/л, ртуть в концентрациях 0,02-0,2 мгHg²⁺/л, нефть в концентрациях 0,1-1,0 мг/л. В контроле использовали чистую воду.

Всего было проведено 540 определений содержания тяжелых металлов, 320 определений содержания ХОП, проанализировано более 450 гистологических препаратов, выполнено более 1000 различных определений иммунофизиологических показателей

Результаты анализов обработаны с применением общепринятых методов статистики (Лакин, 1973).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

1. Накопление некоторых экзотоксикантов в органах и тканях рыб

Кумуляция в органах и тканях рыб тяжелых металлов и хлорорганических пестицидов (ХОП) рассмотрена на примере карпа в возрасте 3-4 лет.

Тяжелые металлы, многие из которых в адекватных количествах являются необходимыми для нормальной жизнедеятельности организма рыб микроэлементами, широко распространены в окружающей среде. В наиболее высоких концентрациях в органах и тканях карпа содержатся железо и цинк. На первом месте по накоплению железа находится селезенка, при этом минимальное значение накопления железа в этом органе было 322,2 мг/кг, а максимальное - 974,7 мг/кг. Далее по содержанию железа следуют туловищная почка, жабры, кишечник, головная почка, мышцы, что согласуется с литературными данными (Воробьев, 1979). Цинк в организме рыб по количеству уступает лишь железу, а иногда и превосходя его по уровню накопления в отдельных органах и тканях. Этот металл в основном концентрируется в головной и туловищной почках и селезенке (соответственно 1168,4, 490,0, и 1412,9 мг/кг). Рядом исследователей (Алабастер, Ллойд, 1984) отмечается, что цинк в основном концентрируется в жабрах и слизи непосредственно из воды. Максимально выявленные

средственно из воды. Максимально выявленные концентрации цинка в жабрах были достаточно высоки - до 425,7 мг/кг.

Медь активно депонируется печенью (до 69,1 мг/кг), поскольку этот элемент является компонентом ряда ферментов, связанных с окислительно-восстановительными процессами. На единицу массы почки и селезенки меди приходится в 7-10 раз меньше.

Марганец и никель максимально накапливаются в жабрах, в среднем соответственно 9,7 и 5,5 мг/кг. Преобладание марганца и никеля в жабрах связано, по-видимому, с тем, что жабры играют основную роль в проникновении этих металлов в организм. Ранее была показана прямая зависимость содержания марганца и никеля в жабрах от величины их концентрации в водной среде (Крючков и др., 1989).

Отмечается преобладание кадмия в экскреторных отделах почек и в жабрах. Была обнаружена прямая связь между кумуляцией кадмия в почках и развитием в органе патологических изменений. При накоплении кадмия в туловишной почке от 0,8 до 1,0 мг/кг отмечались тубулярные и интерстициальные изменения. При повышении содержания кадмия в почках свыше 1,0 мг/кг развивались симптомы как тубулярных, так и гломерулярных поражений.

Проведенное в настоящей работе сопоставление не дало прямых зависимостей между степенью патологии внутренних органов и уровнем накопления в них тяжелых металлов. Вместе с тем, у рыб, в тканях которых обнаружены отклонения от «нормального» соотношения концентраций металлов, внутренние органы характеризовались значительными, по сравнению с другими, патогистологическими изменениями.

Хлорорганические пестициды были обнаружены во всех исследованных тканях карпа, но наиболее высокий уровень их накопления отмечен в печени (**71,83±17,49 мкг/кг**) и в туловишной почке (**31,83±6,05 мкг/кг**). Высокие концентрации ХОП в печени обусловлены большим содержанием в

ней жиров, хорошо растворяющих хлорорганические соединения и активной детоксикационной функцией органа. Значительное содержание ХОП в туловищной почке связано с ее функцией выведения из организма продуктов метаболизма и ксенобиотиков. Наличие пестицидов в крови карпа указывает на активное вовлечение их в процессы метаболизма

2. Патолого-морфологический анализ состояния некоторых органов и тканей рыб

2.1. Морфологическая характеристика печени некоторых видов рыб дельты Волги и Северного Каспия

В данном разделе приводятся сведения об особенностях строения печени различных видов осетровых (осетр, белуга, севрюга) и карповых (карп, карась) видов рыб в современных экологических условиях. Экологогистологическое исследование показало, что реакции печени рыб во многом стереотипны и часто не зависят от особенностей воздействия. Частота распространения основных изменений печени осетровых видов рыб по данным 1998–2001 гг. представлена в таблице 1.

Таблица 1

Основные формы патологии печени осетровых видов рыб, %

Вид изменений	Осетр	Белуга	Севрюга
Нарушения микроциркуляции	39,6	50,5	67,8
Геморрагии, плазморрагии	33,5	28,7	17,6
Дистрофии	59,5	72,0	67,0
Некротические изменения	13,0	22,6	17,8
Разрастание соединительной ткани	26,0	50,0	40,1
Нарушения обмена пигментов	41,0	10,0	50,8

Наиболее типичными были различные формы дистрофии, так, например, у белуги 72% проанализированных особей имели в печени дистрофически измененные гепатоциты, несколько меньше этот показатель был у севрюги (67%). В основном встречались вакуольная и жировая дистрофии.

Частота распространения некротических изменений колебалась от 13% у осетра до 22,6% у белуги. Следует обратить внимание на нарушение пигментного обмена, что проявлялось в накоплении гранул пигментов в паренхиме органа. Подобного рода процессы имеют место при хронических интоксикациях (Уолке и др., 1985).

В целом спектр изменений печени рыб был таков: компенсаторно-приспособительные реакции тканей; воспалительные процессы; нарушения микроциркуляции крови; дистрофические и некробиотические изменения; деструкция паренхимы.

Ранние коменсаторно-приспособительные изменения гепатоцитов начинаются с их гиперфункции (Руководство..., 2001), внешним проявлением которой может быть гипертрофия клеток. Гипертрофия гепатоцитов рыб проявлялась, прежде всего, в увеличении их размеров, размера ядра, увеличением количества ядрышек.

Расстройства микроциркуляции зачастую бывают первыми признаками патологических процессов в печени. В печени рыб было обнаружено венозное полнокровие, стазы, кровоизлияния и плазморрагии.

В условиях патологии функции печени нарушаются, а морфологическим признаком этих нарушений часто служат дистрофии. В печени дистрофические изменения захватывают, как правило, только паренхиматозные структуры (Серов, Пауков, 1975), это подтверждается также исследованиями на рыбах. Наиболее часто в патологии печени рыб выявлялась зернистая, гидропическая и жировая дистрофия гепатоцитов. При зернистой дистрофии размеры гепатоцитов были увеличены, они выглядели набухшими. Ядро при этом было не изменено. При гидропической дистрофии гепатоциты были увеличены в объеме, у них отмечалась прозрачная цитоплазма, были четко выражены контуры мембраны. Остатки слабозернистой цитоплазмы располагаются вокруг ядер или вдоль клеточных мембран. При электронной микроскопии наблюдалась вакуолизация митохондрий и эндоплазматического

ретикулума, однако разрушения мембран клетки не происходило. Также при гидропической дистрофии отмечались фрагментация мембран и расширение канальцев эндоплазматической сети, большое количество вакуолей, образующихся, по-видимому, из расширенных цистерн ретикулума. Сам ретикулум сохранился в основном возле ядра и вокруг митохондрий.

При жировой дистрофии в цитоплазме гепатоцитов были видны светлые неокрашенные вакуоли различной величины. Мелкие вакуоли могут сливаться, образуя более крупные, а затем и одну большую вакуоль, которая занимала всю цитоплазму и смещала ядро к периферии клетки. Цитоплазма таких клеток представляла собой узкий базофильный ободок около плазматической мембраны. Зачастую ядра исчезали, и образовывались обширные участки паренхимы с безъядерными клетками. Жировые вакуоли нескольких клеток или, возможно сами клетки при слиянии образовывали жировые кисты. При продолжительном действии негативных факторов дистрофические изменения заканчивались некрозом.

2.2. Морфология печени рыб при экспериментальных токсикозах

Результаты работ показали, что действие различных по своей природе токсикантов (кадмий, ртуть, нефть) приводило к развитию схожих изменений в печени рыб. В качестве примера может быть рассмотрена печень карпа после 30-суточного действия кадмия в концентрации 0,25 мг/л. Отмечались отеки, множественные очаговые и массивные кровоизлияния. Были выражены явления нарушения циркуляции крови: многие сосуды были расширены, наблюдались стаз, отечность тканей. Дистрофические и некротические изменения охватывали до 30% ткани печени. В среднем, число гепатоцитов с пикнотическими ядрами было 6,47%, достигая у отдельных экземпляров 20-30% и более. У части рыб в печени наблюдалась масса безъядерных клеток, до 50% в поле зрения. В целом можно отметить, что в печени карпа под воздействием кадмия развивались как адаптивные реакции (расширение сосудов), так и патологические процессы (развивались токсич-

ческая дистрофия или прогрессирующий некроз). Отмечалась воспалительная альтеративно-экссудативная реакция. Некротизированные участки располагались преимущественно на периферии органа и вдоль сосудов, в сохранившихся рядом клетках наблюдались дегенеративные изменения.

В цитоплазме выявлялись изменения митохондрий, эндоплазматического ретикулума, образование вакуолей. Часть митохондрий подвергалась деструкции: отмечалось уменьшение количества и даже полное исчезновение крист, митохондрии ошаривались, матрикс становился более плотным. Наблюдалось появление в матриксе исчерченных фибрилл. Подобные изменения в ультраструктуре митохондрий приводят к уменьшению образования АТФ, снижению окислительного фосфорилирования (Серов, Пауков, 1975).

Эндоплазматический ретикулум подвергался более выраженным изменениям. Его полости становились расширенными, причем эти расширения были как относительно небольшими, так и образовавшие крупные вакуоли, т.е. эндоплазматический ретикулум подвергался вакуолизации, а затем и практически полному исчезновению. Количество рибосом на мембранах ретикулума уменьшалось. Однако это уменьшение не приводило к переходу гранулярного ретикулума в агранулярный. Наоборот, агранулярный эндоплазматический ретикулум практически также полностью исчезал.

Следует отметить, что своеобразной формой функциональной адаптации служит дедифференцировка клеток, часто наблюдаемая при действии различных повреждающих факторов (Клишов, 1984). Морфологически дедифференцировка характеризуется структурной реорганизацией клеток, в гепатоцитах рыб наблюдалось увеличение относительного объема ядра, увеличение количества ядрышек, увеличением содержания гранулярного компонента ядрышка, что согласуется с литературными данными (Токин, 1974).

2.3. Репаративные процессы в печени рыб

В обычных условиях для печени характерен высокий уровень резистентности в поддержании своей адекватной функциональной активности и

нормальной морфологической структуры. Закономерно возникает вопрос, насколько изменяется функция органа, и какова степень морфологической и функциональной адаптации ткани печени при токсических поражениях.

Изучение процессов регенерации печени рыб проводилось как после ее токсического поражения, так и после оперативного удаления части органа, что позволяло моделировать ситуацию, когда значительная часть печеночных клеток не функционировала (например, как это может быть при далеко зашедших дистрофических изменениях гепатоцитов). Опыты проводились на карпах массой 40-45 г.

Результаты исследования показали, что морфологическим субстратом функциональных резервных возможностей органа является гипертрофия и гиперплазия внутриклеточных органелл гепатоцита. В течение первых суток после частичной гепатэктомии обнаруживалось расширение канальцев эндоплазматического ретикулаума вплоть до возникновения вакуолей, разнообразные изменения в митохондриях, исчезновение гранул гликогена. Была отмечена высокая степень функционального напряжения оставшихся печеночных клеток в связи с удалением части органа, т.к. сохранившаяся часть должна выполнять ту же работу, в которую был вовлечен весь орган.

Первыми на токсическое воздействие реагировали митохондрии и эндоплазматический ретикулум, эти структуры функционально связаны с внутриклеточным синтезом белка и ферментативными системами, и поэтому являются особенно лабильными и чувствительными к изменениям среды. Характерно, что и регенераторные внутриклеточные процессы начинались с восстановления этих структур. Отмечалась гиперплазия эндоплазматического ретикулаума, увеличение количества прикрепленных на нем рибосом, количество митохондрий увеличивалось, причем отмечалось много делящихся митохондрий.

В дальнейшем происходило восстановление массы органа. После удаления **j** печени достижение первоначальной массы происходило приближи-

тельно через 30 суток. Параллельно восстановлению структуры и массы, нормализовывалась и функция органа, которая оценивалась по метаболизму билирубина. Билирубиновая проба очень показательна, так как основное повышение билирубина в крови связано в основном с уменьшением поглощения его печенью из крови, нарушением секреции в желчь и повышением обратного выведения билирубина из гепатоцитов. У контрольных рыб уровень билирубина составил в среднем 7,56 ммоль/л. У подопытных рыб через сутки после операции уровень билирубина был равен 14,0 ммоль/л, что превысило норму почти в два раза. Затем наблюдалось постепенное снижение уровня билирубина в крови рыб, и через трое суток он составил 13,07 ммоль/л. Эта тенденция была весьма устойчивой, и через 10 суток концентрация билирубина в крови составила уже 11,5 ммоль/л, таким образом, функции печени после повреждения начали постепенно восстанавливаться. Так как увеличиваться печень стала только на пятые сутки, а нормализация ее функций началась уже через сутки, то видно, что на первом этапе оставшаяся часть клеток приняла на себя функцию целого органа.

Следует отметить принципиальное сходство изменения ультраструктуры гепатоцитов и восстановительных процессов при механическом и токсическом поражении печени.

2.4. Морфологическая характеристика экскреторных отделов почек некоторых видов рыб дельты Волги и Каспия

Анализ и систематизация наиболее типичных изменений в мезанефросе рыб проведены на осетровых видах рыб, а также анализировались почки карпа и белого амура.

Многообразие элементов, составляющих экскреторную часть почек, обуславливает многообразие изменений, выявляемых при морфологическом исследовании срезов почки.

Нарушения микроциркуляции крови зачастую бывают единственным признаком патологического процесса или же в сочетании с отеками и ин-

филтратами интерстиция. Наиболее характерными сосудистыми нарушениями были застойные явления в сосудах различного калибра.

Гломерулярные изменения могут быть систематизированы по следующим группам:

- 1) минимальные изменения;
- 2) гломерулярные изменения, обусловленные процессами в капиллярах;
- 3) пролиферативные изменения.

При минимальных изменениях почечных телец патологические нарушения на светооптическом уровне практически не определяются. Иногда отмечались набухание гломерулярной базальной мембраны, слабая пролиферация мезангиальных клеток. Для этого состояния была характерна переменность размеров почечных телец — например у карповых рыб от 26 до 130 и более мкм. Коэффициент вариации диаметра капсулы достигал величины **CV=25,5%**. В неизменной почке CV как правило не превышал 10%. При электронной микроскопии основные элементы почечного тельца также выглядели неизменными. Это касается базальных мембран, мезангиальных клеток, эндотелия. Изменения наблюдались в висцеральных эпителиальных клетках, ножки которых сливались. Происходило упрощение архитектуры подоцитов, что, вероятно, приводило к изменению интенсивности фильтрации.

Гломерулярные изменения, обусловленные процессами в капиллярах — это наиболее часто встречаемая гломерулярная патология рыб. Первым и наиболее просто выявляемым показателем изменений в капиллярах является гиперклеточность клубочка. Например, если в норме количество клеток (ядер) в капиллярном клубочке карпа составляет **51,62±6,71** шт., то при гиперклеточности этот показатель может увеличиваться на 50% и даже более. При склеротическом изменении клубочков (разрастании коллагеновых волокон) происходит спаяние петель между собой или с капсулой. У рыб это довольно редкая патология. Сморщивание клубочка происходит в нефункцио-

нирующем нефроне. Отмечалось и превращение почечных телец в участки деструктированной ткани.

Пролиферативные изменения у рыб встречаются значительно реже, чем у теплокровных животных. Была отмечена пролиферация эпителия капсулы, хотя в большинстве она была выражена незначительно. Были обнаружены единичные случаи пролиферации эпителия капсулы в виде полулуний, что бывает характерно, например, для поражения почек при быстро прогрессирующем гломерулонефрите человека.

Тубулярные изменения наиболее распространены у рыб. Большинство форм патологии почек рыб затрагивает преимущественно извитые каналцы (при этом зачастую в процесс вовлекается и интерстиций). Эпителиальные клетки канальцев весьма чувствительны к действию различных факторов (токсическое воздействие, нарушение трофики вследствие ишемии при сосудистых нарушениях в почке); токсическое поражение извитых канальцев было воспроизведено в эксперименте. Просветы извитых канальцев почек рыб варьировали в широких пределах. При патологических процессах извитые каналцы были расширены или наоборот сужены. Сужение канальцев, в частности, может быть следствием их сдавливания при отеке интерстиция. Как правило, при этом в патологический процесс вовлекался эпителий извитого канальца. Эпителиоциты извитых канальцев подвергались дистрофическим и некротическим изменениям. Характерными изменениями были вакуольная дистрофия, мутное набухание цитоплазмы.

Некрозы канальцев характеризовались разрушением эпителиальных клеток. Часто некроз сопровождался разрывами базальных мембран (тубуло-рексис) и окклюзией просвета канальцев цилиндрами. Клетки эпителия канальцев могут полностью некротизироваться и слущиваться в просвет канальца. Спущенные эпителиоциты были отмечены при анализе мочи рыб (карпов), подвергнутых экспериментальному отравлению кадмием. Жидкость из разрушенных канальцев может проникать в интерстиций, приводя к

повышению интерстициального давления и коллапсу канальцев. В конечном итоге может происходить полное разрушение участка извитого канальца.

Эпителий извитых канальцев может регенерировать. Первыми признаками восстановления было появление уплощенных эпителиальных клеток с гиперхромными ядрами.

Сравнительная характеристика почек карпа после токсического воздействия дана в таблице 2.

Таблица 2

Морфометрические параметры почек молоди карпа после токсического действия нефти и кадмия

Параметры	Контроль	Нефть (0,1 мг/л)	Кадмий (0,1 мг/л)
Диаметр почечной капсулы, мкм	66,9±3,2	67,2±4,1	77,4±4,2
Диаметр капиллярного клубочка, мкм	53,1±5,0	55,2±4,9	67,3±5,3
Количество клеток в сосудистом клубочке	52,3±2,1	51,7±3,3	63,7±4,1
Высота эпителия паренхимального листка капсулы, мкм	4,4±0,6	4,4±0,5	4,4±0,2
Диаметр канальцев 1 типа, мкм	21,8±0,8	21,6±2,4	26,0±1,0
Диаметр канальцев 2 типа, мкм	69,4±1,3	70,0±1,7	76,0±2,7
Диаметр канальцев 3 типа, мкм	46,2±2,4	46,8±1,0	46,7±1,7
Площадь межканальцевой ткани, %	60,1±0,3	59,6±1,7	59,6±0,4

Действие токсикантов находило свое выражение в изменении количественных показателей почечных телец, причем более выраженное действие оказывал кадмий. Диаметр почечной капсулы при воздействии нефти практически не изменялся, тогда как интоксикация кадмием привела к увеличению среднего диаметра капсулы на 15,7%. Увеличился также диаметр капиллярного клубочка с 53,1±5,0 до 67,3±5,3 мкм, а также возросло количество клеток в клубочке.

2.5. Некоторые механизмы нефротоксичности кадмия для рыб

Известно, что иммунным процессам принадлежит ведущая роль в развитии многих форм почечной патологии (Дранник, 1989). Концентрация иммуноглобулинов (Ig) в крови карпа до начала опыта составила **0,48±0,01 г%**. При содержании рыб в воде с кадмием в концентрации 0,25 мг/л через 20 суток уровень содержания **Ig** возросло **1,66±0 г%**, а на 60-е сутки достиг значения 2,34 **г%**, превысив, таким образом, контрольный уровень более чем в 5 раз.

Следует отметить общеизвестный факт, что все антитела являются **Ig**, но не все **Ig** обладают активностью антител. **Ig** связывают антигены и, следовательно, образуют иммунные комплексы (ИК). Образование комплексов «антиген-антитело» - перманентный физиологический процесс, постоянно протекающий в организме животного и направленный на поддержание постоянства внутренней среды организма (Петров, 1987).

Увеличение количества ИК отмечалось уже на 10 сутки влияния кадмия, а первый максимум был отмечен через 20 суток интоксикации. При этом уровень контроля был превышен в 5,9 раз. Следующий пик был отмечен через 50 суток интоксикации, хотя наблюдавшееся в период от 20 до 50 суток интоксикации снижение содержания циркулирующих ИК было незначительным.

Одновременное увеличение содержания в крови рыб как **Ig** так и ЦИК дает основание полагать, что хотя бы часть обнаруженных иммуноглобулинов, по всей видимости, могут быть отнесены к антителам.

Известно, что поступление кадмия в организм способно инициировать синтез неспецифических для организма белков (Andersen et al, 1989). Результаты исследования антигенных свойств «нормальных» и «измененных» почек представлены в таблице 3.

Таблица 3

Результаты реакции коаггутинации с антигенами, содержащими «нормальные» и «измененные» белки почек рыб

№	Антиген	Сыворотка	Результат р-ции коаггутинации
1	Содержит только нормальные белки почек	Содержит АТ к нормальным белкам	+
2	Содержит белки, измененные кадмием (после истощения)	Содержит АТ к нормальным белкам	-
3	Содержит только нормальные белки почек	Содержит АТ к измененным белкам и нормальным	+
4	Содержит белки, измененные кадмием (после истощения)	Содержит АТ к измененным белкам и нормальным	+

Анализируя результаты этих реакций, можно сделать вывод о различных антигенных свойствах «нормальных» и «измененных» кадмием почек рыб. Сообщения о роли кадмия в развитии патологии почек достаточно часто встречаются в публикациях. Многочисленные исследования, проведенные на теплокровных животных, показывают значение кадмия при развитии патологии почек (Nicholson et al., 1989). При рассмотрении механизма токсического действия было показано, что дисфункция почечных канальцев и хронический интерстициальный фиброз наблюдаются в случаях, когда концентрации кадмия в коре почек превышают критический уровень 200 мкг/г (Gooyer, 1989). При проведении эколого-токсикологических исследований в водоемах дельты Волги нами было обнаружено, что в наибольшей степени кадмий накапливается в экскреторном отделе почек рыб (Зайцев и др., 1993), а при его накоплении свыше 1 мг/кг в почках наблюдались патологические изменения (Крючков и др., 1992).

Исходя из литературных данных и результатов собственных исследований, представляется, что кадмий, вызывая изменения белков организма рыб,

стимулирует, таким образом, синтез антител. По-видимому, эти антитела образуют иммунные комплексы, которые могут отлагаться в нефронах, вызывая изменения, морфологически сходные с гломерулонефритом. Следует также отметить, что при исследовании почек после воздействия кадмия в гломерулярных базальных мембранах были обнаружены электронноплотные депозиты. Эти депозиты были небольших размеров, поэтому их роль в нарушении клубочковой фильтрации оценить довольно трудно, что требует специальных исследований. Вместе с тем, влияние токсикантов, в частности, кадмия, функционально выражалось, прежде всего, в виде уменьшения количества образующейся мочи. Так если в норме у карпа массой 20-25 г за сутки выделялось в среднем **4,22±0,21** мл мочи, то после отравления кадмием в концентрации 0,25 мг/л суточный объем мочи составил **2,62±0,18** мл. При этом Осмоляльность мочи увеличилась почти в три раза и составила **36,0±3,1** ммоль/кг вместо **12,5±0,64** ммоль/кг у контрольных рыб. В осадке мочи обнаруживались цилиндры, спущенные эпителиальные клетки. Качественная реакция на белок давала положительный результат.

Таким образом, при интоксикации кадмием морфологические изменения почек сопровождались ярко выраженными функциональными расстройствами.

3. Факторы естественной резистентности рыб и их изменения при токсических воздействиях

3.1. Оценка влияния токсикантов на кровь рыб

Действие токсических веществ проявилось изменениями в картине как красной, так и белой крови.

В крови осетров, не подвергнутых токсическому действию нефти, отмечалось порядка 56% лимфоцитов, 3,18% моноцитов. Суммарное количество нейтрофилов отмечалось более 31% со сдвигом ядерной формулы вправо, т.е. преобладали сегментоядерные нейтрофилы (**10,34±3,71%**), палочкоя-

дерные формы встречались в количестве **9,67±1,90%**, метамиелоцитов и миелоцитов было соответственно 7,23 и 3,88%.

Воздействие нефти в концентрации 1,0 мг/л через 7 суток привело к увеличению относительного количества лимфоцитов (73,5%), а также количества моноцитов с 3,18 до 8,0%. Количество нейтрофилов значительно уменьшилось, при этом также изменилось соотношение клеточных форм на различных стадиях пролиферации. Через 30 суток относительное число лимфоцитов увеличилось до **79,5±4,5%**. Уменьшилось количество нейтрофилов, при этом произошел сдвиг ядерной формулы влево. Следует отметить уменьшение количества бластных клеток с **4,28±0,78 до 2,5±0,15%**.

Цитопатологический анализ форменных элементов крови осетра показал, что наиболее распространенным явлением была полихромазия эритроцитов. Пойкилоцитоз был умеренным. Отмечались патологические амитозы, сопровождавшиеся образованием шистиоцитов. Агглютинация отмечалась в виде цепочек эритроцитов длиной от 2-3 до 8-10 клеток. При воздействии сырой нефти в течение 30 суток наблюдалось снижение резистентности эритроцитов. При этом эритроциты ошаривались, у них разрушалась оболочка, и образовывались клеточные «тени».

Таким образом, влияние сырой нефти на кровь осетра проявлялось в виде дегенеративных изменений в эритроцитах, а также относительного лимфоцитоза, сопровождавшимся изменением ядерной формулы нейтрофилов.

Наиболее существенные различия в реакции периферической крови карпа и осетра на воздействие нефти заключались в динамике количества лейкоцитов. При концентрации сырой нефти 0,1 мг/л количество лейкоцитов в крови карпа имело устойчивую динамику к повышению. После кратковременного лейкоцитоза (на седьмые сутки интоксикации) наблюдался устойчивый спад в содержании лейкоцитов в крови. Наибольшему влиянию был подвержен миелопоз. Действие нефти даже в незначительной concentra-

ции (0,1 мг/л) приводило к значительному снижению относительного числа нейтрофилов, при этом произошел сдвиг ядерной формулы влево. Так через 30 суток интоксикации нефтью в кровяном русле оставалось всего 4% нейтрофилов, причем это были только нейтрофильные миелоциты, тогда как у контрольных рыб общее количество нейтрофилов составило 14,65%.

Интоксикация кадмием в концентрации 0,25 мг/л через 10 суток привела к уменьшению количества лимфоцитов в крови карпа на 66%, моноцитов - на 72%, нейтрофилов — на 64%. Снижение общего количества лейкоцитов может быть связано с общим угнетением гемопоэза, т.к. наиболее значительным было уменьшение бластных форм и клеток на ранних стадиях развития. Например, количество монобластов уменьшилось на 77%, а количество нейтрофильных миелоцитов на 76%.

По истечении 30 суток интоксикации абсолютное количество лейкоцитов составило 18,82 тыс. шт/мкл, т.е. наблюдалась значительная лейкопения. Количество лейкоцитов по сравнению с контролем уменьшилось в 2,43 раза. Следует отметить, что наблюдалась депрессия практически по всем классам лейкоцитов.

Таким образом, под действием токсикантов в периферической крови рыб происходят изменения в картине как красной, так и белой крови. Отмечается угнетение гемопоэза, что находит свое выражение, в частности, в снижении уровня содержания практически всех форменных элементов крови, развивается выраженная лейкопения.

3.2. Система полинуклеарных фагоцитов

Защиту организма от патогенов определяют факторы специфического иммунитета и естественной резистентности. Среди последних доминирующая роль принадлежит фагоцитозу. Результаты выполненного исследования показали, что изменения фагоцитарной активности полиморфноядерных лейкоцитов характеризуются прежде всего снижением фагоцитарного числа, фагоцитарного индекса, показателя завершенности фагоцитоза. Показатели

фагоцитарной активности меняются в основном однонаправлено как при хронических поражениях паренхиматозных органов (в основном, печени, в меньшей степени при поражениях почек), так и при длительной интоксикации (табл. 4).

Таблица 4

Изменение фагоцитарной активности нейтрофилов рыб при интоксикации

Токсикант, конц.	Осетр				Карп			
	ФАН, %		ФИ		ФАН, %		ФИ	
	M±m	CV	M±m	CV	M±m	CV	M±m	CV
Контроль	60,06±2,5	14,2	8,9±0,6	33,33	58,2±2,7	17,3	7,5±0,6	21,3
Кадмий, 0,25 мг/л	45,2±2,2	20,3	5,5±0,7	47,04	28,3±2,2	14,5	8,1±0,5	30,65
Нефть, 1,0 мг/л	39,11±3,5	32,6	6,2±0,3	12,10	37,7±1,8	18,6	10,9±0,7	25,74

Длительная интоксикация находит свое проявление как в изменении числа фагоцитирующих клеток, так и в показателях функциональной активности фагоцитов. У молоди осетра (масса 20–40 г) наиболее стабильно снижался фагоцитарный индекс (количество микробных тел, поглощенных одним фагоцитом). Стабильность этого показателя проявлялась в том, что практически у всех проанализированных подопытных осетров было выявлено в той или иной степени снижение фагоцитарного индекса. В целом, интоксикация кадмием (концентрация 0,25 мг/л, экспозиция 30 суток) оказала более выраженное влияние на функциональную активность нейтрофилов крови по сравнению с аналогичным показателем при отравлении нефтью (концентрация 1,0 мг/л, экспозиция 30 суток). Так, под действием кадмия количество корпускулярных поглощенных антигенов уменьшилось в 1,6 раза, а при воздействии нефти - и 1,4 раза. Количество активных фагоцитов также уменьшалось. В среднем же количество фагоцитирующих нейтрофилов в периферической крови русского осетра после воздействия нефти и

кадмия составило соответственно $39,11 \pm 3,5$ и $45,2 \pm 2,2\%$ при $60,06 \pm 2,5\%$ в контроле.

Что касается карпа, то наиболее существенным изменениям подвергался показатель фагоцитарной активности нейтрофилов при действии кадмия $0,25$ мг/л в течение 30 суток, при этом количество активных фагоцитов снизилось более чем в два раза. Фагоцитарный индекс, напротив, возрос с $7,5 \pm 0,6$ до $8,1 \pm 0,5$ шт. корпускулярных антигенов. Аналогичная тенденция была выявлена также и при интоксикации нефтью, отличие состояло в том, что уменьшение числа активных фагоцитов было менее значительным (их количество уменьшилось в 1,54 раза, тогда как при воздействии кадмия - более чем в 2 раза), а фагоцитарный индекс возрос до $10,9 \pm 0,7$ единиц. Данный феномен, по всей вероятности, представляет собой компенсаторную реакцию со стороны системы фагоцитирующих клеток.

Было исследовано изменение фагоцитарной активности лейкоцитов при хронических поражениях печени неизвестной этиологии. Исследование показало, что достоверное снижение активности фагоцитоза происходит в тех случаях, когда, во-первых, имеют место лейкопения и спленомегалия. В этом случае, по всей видимости, с одной стороны, происходит удаление из циркуляции и разрушение форменных элементов в увеличенной селезенке, с другой, возможна продукция дефектных в функциональном отношении нейтрофилов с угнетенной способностью к фагоцитозу (табл. 5).

Таблица 5

Угнетение фагоцитарной активности нейтрофилов карпа при хронических поражениях печени

Состояние печени	ФАН, %		ФИ		К-во нейтрофилов, тыс шт/мл
Условная норма	$56,1 \pm 1,9$	16,2	$7,7 \pm 0,5$	18,5	7,5
Дистрофия	$49,27 \pm 3,35$	21,5	$6,36 \pm 0,66$	33,01	7,2
Дистрофия, некрозы, фиброз в сочетании со спленомегалией	$27,5 \pm 3,5$	42,21	$8,0 \pm 0,60$	27,48	3,6

3.3. Система лизоцима, **естественных антител рыб** в норме и при некоторых патологических состояниях

Лизоцим - низкомолекулярный фермент лизосом, является основным составным элементом гранулоцитов и макрофагов. Гетерогемагглютинины, обнаруживаемые в сыворотке крови и в различных лимфоидных органах, относятся к нормальным, или естественным антителам. Наличие в организме нормальных антител свидетельствует о готовности организма к антителообразовательной функции, что во многом определяет его резистентность (Лукьяненко, 1989).

Если рассмотреть содержание факторов естественной резистентности на примере карпа, то наибольшее относительное содержание лизоцима было отмечено в туловищной и головной почке, соответственно 2,93 и 52,02 усл.ед/мл. Выявлено высокое содержание гемагглютининов в органах и сыворотке крови. Вместе с тем, отмечено отсутствие активности агглютининов к эритроцитам человека (АЭЧ) в туловищной почке в 45% проб, в головной почке - в 30%, в жабрах и селезенке соответственно в 20 и 60%. Активность агглютининов к эритроцитам кролика (АЭК) не обнаружилась в 5% головных и туловищных почек изучаемых рыб. По суммарному уровню содержания исследованных гуморальных факторов иммунитета выделяются головная и туловищная почки, затем следуют жабры и селезенка, меньше всего лизоцима и гемагглютининов отмечалось в сыворотке крови (табл. 6).

Таблица 6

Относительное содержание гемагглютининов и лизоцима в органах и сыворотке крови карпа

Вид гуморального фактора	Содержание, усл.ед./мл				
	Туловищная почка	Головная почка	Селезенка	Жабры	Сыворотка
Лизоцим	2,93±11,5	2,02±7,62	38,02±12,0	7,07±6,23	4,5±1,55
АЭК	8,79±1,71	8,1±0,9	6,91±1,07	5,27±4,63	26,0±4,7
АЭЧ	4,36±0,56	5,28±0,76	3,01±0,43	2,3±0,6	4,45±1,4

Проведена оценка иммунофизиологических показателей некоторых органов карпа при различных патологических состояниях с использованием количественного анализа активности иммунной системы и системы неспецифической инактивации патогенов. Результаты сопоставления содержания лизоцима и гемагглютининов в органах карпа при различной степени патологии представлены в таблице 7.

Таблица 7
Изменение иммунофизиологических факторов в зависимости от степени патологических изменений в органах карпа

Вид гуморального фактора	Содержание, усл. ед./мл		
	Селезенка	Головная почка	Туловищная почка
Лизоцим	<u>26,08±3,12</u>	<u>48,16±4,96</u>	<u>35,41±4,02</u>
	45,57±5,05	43,71±3,59	134,10±10,23
АЭК	<u>7,25±0,43</u>	<u>7,34±0,51</u>	<u>3,49±0,34</u>
	8,95±0,55	8,84±0,45	7,31±0,78
АЭЧ	<u>2,5±0,51</u>	<u>6,9±0,83</u>	<u>2,26±0,46</u>
	3,69±0,34	5,6±0,26	3,9±0,70

В числителе - активность при патологии степени III и более;
в знаменателе - активность при условной норме

Заметные изменения активности гуморальных факторов отмечались в селезенке и туловищной почке. Особенно это относится к лизоциму. Так, у рыб с явно выраженной патологией селезенки активность лизоцима меньше в 1,7 раза, а в туловищной почке - в 3,8 раза, различия во втором случае достоверные. Менее ярко выражена аналогичная тенденция по содержанию АЭК, хотя и в данном случае активность гемагглютининов в туловищной почке с тяжелой патологией более чем в два раза, меньше. В селезенке эти изменения были не столь значительны.

Особо следует отметить головную почку, в которой при нарастании патологических изменений в тканях не было обнаружено снижения активности гуморальных факторов иммунитета. По всей видимости, головная почка по изменению активности гуморальных факторов иммунитета более

реактивна, чем туловищная почка и селезенка в силу того, что в ней происходит более активный синтез, в частности, лизоцима.

Активность лизоцима и гемагглютининов изменялась и при действии токсических веществ (таблица 8).

Таблица 8

Иммунофизиологических показатели внутренних органов сеголетков карпа при интоксикации сульфатом меди (конц. 0,50 мг Cu^{2+} /л)

Показатель	Экспозиция, сутки	Содержание, усл. ед./мл		
		Селезенка	Головная почка	Туловищная почка
Лизоцим	0	7,05±0,76	19,67±0,98	20,02±4,26
	7	5,11±0,82	17,32±1,23	14,62±2,12
	15	6,24±1,05	12,60±1,80	11,85±2,23
	20	10,46±1,20	29,88±1,96	20,44±3,54
	40	2,12±0,34	11,32±1,56	18,24±3,13
АЭК	0	3,71±0,24	1,59±0,66	8,89±3,07
	7	2,82±0,26	0,18±0,02	3,19±0,24
	15	0,12±0,03	0,17±0,02	4,36±0,28
	20	5,06±0,48	2,09±0,17	7,04±0,78
	40	6,06±0,48	7,78±3,11	5,09±0,57

Изменение активности лизоцима в селезенке карпа после 15 суток воздействия сульфата меди не претерпело существенных изменений. На 20 сутки произошло некоторое возрастание уровня активности до **10,46±1,20** усл. ед./мл. После 40 суток экспозиции активность лизоцима в селезенке упала до **2,12±0,34** усл. ед./мл. Сходная динамика изменения активности лизоцима наблюдалась в головной почке, отличие заключалось в том, что отмечавшееся снижение активности на 40-е сутки было не столь значительным, как в селезенке, и составило порядка 70%. Наименее значительное колебание активности лизоцима было выявлено в туловищной почке. Таким образом, интоксикация проявлялась в виде угнетения активности лизоцима после продолжительного действия негативного фактора, причем это угнетение было наиболее выражено в селезенке.

4. Иммунные реакции, обусловленные лимфоцитами

4.1. Иммуноглобулины

Важнейшими функциональными свойствами иммуноглобулинов является их способность идентифицировать антиген, представлять его фагоцитам, активировать систему комплемента (Петров, 1987).

Наиболее значительное повышение концентрации иммуноглобулинов наблюдалось, кроме описанного выше при воздействии кадмия, при интоксикации нефтью (карпа и осетра). Так, у сеголетков осетра при воздействии нефти содержание иммуноглобулинов в крови достигало значения **1,73±0,5 г%** (при норме 0,48 г%). У карпа аналогичный показатель составил **1,84±0,6 г%**. Умеренное повышение концентрации иммуноглобулинов наблюдалось при патологиях почек, печени в ярко выраженной форме.

Снижение концентрации иммуноглобулинов наблюдалось лишь при воздействии меди, но оно имело непродолжительный характер.

4.2. Иммунные комплексы

Специфическое взаимодействие антигена с антителом сопровождается образованием иммунного комплекса. Этот физиологический процесс представляет собой универсальный механизм защиты организма, способствующий элиминации антигенов. Увеличение содержания иммунных комплексов при хроническом поражении печени коррелирует с высокой концентрацией сывороточных иммуноглобулинов. Однако в ряде случаев увеличенная концентрация ЦИК наблюдается при незначительном изменении содержания сывороточных иммуноглобулинов: Видимо, при этом на первый план выступает угнетение функции фагоцитирующих клеток. Концентрация иммунных комплексов в крови карпа при патологии печени представлена в таблице 9.

Таблица 9

Содержание циркулирующих иммунных комплексов в крови карпа при различных патологических изменениях в печени, усл.ед/мл

Характер изменений, токсикант	Частота выявления повышенного уровня ЦИК, %	Содержание ЦИК	CV, %
Нарушение микроциркуляции, полиморфизм ядер, мелкокапельная дистрофия (медь, кадмий)	0	0,13±0,01	21,16
Стаз в капиллярах, точечные гемorragии, мелко- и крупнокапельная дистрофия, моноцеллюлярные некрозы (кадмий, нефть)	13	4,6±0,7	41,7
Дистрофия гепатоцитов, охватывающая более 1/3 клеток, очаги некроза, окруженные инфильтратом лейкоцитов (кадмий, нефть)	75	2,1±0,4	42,2
Дистрофия гепатоцитов, охватывающая более 1/3 клеток, масса безъядерных клеток, разрастания соединительной ткани (нефть, ртуть)	60	2,14±0,6	63,6

5.1. Оценка влияния токсикантов на иммунную реактивность

Оценка иммунной реактивности может проводиться различными методами. Одним из доступных и информативных методов оценки иммунной реактивности у рыб может являться метод аллотрансплантации.

Были проведены эксперименты по изучению влияния токсикантов на реакцию отторжения первичного чешуйного аллотрансплантата карася и карпа. Рассмотрим эту реакцию на примере карпа.

После пересадки трансплантата сначала происходило его приживание приблизительно через 72 часа после операции. При этом количество хроматофоров в чешуе карпа увеличивалось с **48,47±3,70** до **65,50±4,20** шт.

У рыб, не подвергавшихся токсическому воздействию, первые признаки начинающегося отторжения в виде воспалительной реакции возле аллотрансплантата возникали через **4,5±0,3** суток. При этом отмечалась гибель хроматофоров, пересаженная чешуйка становилась бесцветной (мутной). В таком

состоянии трансплантат мог находиться еще несколько дней, затем произошло отторжение. Среднее время выживания первичного чешуйного аллотрансплантата у карпа при температуре $22-24^{\circ}\text{C}$ составило $7,8 \pm 0,35$ суток.

При пересадке аллотрансплантатов рыбам, которые в течение 40 суток содержались в воде с концентрацией кадмия 0,25 мг/л, воспалительные реакции возникали в среднем на 10-14 день от момента пересадки чешуйки. Гиперемия наблюдалась в течение нескольких дней (от 5 до 10), затем постепенно исчезала. Чешуйки оставались живыми в течение всего периода наблюдения после пересадки (до 30 дней) у 24% рыб. У остальных рыб отторжение произошло, но время выживания трансплантатов увеличилось в среднем до 25 суток. Следует отметить, что интоксикация кадмием не оказала действия на приживаемость трансплантата: как у контрольных, так и у подопытных рыб, приживалось 80% первичных чешуйных аллотрансплантатов.

Некоторые показатели, характеризующие течение реакции отторжения, представлены в таблице 10.

Таблица 10

Сравнительная характеристика реакции отторжения первичного аллотрансплантата у рыб, подвергнутых и неподвергнутых токсическому влиянию

Показатели		До трансплантации	Начало воспаления	Сильное воспаление	Отторжение
Кол-во лейкоцитов, тыс. шт./мл	Контроль	$39,3 \pm 3,78$	$35,26 \pm 3,50$	$48,7 \pm 3,28$	$36,3 \pm 3,45$
	Интоксикация Cu^{2+} 0,50 мг/л, 40 суток	$25,4 \pm 0,78$	$34,5 \pm 4,92$	$27,3 \pm 80,6$	$26,8 \pm 1,31$
	Интоксикация Cd^{2+} 0,25 мг/л, 40 суток	$19,25 \pm 2,68$	$20,12 \pm 3,14$	$27,34 \pm 4,56$	$26,72 \pm 2,40$
Иммуноглобулины, г%	Контроль	$0,26 \pm 0,07$	$0,1 \pm 0,039$	$0,26 \pm 0,08$	$0,78 \pm 0,02$
	Интоксикация Cu^{2+} 0,50 мг/л, 40 суток	$0,17 \pm 0,02$	$0,15 \pm 0,04$	$0,10 \pm 0,01$	$0,22 \pm 0,08$
	Интоксикация Cd^{2+} 0,25 мг/л, 40 суток	$0,48 \pm 0,13$	$0,20 \pm 0,08$	$0,25 \pm 0,06$	$0,19 \pm 0,02$

Токсическое действие кадмия привело к снижению иммунной реактивности карпа, что проявилось в увеличении времени выживания первичного аллотрансплантата в среднем в 2,02 раза,

Недостаточно говорить о токсичности, если под влиянием загрязняющих веществ происходит достоверное отклонение функции от контроля, наблюдаемые изменения следует соотнести со «здоровьем» и выживаемостью гидробионтов (Флеров, 1989). В связи с этим, карпы, подвергнутые воздействию сульфата меди, были заражены культурой условно-патогенной *Pseudomonas fluorescens*. В контроле использовались рыбы, также зараженные данной культурой, но содержащиеся в чистой воде. После внутрибрюшинного введения культуры бактерий в течение 11 дней погибло 56,6% подопытных рыб и 10% контрольных (не подвергавшихся интоксикации медью). Кроме того, контрольные рыбы характеризовались более длительным течением инкубационного периода заболевания. Таким образом, экспериментальные исследования свидетельствуют о том, что под влиянием токсиканта (ион меди) снижается сопротивляемость организма к инфекции.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Содержащиеся в волжской воде токсиканты, концентрации многих из которых превышают ПДК (медь, цинк, ртуть, углеводороды), создают постоянный токсикологический фон для рыб.

Накопление в организме рыб хлорорганических пестицидов, вовлечение их в процессы метаболизма, нарушение динамического равновесия поступления металлов в органы и ткани и их выведения, – все это является одной из причин развития негативных процессов в организме рыб.

Эколого-гистологические исследования показывают, что у рыб в естественных условиях встречаются разнообразные изменения в печени. У осетровых видов рыб наиболее выражены дистрофические процессы в гепатоци-

тах, в то время как у карповых на первый план выступают нарушения микроциркуляции, а дистрофии имеют меньшее значение.

Обращает на себя внимание то обстоятельство, что действие различных по своей природе токсикантов (нефть, кадмий) приводит к развитию схожих изменений в печени, т.е. их действие на тканевом уровне неспецифично, или мало специфично. Проведенное электронно-микроскопическое исследование однозначно свидетельствует о том, что патология гепатоцитов развивается вследствие первоначального повышения функциональной активности клеток. Характерно, что эти морфологические нарушения в клетках печени сочетаются с нарушениями функции органа, что было показано на примере метаболизма билирубина.

Проведенные исследования показали, что печень рыб способна восстанавливать свои структуры и функции при значительных поражениях, и можно сделать вывод, что в природных условиях выявляемые патологические изменения печени рыб компенсируются репаративными процессами.

Болезни почек сложны, и рыбы не являются исключением. Полученные в данной работе результаты свидетельствуют, что почка также была подвержена негативному влиянию нефти и тяжелых металлов, хотя именно кадмий оказывает наиболее выраженное влияние на экскреторные отделы почек рыб. Выявлен дозозависимый эффект развития патологии почек карповых рыб в связи с уровнем накопления в них кадмия, причем эта закономерность была выявлена в природных условиях и подтверждена в эксперименте. Из этого следует, что, несмотря на относительно небольшое содержание в природной среде (в воде реки Волги порядка ПДК), кадмий вносит свой вклад в развитие патологии экскреторных отделов почек рыб. Действие других токсикантов на почки находит свое выражение прежде всего в виде тубулярных и интерстициальных изменений.

Изменения в периферической крови носят, скорее всего, неспецифический характер, и проявляются в виде лейкопении и развитии цитоморфологических изменений в клетках красной крови.

Действие токсикантов проявляется не только на органы и ткани, но и непосредственно на клетки. Функциональные изменения в клетках происходят на разных уровнях:

- изменение рецепторных свойств клетки - это реакции клетка-антитело, клетка-клетка (реакция агглютинации к эритроцитам кролика, человека);
- изменение продукции биологически активных веществ (гуморальных факторов в системе неспецифической инактивации патогенов, например, лизоцима);
- изменение содержания биологически активных веществ (неферментных лизосомально-катионных белков);
- изменение поглотительной способности клеток (фагоцитоз без специфического усиления).

Ответные реакции организма определяются характером, силой и длительностью воздействия, при этом реагирование разных иммунофизиологических систем не совпадает по направленности изменений во времени.

Из клинической медицины известно, что все патологические процессы, сопровождающиеся лимфопенией и гипогаммаглобулинемией, приводят к развитию вторичных иммунодефицитов разной степени выраженности (Петров, 1987). Проведенные работы свидетельствуют о непосредственном влиянии токсикантов на иммунофизиологическую реактивность рыб.

Таким образом, анализ литературных данных и собственные исследования показали, что выявляемые морфологические и физиолого-биохимические изменения в организме рыб скорее всего являются следствием сочетанного действия различных экологических факторов, в том числе и многочисленных токсикантов, содержащихся в воде нижнего течения Волги

и Северного Каспия. Состояние исследованных рыб как в естественных условиях, так и в условиях эксперимента можно оценить как компенсированная патология.

ВЫВОДЫ

1. Установлено наибольшее содержание тяжелых металлов в метаболически активных органах карпа (печень, туловищная почка, селезенка), причем в каждом из них отмечается определенное соотношение различных элементов. Выявлено накопление хлорорганических пестицидов (ДДТ и его метаболитов, ГХЦГ и гептахлора) в органах и тканях карпа в концентрациях, достигающих величин 280 мкг/кг в печени, 374 мкг/кг в жабрах, 190 мкг/кг в мышцах.
2. Наблюдения, проведенные в естественных условиях на осетровых, карповых рыбах и бычках показали, что в печени рыб преобладают изменения, обусловленные как дистрофическими и некробиотическими процессами в гепатоцитах, так и нарушениями микроциркуляции крови.
3. Патогенез морфологических изменений в печени обусловлен функциональным перенапряжением ультраструктур гепатоцитов, вследствие чего происходит деструкция гранулярного и агранулярного эндоплазматического ретикулума, появляются патологически измененные митохондрии. Продолжительное действие стресс-факторов приводит к некробиотическим изменениям гепатоцитов.
4. Показано, что адаптация печени к токсическим воздействиям проявляется в форме внутриклеточной компенсаторной регенерации, а именно в виде гиперплазии каналов гранулярной эндоплазматической сети, увеличения на них количества рибосом, увеличении количества митохондрий, формирования комплексов «митохондрии — гранулярный эндоплазматический ретикулум». Механизмы компенсаторной гипер-

трофии печени рыб имеют сходный характер вне зависимости от причин поражения органа.

5. В экскреторных отделах почек исследованных рыб были выявлены преимущественно тубулярные и гломерулярные изменения. Наиболее характерными были изменения в извитых канальцах. Гломерулярные изменения были обусловлены патологическими процессами в капиллярах, а также пролиферацией мезангиальных клеток и эндотелиоцитов.
6. Выявлена роль кадмия в развитии гломерулярной патологии мезанефроса рыб. Нефротоксичность кадмия проявляется через образование циркулирующих иммунных комплексов, обнаруживаемых в дальнейшем в виде электронноплотных депозитов в базальных мембранах почечных телец. Явно выраженные морфологические нарушения почек развиваются при накоплении в них кадмия свыше 1,0 мг/кг. Таким образом, этот уровень накопления металла следует считать критическим для нормального функционирования выделительной системы. Функциональные изменения мезанефроса проявляются в виде сниженного диуреза, а также протеинурии, наличия лейкоцитов в моче.
7. Под действием рассмотренных токсикантов в периферической крови рыб происходят изменения в картине как красной, так и белой крови. Отмечается угнетение гемопоэза, что находит свое выражение, в частности, в снижении уровня содержания практически всех форменных элементов крови, развивается явно выраженная лейкопения.
8. Установлено, что хроническое воздействие токсикантов (кадмий, ртуть, нефть) приводит к возникновению симптомов вторичного иммунодефицита в крови рыб в виде снижения фагоцитарной активности нейтрофилов, лизоцима, снижении концентрации естественных антител и лейкопении. Показано увеличение концентрации сывороточных иммуноглобулинов и циркулирующих иммунных комплексов. Одно-

временное увеличение концентрации циркулирующих иммунных комплексов и угнетение фагоцитоза свидетельствует о том, что ведущую роль в увеличении концентрации иммунных комплексов играет дефицит нормально функционирующих фагоцитов, что препятствует элиминации иммунных комплексов.

9. Выявлено, что хронические интоксикации приводят к снижению иммунной реактивности и, в частности, к угнетению реакции отторжения первичного аллотрансплантата. Реакция отторжения первичного аллотрансплантата (чешуи) может быть использована для количественной оценки степени угнетения иммунной реактивности при воздействии токсических веществ. Доказано, что изменение иммунологических реакций карпа под влиянием изучаемых токсикантов приводит к снижению сопротивляемости организма к условно-патогенной *Pseudomonas fluorescens*.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Земков Г.В., Крючков В.Н., Акберова Т.Р. Изменение клеточного фактора иммунитета в зависимости от морфофункциональных нарушений в печени и почках карпа под влиянием промышленных сточных вод// Вопросы экологии гидробионтов: Сб. научн. трудов.- М: ВНИИПРХ, 1991.- Вып. 64.- С. 124-126.
2. Крючков В.Н., Нгуен Ван Хао, Мохамед Сайд Ахмед, Федорова Н.Н. Патологические изменения в почках карповых рыб при накоплении кадмия// Тез. докл. научно-практической конференции по экологическим проблемам сельского и водного хозяйства Поволжья.- Саратов, 1992.- С. 55.
3. Крючков В.Н. Клеточный состав периферической крови карпа на фоне накопления хлорорганических пестицидов // Водные биоресурсы, воспроизводство и экология гидробионтов: Сб. научн. трудов.- М: ВНИИПРХ, 1992.- Вып. 66.- С. 110-115.
4. Крючков В.Н., Антонова Л.А. Патогистологические изменения внутренних органов карпа в зависимости от содержания тяжелых металлов// Вопросы генетического и экологического мониторинга объектов рыбоводства. - М.: ВНИИПРХ, 1992.- Вып. 68.- С. 88-94.
5. Земков Г.В., Крючков В.Н., Акберова Т.Р. Изменение клеточного фактора иммунитета в зависимости от нарушений в печени и почках карпа под влиянием сточных вод// Водные биоресурсы, воспроизводство и экология гидробионтов: Сб. научн. тр.- М.: ВНИИПРХ, 1992.- Вып. 66.- С. 106-108.

6. Зайцев В.Ф., Григорьев В.А., Крючков В.Н. Особенности распределения тяжелых металлов в органах и тканях туводных видов ихтиофауны Волго-Ахтубинской поймы // Вестник Астраханского технического института рыбной промышленности и хозяйства М., 1993.- С. 69-71.
7. Крючков В.Н., Антонова Л.А. Патоморфология тканей карпа при хронических интоксикациях в условиях прудового хозяйства // Вестник Астраханского технического ин-та рыбной пром-сти и хоз-ва.- М, 1993.- С. 104-106.
8. Крючков В.Н., Андреев В.В., Григорьев В.А. Гистология и уровень накопления тяжелых металлов в органах и тканях карповых рыб из водоемов, прилегающих к промзоне АГКК// Проблемы охраны здоровья и социальные аспекты освоения газовых месторождений России: Тез. докл. научно-практич. конф.- Астрахань, 1993,- С. 27.
9. Антонова Л.А., Крючков В.Н. Морфофункциональные критерии оценки состояния туводных рыб Нижней Волги// Вестник Астраханского государственного технического университета: Сб. научн. трудов. Вып. 2.- Астрахань: Астр, гос. техн. ун-т, 1996.- С. 89-93.
- Ю.Крючков В.Н. Иммунологические исследования в практике товарного осетроводства // Первый конгресс ихтиологов России: Тезисы докладов.- М.: Изд-во ВНИРО, 1997.-С.316.
- П.Крючков В.Н., Федорова Н.Н., Валедская О.М., Дубовская А.В. Морфофункциональное тестирование молоди бестера в товарном хозяйстве//Проблемы развития рыбного хозяйства на внутренних водоемах в условиях перехода к рыночным отношениям. Материалы международной научно-практической конференции. - Минск: Белорусское издательское товарищество "Хата", 1998.- С. 181-183.
12. V.F. Zaitsev, V.N. Krutchkov, S.Z. Kazantseva. Adaptability of sturgeon organs and tissues//The Caspian Sea. Science. Education. Technologies: International Journal of Collected Academic Articles/ Associated of Universities of Caspian Region States.- Astrakhan: ASTU Press, 1998.- Book 1.-P. 24-25.
13. Krutchkov V.N. Immunophysiological researches in practice of commercial fish rearing //Первый российско-американский симпозиум "Аквакультура и здоровье рыб". Рабочая программа и тезисы сообщений. - М., 1998. - С. 111-113 (159-161).
14. Федорова Н.Н., Зайцев В.Ф., Крючков В.Н. Реактивность органов и тканей рыб при накоплении в них токсикантов // Проблемы загрязнения окружающей среды-98. Тез. докл. Международной конференции. - М., 1998. - С.82,374.
15. Крючков В.Н., Зайцев В.Ф., Хади М.С Выбор методов при проведении эколого-токсикологического мониторинга природных популяций рыб // Труды Международного Форума по проблемам науки, техники и образования. - М.: Академия наук о Земле, 1998.- С. 148-150.
16. Krutchkov V.N., Hadi S. M. Morphofunctional fish testing in aquaculture // Aquaculture and water: fish culture, shellfish culture and water usage / Abstracts of contributions presented at the International Conference. - European Aquaculture Society Special Publication No. 26, Oostende, 1998. - P. 147-148.
17. Крючков В.Н., Зайцев В.Ф., Хади М.С Выбор методов при проведении эколого-токсикологического мониторинга природных популяций рыб // Междуна-

- родная научно-техническая конференция, посвященная 40-летию пребывания КГТУ на Калининградской земле и 85-летию высшего рыбохозяйственного образования в России (Сборник тезисов и докладов). Часть 1. - Калининград, 1999. - С. 20-21.
18. Крючков В.Н., Федорова Н.Н., Зайцев В.Ф., Хади М.С. Характер патоморфологических изменений внутренних органов некоторых видов рыб дельты Волги // Состояние, изучение и сохранение природных комплексов Астраханского биосферного заповедника в условиях повышения уровня Каспийского моря и усиливающейся антропогенной нагрузки / Тез. докл. юбилейной научной конф., посвященной 80-летию Астраханского заповедника. - Астрахань, Изд-во ООО «ЦНТЭП», 1999. - С. 43-45.
 19. Krutchkov V.N., Zaitsev V.F., Hadi S.M. The toxicity of low concentrations of copper to the immune resistance of common carp // 9th International Conference "Diseases of Fish and Shellfish". - Rhodes, 1999. - P-039.
 20. Zaitsev V.F., Fedorova N.N., Krutchkov V.N. Tissue and organ changes of sturgeon species in modern environmental condition // 9th International Conference "Diseases of Fish and Shellfish". - Rhodes, 1999. - P-043.
 21. Пивоварова Е.В., Курина Л.В., Хади М.С. Федорова Н.Н., Зайцев В.Ф., Крючков В.Н. Влияние качества кормов на состояние печени рыб при искусственном выращивании // Второй международный симпозиум «Ресурсосберегающие технологии в аквакультуре» / Материалы докладов. - Краснодар, 1999. - С. 210-211.
 22. Федорова Н.Н., Крючков В.Н., Зайцев В.Ф. Морфологическая характеристика печени рыб в современных экологических условиях // Российские морфологические ведомости, № 34 1999.-С. 174-180.
 23. Крючков В.Н., Алиновская Ю.Б. Оценка иммунной реактивности рыб методом аллотрансплантации при интоксикации // Гигиена окружающей среды и экология человека / Сборник научных трудов. - Саратов: Изд-во Саратовского медицинского университета, 1999. - С. 58.
 24. Алиновская Ю.Б., Крючков В.Н. Применение лизосомальных белков для оценки резистентности рыб // Белки - маркеры патологических состояний: Матер, межвуз. научн. конф. мол. ученых. -Астрахань, 1999. - С.6-7.
 25. Крючков В.Н., Федорова Н.Н. Морфофункциональное тестирование качества рыбопосадочного материала // Современные средства воспроизводства и использования водных биоресурсов: Сб. тез. на научно-технич. симпозиуме. - СПб.: КСИ, 2000.-С. 6-8.
 26. Ложниченко О.В., Федорова Н.Н., Крючков В.Н., Шипулин С.В., Зайцев В.Ф., Абдулаев М.Ш., Куренкова М.П. Состояние селезенки осетровых рыб на фоне накопления тяжелых металлов // Новое в экологии и безопасности жизнедеятельности: Сб. трудов Международного экологического конгресса / Под. ред. Н.И. Иванова. - СПб.: Балтийский государственный технический университет, 2000.-С. 294.
 27. Krutchkov V., Fedorova K, Hadi M. The quality influence of forage in fish liver during the artificial cultivation // Responsible aquaculture in the new millennium / Abstracts of contributions presented at the International Conference Aqua 2000. - European Aquaculture Society Special Publication No. 28, Oostende, 2000. - P. 351.

28. Крючков В.Н., Федорова Н.Н., Алиновская Ю.Б. Морфология печени и почек карпа после интоксикации кадмием // Тез. докл. V Всероссийской конф. «Нейроэндокринология-2000». - СПб., 2000. - С. 75.
29. Крючков В.Н., Федорова Н.Н., Дубовская А.В. Морфологические критерии адаптации осетра к загрязнению воды // Международная конференция «Осетровые на рубеже 21 века»: Тез. докл. - Астрахань: Изд-во КаспНИРХа, 2000. - С. 157-158.
30. Крючков В.Н., Алиновская Ю.Б. Обратимость некоторых иммунологических показателей карпа после интоксикации кадмием // Вопросы рыболовства, Т. 1, № 2-3, 2000 / Биологические ресурсы окраинных и внутренних морей России и их рациональное использование: Материалы международной конференции. - С. 21-22.
31. Крючков В.Н., Хади М.С., Алиновская Ю.Б. Реакция отторжения аллотрансплантата рыб при интоксикации // Материалы Международной конф., посвященной 70-летию АГТУ. - Астрахань, 2000. - С. 255-258.
32. Крючков В.Н. Патологические и адаптивные изменения в печени и почках карпа под воздействием кадмия // Экологические и функциональные основы адаптации гидробионтов: Тез. докл. симпозиума, посв. 100-летию со дня рождения проф. Н.Л. Гербильского. - СПб., 2000. - С. 65-66.
33. Крючков В.Н., Валедская О.М., Алиновская Ю.Б. Применение иммунофизиологических тестов для оценки резистентности бестера // Вестник АГТУ. Рыбное хозяйство. - Астрахань: Изд-во АГТУ, 2000. - С. 63-68.
34. Крючков В.Н. Морфогенез токсического поражения туловищной почки рыб под влиянием кадмия // Российские морфологические ведомости, № 3-4, 2000. - С. 83-87.
35. Valedskaya O.M., Kruchkov V.N., Nesterova L.A. Immunological methods of assessment of viability of sturgeon juveniles // New species. New technologies / Abstracts of contributions presented at the International Conference Aquaculture Europe 2001, Trondheim, Norway, August 4-7, 2001. - European Aquaculture Society Special Publication No. 29, Oostende, 2001.
36. Крючков В.Н. Реактивно-приспособительные изменения печени рыб после интоксикации кадмием // Материалы X Международного симпозиума «эколого-физиологические проблемы адаптации». - М.: Изд-во РУДН, 2001. - С. 268-269.
37. Зайцев В.Ф., Федорова Н.Н., Крючков В.Н., Ложниченко О.В., Земков Г.В. Патология органов и тканей рыб Волго-Каспийского бассейна в условиях антропогенной деятельности // Наука - производству, № 6 (44), 2001. - С. 27.
38. Зайцев В.Ф., Федорова Н.Н., Крючков В.Н. Структурно-функциональное состояние органов и тканей осетровых рыб Волго-Каспийского региона // Вестник Дагестанского научного центра, 2001, № 11. - С. 34-38.
39. Крючков В.Н. Нефротоксичность кадмия для рыб // Материалы международной научной конференции «Проблемы мониторинга экосистем Каспийского моря». - Махачкала, 2002. - С. 25.
40. Крючков В.Н. Оценка влияния кадмия на иммунную систему рыб // Материалы международной научной конференции «Проблемы мониторинга экосистем Каспийского моря». - Махачкала, 2002. - С. 26.

41. Крючков В.Н., Федорова Н.Н., Зайцев В.Ф. Морфофункциональные критерии адаптации рыб к нефтяному загрязнению // Экологическая токсикология: Подготовка специалистов-биотехнологов; Мониторинг и биологическая реабилитация загрязненных нефтью и нефтепродуктами территорий: Тез. докл. - М.: МАКС Пресс, 2002. - С. 50.
42. Федорова Н.Н., Зайцев В.Ф., Крючков В.Н., Хади С.М. Характер патологических изменений печени некоторых видов рыб // Вестник АГТУ. Экология. - Астрахань: Изд-во АГТУ, 2002. - С. 83-88.
43. Крючков В.Н., Бойко А.В. Изучение механизма нефротоксичности кадмия для рыб // Современные проблемы Каспия: Материалы Междунар. конф., посв. 105-летию КаспНИРХ. - Астрахань: Изд-во КаспНИРХ, 2002. - С. 152-155.
44. Овсянникова Е.В., Фомин И.В., Боброва О.В., Крючков В.Н. Адаптация гидробионтов к действию загрязнителей // Материалы XI Международного симп. «Эколого-физиологические проблемы адаптации». 27-28 янв. 2003 года. - М.: Изд-во РУДН, 2003. - С. 186-187.
45. Боброва О.В., Лепилина И.Н., Крючков В.Н. Морфофункциональные особенности мезонефроса севрюги (*Acipenser stellatus*) в современных экологических условиях // Актуальные проблемы современной науки: Сб. статей 4-й Международной конф. мол. ученых. Ч. II. Экология. - Самара: Изд-во СамГТУ, 2003. - С. 20-23.
46. Фомин И.В., Крючков В.Н. Методы исследования функциональной активности почек рыб // Актуальные проблемы современной науки: Сб. статей 4-й Международной конф. мол. ученых. Ч. II. Экология. - Самара: Изд-во СамГТУ, 2003. - С. 136-139.
47. Крючков В.Н., Фомин И.В. Изучение процессов регенерации печени рыб при экспериментальных токсических и травматических поражениях // Современная наука и проблемы выбора жизненной стратегии человечества. Материалы Международной очно-заочной научной конф., посв. памяти С.Н. Самарцева. — Тула: Изд-во ТулГУ, 2003. - С. 375-378.
48. Крючков В.Н., Абдурахманов Г.М., Федорова Н.Н. Морфология органов и тканей водных животных. - М.: Наука, 2004. - 144 с.

№ 12083

Тип. АГТУ. Зак. 385. Тир. 100
27.05.2004