

УДК 577.1:612.1:616.36:639.2/.3
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2022.3.91

МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ПАТОЛОГИЙ ПЕЧЕНИ У РЫБ

Попова О.С. - к.вет.н., доц. каф. фармакологии и токсикологии (ORCID 0000-0002-0650-0837), Понамарёв В.С. - к.вет.н., асс. каф. фармакологии и токсикологии (ORCID: 0000-0002-6852-3110),

Ключевые слова: рыбы, печень, метаболизм, патология. **Keywords:** fish, liver, metabolism, pathology



РЕФЕРАТ

Метаболический синдром — это комплекс метаболических, гормональных и клинических нарушений. Целью исследований было рассмотреть основные маркеры метаболических нарушений в организме у рыб на модели токсического поражения у данио рерио (20 самцов и 20 самок) данио рерио возрастом 2-3 месяца. Перед началом эксперимента рыбы были разделены на две паритетные группы. Показатели контролировались ежедневно согласно стандартным методикам. Качество среды обитания соответствовало ГОСТ 15.372 – 87, водоизмещение аквариума - 75 литров.

Условия содержания и кормления (измельченный корм Tetra) в опытной группе было аналогичным, однако с целью моделирования токсического поражения печени в среду обитания рыб добавлялся Карбамат МН (Москва) в концентрации 4,5 мг/л в пересчёте по действующему веществу.

На 7-ой день эксперимента у рыб подопытной и контрольной группы проводилась взятие крови из жаберной вены, согласно методике Jill M Murtha (2003), с целью определения биохимических показателей согласно стандартной методики [15,16]. Выявленные в процессе экспериментов количественные показатели проходили обработку с применением комплекса ПО «Statistica 6.0».

Статистически достоверными оказались показатели глюкозы, билирубина и общего белка у отдельных групп. Так содержание глюкозы и холестерина увеличено в два раза у самцов и самок в подопытной группе, по сравнению с контролем. Содержание билирубина выше от максимального допустимого уровня этого показателя (референсные значения) на 16%.

Применение Карбамата МН в токсической дозировке способствовало метаболическим нарушениям, проявившимся изменением показателей белкового (общий белок), жирового (холестерин), углеводного (глюкоза) и пигментного (билирубин) обменов, являющихся предикторами морфо-функционального состояния печени.

ВВЕДЕНИЕ

Метаболический синдром — это комплекс метаболических, гормональных и клинических нарушений [1]. Метаболические заболевания могут передаваться по наследству или приобретаться, причем последний случай является наиболее распространенным и важным. Метаболиче-

ские заболевания клинически важны, потому что они влияют на выработку энергии или повреждают ткани, критически важные для выживания организма [2,3].

Метаболические нарушения у рыб имеют свою специфику. Так, вода, это не только алиментарный путь получения потенциальных токсинов, но и среда оби-

тания. В этом случае нагрузка на барьерные функции возрастает, и профилактика заболеваний становится основополагающей [4].

В литературе часто встречаются данные по интоксикациям рыб не только антропогенного, но и природного характера. Например, то же цветение водорослей. Процесс эвтрофикации и последующее размножение цианобактерий в реках и озерах приводит к увеличению количества вредного цветения водорослей и повышению концентрации токсичных метаболитов в пресноводных водоемах [5]. Опубликованы данные по микроцистину, который является токсичным метаболитом, продуцируемым цианобактериями, часто обнаруживается и может представлять опасность для здоровья важных пресноводных видов, включая рыбу [6].

Согласно литературным источникам процесс [7,8] интоксикации у рыб аналогичен человеческому. Так, в первую очередь поражается печень, где она ингибирует внутриклеточную серин/треониновую протеинфосфатазу [9]. Кроме того, печень активирует транспортеры поглощения, называемые органическими анион-транспортирующими полипептидами, которые активно транспортируются через клеточную мембрану и присутствуют в гепатоцитах и в клетках, выстилающих тонкую кишку. Таким образом, изучение маркеров-предшественников развития метаболического синдрома у рыб особенно актуальны и мало отражены в литературе.

Целью исследований было рассмотреть основные маркеры метаболических нарушений в организме у рыб на модели токсического поражения у данио рерио (зебрафиш).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проводилось на кафедре фармакологии и токсикологии ФГБОУ ВО СПбГУВМ. В качестве объекта исследования использовали 40 особей (20 самцов и 20 самок) данио рерио возрастом 2-3 месяца. Одним из основных критериев включением в эксперимент являлась длина тела до конца чешуйного покрова (25-

30 мм).

Перед началом эксперимента рыбы были разделены на две паритетные группы. Для первой группы (контрольной) были определены следующие условия содержания: температура воды - 21-22 °С, содержание кислорода не менее 9,0 мг/л, общая жесткость воды - 3,5-3,7 экв/л, водородный показатель - 7,5-7,6. Показатели контролировались ежедневно согласно стандартным методикам. Качество среды обитания соответствовало ГОСТ 15.372 - 87, водоизмещение аквариума - 75 литров [10,11].

Условия содержания и кормления (измельченный корм Tetra) в опытной группе было аналогичным, однако с целью моделирования токсического поражения печени в среду обитания рыб добавлялся аналог реактива S-этил-N-гексаметилендиоккарбамата - N,N-диметилдидиокарбамат натрия (Карбамат МН, Москва) в концентрации 4,5 мг/л в пересчете по действующему веществу [12].

На 7-ой день эксперимента у рыб опытной и контрольной группы проводилась взятие крови из жаберной вены, согласно методике Jill M Murtha (2003) [13,14], с целью определения биохимических показателей согласно стандартной методики [15,16].

Выявленные в процессе экспериментов количественные показатели проходили обработку с применением комплекса ПО «Statistica 6.0». Данные обозначаются как средний показатель «X», стандартная погрешность среднего показателя - «m». Достоверность различий между сериями выявляли посредством t-критерия Стьюдента [17].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В результате проведенных экспериментов, основываясь на методике создания модельного токсического поражения печени, за счет введения в воду аквариума S-этил-N-гексаметилендиоккарбамата, нами были установлены следующие результаты. Так, при взятии крови для исследования, провели оценку основных показатели для диагностики метаболиче-

Таблица 1.

Биохимические показатели крови рыб на 7 сут. интоксикации с помощью Карбамата МН

Показатель	Контроль-ная группа (самцы)	Контроль-ная группа (самки)	Подопыт-ная груп-па (самцы)	Под-опытна я груп-па (самки)	Референсные значения
Общий бе-лок, г/л	15,1 ± 0,42	14,8 ± 0,3	31,1 ± 0,22*	34,2 ± 0,34*	10-30
Глюкоза, ммоль/л	2,24 ± 0,16	2,72 ± 0,21	4,17 ± 0,06*	5,34 ± 0,38*	1,5-4,0
Мочевина, ммоль/л	4,87 ± 0,2	3,62 ± 0,14	4,21 ± 0,3	3,28 ± 0,11	1,83- 6,2
Креатинин, мкмоль/л	0,41 ± 0,05	0,52 ± 0,07	0,43 ± 0,07	0,49 ± 0,03	0,27-0,8
Билирубин, мкмоль/л	16,31 ± 0,73	21,15 ± 0,52	38,11 ± 0,52*	42,03 ± 0,39*	12,0-36,0
Холестерин, ммоль/л	2,4 ± 0,1	2,11 ± 0,05	4,1 ± 0,2*	4,03 ± 0,02*	1,94-3,9
Фосфор, ммоль/л	5,0 ± 0,07	5,34 ± 0,12	3,6 ± 0,11	3,72 ± 0,04	0,4- 9,6

* — достоверные отличия от контроля ($p < 0.05$)

ского синдрома. Данные представлены в таблице 1.

Статистически достоверными оказались показатели глюкозы, билирубина и общего белка у отдельных групп. Так содержание глюкозы и холестерина увеличено в два раза у самцов и самок в подопытной группе, по сравнению с контролем. Содержание билирубина выше от максимального допустимого уровня этого показателя (референсные значения) на 16%.

Анализируя представленные данные можно сделать вывод, что биохимические показатели сыворотки крови рыб у самцов и самок не имели статистически значимых различий в однотипных группах. При этом, как видно из представленной таблицы, применение Карбамата МН в токсической дозировке способствовало метаболическим нарушениям, проявлявшимся изменением показателей белкового (общий белок), жирового (холестерин), углеводного (глюкоза) и пигментного (билирубин) обменов, являющихся предикторами морфо-функционального состояния печени.

Таким образом, именно изменение данных показателей относительно референсных интервалов следует рассматривать как метаболические маркеры патологий печени у рыб. Дальнейшие исследования требуют подтверждения с помощью морфологических способов исследования с анализом современных методов статистики.

ВЫВОДЫ

Одной из основных проблем в решении вопросов профилактики и лечения гепатопатий у рыб является отсутствие релевантной диагностической базы для своевременного выявления данного типа патологий. Большинство болезней печени проходят латентно или с неспецифической симптоматикой при стремительном развитии патологических процессов, в то время как клинико-биохимические проявления хоть и являются в высшей степени вариативными для дальнейшей дифференцировки патологии, но в то же время считаются самыми перспективными и легковоспроизводимыми.

Предупреждение и своевременная диа-

гностика патологий в рыбоводстве является актуальной проблемой реализации стратегий развития отечественной аквакультуры. Самым эффективным способом предупреждения и диагностики патологий является приближение условий производства к физиологичным для рыбы, даже в условиях антропогенного загрязнения мировой акватории. Продукция, выращенная в подобных условиях, будет иметь высокую резистентность и превосходящие пищевые качества. Для обеспечения физиологичных условий необходимо знать фундаментальные особенности физиологии и патофизиологии рыб, а также механизмы развития типичных патофизиологических процессов в условиях возрастающей антропогенной нагрузки.

METABOLIC MARKERS OF LIVER PATHOLOGIES IN FISH.

Popova O. S.-PhD of Veterinary Sciences, Associate Professor of the Department of Pharmacology and Toxicology, Ponamarev V.S., PhD of Veterinary Sciences, assistant of the Department of Pharmacology and Toxicology, Department of Pharmacology and Toxicology (ORCID: 0000-0002-6852-3110), Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education SPbSUVM (ORCID: 0000-0002-6852-3110).

ABSTRACT

Metabolic syndrome is a complex of metabolic, hormonal and clinical disorders. The aim of the research was to consider the main markers of metabolic disorders in the body in fish on a model of toxic damage in zebrafish (20 males and 20 females) zebrafish aged 2-3 months. Before the start of the experiment, the fish were divided into two parity groups. Indicators were monitored daily according to standard methods. The quality of the habitat corresponded to GOST 15.372 - 87, the displacement of the aquarium was 75 liters.

The conditions of keeping and feeding (crushed Tetra food) in the experimental group were similar, however, in order to simulate toxic liver damage, Carbamate MN (Moscow) was added to the fish habitat at a concentration of 4.5 mg/l in terms of the active substance.

On the 7th day of the experiment, blood was taken from the gill vein in the fish of the experimental and control groups, according to the method of Jill M Murtha (2003), in order to determine biochemical parameters according to the standard method [15,16]. The quantitative indicators revealed during the experiments were processed using the Statistica 6.0 software package.

Statistically significant were the indicators of glucose, bilirubin and total protein in individual groups. So the content of glucose and cholesterol is doubled in males and females in the experimental group, compared with the control. The content of bilirubin is higher than the maximum allowable level of this indicator (reference values) by 16%.

The use of Carbamate MN in a toxic dosage contributed to metabolic disorders, manifested by a change in the parameters of protein (total protein), fat (cholesterol), carbohydrate (glucose) and pigment (bilirubin) metabolism, which are predictors of the morpho-functional state of the liver.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

- 1.Rajabova, G. H. Metabolic syndrome: methods of prevention and treatment / G. H. Rajabova, M. N. Badritdinova, K. Sh. Dzhumaev // *Biology and Integrative Medicine*. – 2020. – No 5(45). – P. 28-42. – EDN EKAFFVU.
- 2.Petrenko, V.I. Morphological changes in the liver and intestine in the experimental metabolic syndrome in rats / V. I. Petrenko, Yu. S. Saenko, A. S. K. Khalilova [et al.] // *Medical News of North Caucasus*. – 2022. – Vol. 17. – No 2. – P. 183-188. – DOI 10.14300/mnnc.2022.17044. – EDN SCJALB.
- 3.Biek, A.Yi. Non-alcoholic fatty liver disease in comorbidity with pathology of metabolic syndrome / A. Yu. Biek, R. M. Suleimenova, R. R. Alimova [et al.] // *Фундаментальные и прикладные проблемы здоровьесбережения человека на Севере: Сборник статей IV Всероссийской научно-практической конференции, Сургут, 25 октября 2019 года*. – Сургут: Сургутский государственный университет, 2019. – P. 305-308. – EDN RDUECT.
- 4.Попова, О. С. Роль свободнорадикальных реакций в патогенезе заболеваний пищеварительного тракта рыб / О. С. Попова, В. С. Понамарев, Л. А. Агафонова // *Иппология и ветеринария*.

- нария. – 2022. – № 2(44). – С. 111-116. – EDN ATWNFJ.
- 5.Осепчук, Д.В. Проблема возникновения заболеваний печени осетровых рыб и обязательный мониторинг гидрохимических показателей воды / Д. В. Осепчук, Н. А. Юрина, Е. А. Максим [и др.] // Наука XXI века: проблемы, перспективы и актуальные вопросы развития общества, образования и науки : материалы международной межвузовской весенней научно-практической конференции, пос. Яблоновский, 20 марта 2020 года. – пос. Яблоновский: ФГБУ "Российское энергетическое агентство" Минэнерго России Краснодарский ЦНТИ-филиал ФГБУ "РЭА" Минэнерго России, 2020. – С. 266-270. – EDN UJLIOB.
- 6.Rodrigues, N. B., Pitol, D. L., Tocchini de Figueiredo, F. A., Tenfen Das Chagas Lima, A. C., Henry, T. B., Mardegan Issa, J. P., de Aragão Umbuzeiro, G., & Pereira, B. F. (2022). Microcystin-LR at sublethal concentrations induce rapid morphology of liver and muscle tissues in the fish species *Astyanax altiparanae* (Lambari). *Toxicon*, 211, 70-78. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2022.03.006>
- 7.Грушко, М. П. Печень как орган биотестирования здоровья ранней молоди рыб / М. П. Грушко, Н. Ю. Терпугова, Н. Н. Федорова // Биологическое разнообразие Кавказа и Юга России: уровни, подходы, состояние изученности : Коллективная монография по материалам XXII Международной научной конференции «Биологическое разнообразие Кавказа и Юга России», Грозный, 04–06 ноября 2020 года / Комплексный научно-исследовательский институт им. Х.И. Ибрагимова РАН. – Махачкала: Общество с ограниченной ответственностью "АЛЕФ", 2020. – С. 155-163. – EDN XJSVFL.
- 8.Патент № 2386342 С1 Российская Федерация, МПК А23К 1/00, А23К 1/16, А23К 1/22. Корм для профилактики метаболических нарушений, усиления иммунитета и гепатопротекторной функции у сельскохозяйственных, домашних животных, птицы и рыб : № 2008149764/13 : заявл. 17.12.2008 : опубл. 20.04.2010 / М. А. Малков, Т. В. Данькова. – EDN ПЗЗНВ.
- 9.Kozdęba M. et al. Microcystin-LR affects properties of human epidermal skin cells crucial for regenerative processes // *Toxicon*. – 2014. – Т. 80. – С. 38-46.
- 10.Желтова, О. М. Организация исследовательского поведения данио рерио (*Danio rerio* (Hamilton 1822), Cyprinidae) в лабиринте / О. М. Желтова, В. А. Непомнящих // Зоологический журнал. – 2019. – Т. 98. – № 2. – С. 175-181. – DOI 10.1134/S004451341902020X. – EDN YWYGAN.
- 11.Возможность использования биологической модели пресноводной рыбы данио рерио в доклинических исследованиях / А. В. Зуб, В. Л. Загребин, И. А. Дворяшина, А. В. Терентьев // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. – 2020. – № 1 (73). – С. 10-13. – DOI 10.19163/1994-9480-2020-1(73)-10-13. – EDN WDMDKY.
- 12.Земков, Г. В. Морфофункциональные критерии толерантности рыб при кумулятивном токсикозе : специальность 03.00.16 : диссертация на соискание ученой степени доктора биологических наук / Земков Герман Вениаминович. – Астрахань, 2003. – 199 с. – EDN NOENNH.
- 13.Усов М. М. Морфология и физиология рыб: лабораторный практикум, учебное пособие. Горки: БГСХА, 2017.
- 14.Murtha JM, Qi W, Keller ET. Hematologic and serum biochemical values for zebrafish (*Danio rerio*). *Comp Med*. 2003 Feb;53(1):37-41.
- 15.Беленовская, О.С. Биохимия печени и лабораторная оценка ее физиолого-биохимического состояния : учебно-методическое пособие / О. С. Беленовская, А. А. Лисицына, Л. Ю. Карпенко, А. А. Бахта. – Санкт-Петербург : Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины, 2014. – 116 с. – EDN VNEEQL.
- 16.Васильева, С. В. Биологическая химия : Учебник / С. В. Васильева, Л. Ю. Карпенко. – Санкт-Петербург : Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины, 2021. – 304 с. – EDN NTEHJ.
- 17.Плавинский Святослав Леонидович. Биостатистика : планирование, обработка и представление результатов биомедицинских исследований при помощи системы SAS / Плавинский Святослав Леонидович ; С. Л. Плавинский. – Санкт-Петербург : Издат. дом СПбМАПО, 2005. – 559 с. – ISBN 5-98037-053-6. – EDN QKRIBH.