

УДК 577.1:612.1:616.36:639.2/.3  
DOI 10.52419/issn2072-2419.2022.4.159

## ОЦЕНКА ВЫЖИВЯЕМОСТИ РЫБ В КИСЛОЙ СРЕДЕ ПОД ДЕЙСТВИЕМ УРСОДЕЗОКСИХОЛИЕВОЙ КИСОТЫ

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)  
ФГБОУ ВО СПбГУВМ

**Ключевые слова:** рыбы, токсичность, кислая среда, выживаемость, урсодезоксихолиевая кислота.

**Keywords:** fish, toxicity, acidic environment, survival, ursodeoxycholic acid



### РЕФЕРАТ

В современной литературе имеется достаточное количество данных о влиянии сельскохозяйственной деятельности, включая животноводство, растениеводство и рыбоводство, которое может влиять на физико-химические и биологические характеристики пресных озер. Однако последствия загрязнения, производимого сельскохозяйственной деятельностью, для микробной экосистемы озер остаются неясными.

Большинство токсинов обладают гепатотоксичностью, поэтому поражения гепатобилиарной системы встречаются достаточно часто у рыб всех видов. В зависимости от степени токсичности яда, степень поражения может проявляться как в виде массивного некроза гепатоцитов с развитием острой печеночной недостаточности, так и в форме хронической интоксикации с постепенным нарастанием дегенеративных процессов в печени.

Для оценки эффективности введения новых лекарственных средств для рыб, необходимо сначала исследовать в лабораторных условиях токсичность фармацевтических субстанций, которые будут введены в референтный препарат. Так, одним из известных препаратов -гепатопротекторов является урсодезоксихолиевая кислота (УДХК), которая бывает двух видов- синтетическая и экстракционная. Не зависимо от своей природы, лекарственное средство является уникальным по своей фармакокинетической активности как в ветеринарии, так и медицине.

В настоящий момент аква- и марикультура испытывает колоссальную потребность в современных лекарственных препаратах для фармакокоррекции патологий неинфекционной этиологии, обладающих комплексностью и универсальным интегральным фармакологическим ответом. Тем не менее, данная область проектирования лекарственных композиций сопряжена со значительными трудностями в связи с нестандартностью среды обитания целевых животных по сравнению с классическими.

Исследования в данной области позволяют разрабатывать новые методологические подходы к дизайну функциональных фармацевтических субстанций.

### ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

В современной литературе имеется достаточное количество данных о влиянии сельскохозяйственной деятельности,

включая животноводство, растениеводство и рыбоводство, которое может влиять на физико-химические и биологические характеристики пресных озер [1,2].

Однако последствия загрязнения, производимого сельскохозяйственной деятельностью, для микробной экосистемы озер остаются неясными. К основным причинам закисления водоемов относят: большое количество углекислого газа, кислотные дожди и токсичные сбросы. Так, же причинами антропогенного воздействия могут быть сточные воды, промышленные предприятия, химизация сельхозугодий, судоходство. Так ненадлежащее внесение удобрений потенцирует процессы эвтрофикации, что так же может негативно повлиять на биоразнообразие водоемов. В свою очередь эвтрофикация является причиной токсического поражения и гибели рыб [3].

Большинство токсинов обладают гепатотоксичностью [4], поэтому поражения гепатобилиарной системы встречаются достаточно часто у рыб всех видов. В зависимости от степени токсичности яда, степень поражения может проявляется как в виде массивного некроза гепатоцитов с развитием острой печеночной недостаточности, так и в форме хронической интоксикации с постепенным нарастанием дегенеративных процессов в печени [5,6].

Для оценки эффективности введения новых лекарственных средств для рыб, необходимо сначала исследовать в лабораторных условиях токсичность фармацевтических субстанций, которые будут введены в референтный препарат [7]. Так, одним из известных препаратов - гепатопротекторов является урсодезоксихолиевая кислота (УДХК), которая бывает двух видов- синтетическая и экстракционная [8]. Не зависимо от своей природы, лекарственное средство является уникальным по своей фармакокинетической активности как в ветеринарии, так и медицине.

Цель исследования- оценить выживаемость рыб в кислой среде под действием УДХК, и провести анализ токсичности фармацевтической субстанции для гидробионтов.

#### **МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ / MATERIALS AND METHOD**

Исследование проводилось на кафедре фармакологии и токсикологии ФГБОУ ВО СПбГУВМ. В качестве объекта исследования использовали 20 особей (10 самцов и 10 самок) данио рерио возрастом 2-3 месяца. Одним из основных критериев включением в эксперимент являлась длина тела до конца чешуйного покрова ( $2,0 \pm 1,0$  см). Перед началом эксперимента рыбы были разделены на две паритетные группы. Для первой группы (контрольной) были определены следующие условия содержания: температура воды-  $21-22^\circ\text{C}$  (с помощью термометра жидкокристаллического, производитель- «Naribo», Китай), содержание кислорода не менее  $9,0$  мг/л (оценивали с помощью портативного оксиметра Ezodo 7031, производитель -«Термолаб», Россия), общая жёсткость воды -  $3,5-3,7$  экв/л (использовали TDS&EC-метр, производитель- «Lizi, Китай), водородный показатель -  $7,5-7,6$  [9]. Показатели контролировались ежедневно согласно стандартным методикам. Качество среды обитания соответствовало ГОСТ 15.372 – 87, водоизмещение аквариума 50 литров.

Подопытная группа содержалась в эквивалентных условиях, однако в аквариум добавлялась урсодезоксихолиевая кислота в виде порошка (производитель Abs farmaceutici Spa, Италия) для оценки влияния образующихся в процессе её растворения водородных ионов и недиссоциированных молекул на организм рыб в соответствии с ГОСТ 32644-2014 «Методы испытания по воздействию химической продукции на организм человека. Острая пероральная токсичность - метод определения класса острой токсичности». В связи с ограниченной растворимостью исследуемого вещества, нами была использована максимально возможная растворимая концентрация-  $20$  мг/л. Урсодезоксихолиевая кислота ежедневно дополнительно добавлялась в аквариум до появления нерастворимого осадка с целью поддержания постоянной концентрации.

Ежедневно в аквариуме замерялся уровень водородных ионов с использованием тест-полосок JBL PROAQUATEST (JBL,

Германия) с пределом измерения pH 3.10-10.0 для контроля выживаемости рыб в подобных условиях.

Эксперимент проводился согласно «Европейской Конвенции по защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных и других научных целях», принятой в Страсбурге в 1987 году, а также в соответствии с Директивой 2010/63 / ЕС [10,11].

Выявленные в процессе экспериментов количественные показатели проходили обработку с применением комплекса ПО «Statistica 6.0». По результатам эксперимента была построена кривая выживаемости Каплана-Мейера по стандартным методикам [12,13].

## РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

В результате эксперимента, после внесения УДХК в максимально допустимой растворимой концентрации 20 мг/л, были получены данные по pH, и выживаемости групп с кислотой и без нее (контрольная и подопытные группы). Несмотря на то, что pH среды для данного вида рыб не выходил за пределы зон выживаемости, на 21 день эксперимента нами была зафиксирована гибель 5 особей в подопытной группе. Результаты эксперимента представлены на рисунке.

Данная гибель рыб, вероятно связана с тем, что урсодезоксихолиевая кислота в жидкой среде в максимальной концентрации подвергается кислотному катализу, в результате чего образуются диссоцииро-

ванные кислотные молекулы, которые, взаимодействуя с недиссоциированными молекулами воды, вызывают у рыб образование токсичных метаболитов в виде свободных радикалов, следовательно, моделирование лекарственных препаратов на основе урсодезоксихолиевой кислоты в виде порошка будет сопряжено со снижением выживаемости среди рыб, что делает данную лекарственную форму малоперспективной.

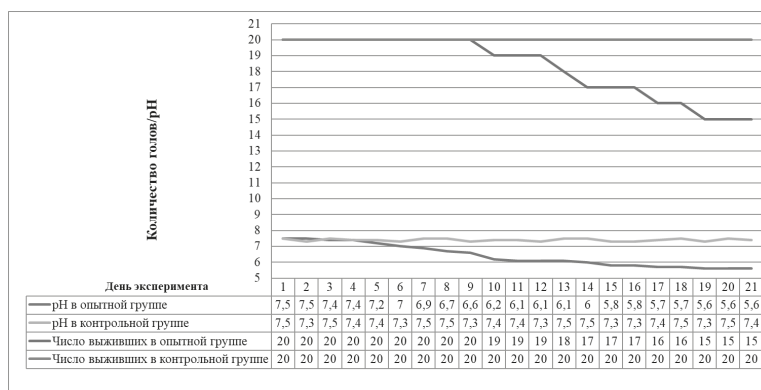
## ВЫВОДЫ / CONCLUSION

При проведении экспериментов на рыбах, как на универсальных биологических объектах, установлена токсичность сотен и тысяч химических соединений, число которых неуклонно растет.

В настоящий момент аква- и марикультура испытывает колоссальную потребность в современных лекарственных препаратах для фармакокоррекции патологий неинфекционной этиологии, обладающих комплексностью и универсальным интегральным фармакологическим ответом. Тем не менее, данная область проектирования лекарственных композиций сопряжена со значительными трудностями в связи с нестандартностью среды обитания целевых животных по сравнению с классическими.

Исследования в данной области позволяют разрабатывать новые методологические подходы к дизайну функциональных фармацевтических субстанций.

## EVALUATION OF THE SURVIVAL OF



Кривая выживаемости Каплана-Мейера в течение 21 дня под действием УДХК в концентрации 20 мг/л

**FISH IN ACID ENVIRONMENT UNDER THE ACTION OF URSODEOXYCHOLIC ACID**

**Ponamarev V.S., PhD of veterinary science, Assistant Professor; Popova O.S.- PhD of veterinary science, Associate Professor**

**ABSTRACT**

Currently, there is a sufficient amount of data on agricultural activities, including livestock, animal husbandry and fish farming, which can affect the physico-chemical and biological characteristics of freshwater lakes. However, the consequences of infection, contamination by agricultural activities, on the microbial ecosystem have been unclear.

Most toxins are hepatotoxic, so the hepatobiliary system is quite common in fish of all species. Depending on the degree of toxicity of the poison, the severity of the manifestation can manifest itself in the form of massive necrosis of hepatocytes with obvious acute liver failure, and in the form of chronic intoxication with a gradual increase in degenerative processes in the liver.

To assess the effectiveness of medicinal products for fish, a first test in the laboratory of the toxicity of pharmaceutical substances that are introduced into the reference preparation is necessary. So, because of diseases - hepatoprotectors is ursodeoxycholic acid (UDCA), which can be of two types - synthetic and extraction. Regardless of its nature, the drug has a place in its pharmacokinetic activity in both veterinary medicine and medicine.

At the moment, aqua and mariculture has a colossal dose in modern drugs for pharmacocorrection of pathological non-infectious etiology, which have complexity and a universal integral pharmacological response. However, the discovery of the area of discovery of medicinal compositions occurs due to the non-standard habitat of natural resources compared to classical ones.

Research in this area involves the use of new methodological approaches to the design of functional pharmaceutical substances.

**СПИСОК ИСТОЧНИКОВ**

1. Карпенко, Л.Ю. Анализ кратковременного воздействия тяжелых металлов

на белковый обмен у карпа / Л. Ю. Карпенко, П. А. Полистовская, А. И. Енукашвили, К. П. Иванова // Международный вестник ветеринарии. – 2020. – № 4. – С. 145-149. – DOI 10.17238/issn2072-2419.2020.4.145. – EDN TFYHGL.

2. Полистовская, П. А. Тяжелые металлы в водной экосистеме и их влияние на рыб / П. А. Полистовская, Л. Ю. Карпенко, А. А. Бахта. – Санкт-Петербург : Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины, 2022. – 88 с. – EDN VMICIC.

3. Быстрова, А.А. Микробиологические показатели воды в прибрежных районах Финского залива / А. А. Быстрова, Л. А. Лукьянова, К. Е. Воронов, А. А. Зорина // Международный вестник ветеринарии. – 2019. – № 2. – С. 81-86. – EDN DWIKEC.

4. Андреева, Н. Л. Влияние Гепатона на ректальную температуру и длительность гексеналового сна / Н. Л. Андреева, В. С. Понамарев, М. С. Голодяева // Международный вестник ветеринарии. – 2019. – № 3. – С. 44-47. – EDN QECZDY.

5. Kalugniy, I.I. Diagnosis of hepatopathy in Holstein cattle with metabolic disorders / I. I. Kalugniy, D. S. Markova, A. V. Yashin [et al.] // IOP conference series: earth and environmental science : Agriculture, field cultivation, animal husbandry, forestry and agricultural products – Smolensk, 2021. – P. 022029. – EDN SCVJUA.

6. Stepanov, I.I. Development and application of new methods of correction and prevention of metabolic diseases in Holstein cattle / I. S. Stepanov, I. I. Kalugniy, D. S. Markova [et al.] // IOP conference series: earth and environmental science : Agriculture, field cultivation, animal husbandry, forestry and agricultural products– Smolensk, 2021. – P. 022030. – DOI 10.1088/1755-1315/723/2/022030. – EDN UATWYH.

7. Попова, О. С. Особенности метаболизма желчных кислот у рыб / О. С. Попова, Л. А. Агафонова // Международный вестник ветеринарии. – 2022. – № 1. – С. 61-65. – DOI 10.52419/issn2072-2419.2022.1.61. – EDN OJMMHT.

8. Веселова, Е. Н. Место урсодезоксихолевой кислоты в современной гепатологии / Е. Н. Веселова, Е. Е. Алексеев, Л. С. Мкртчян // Медицинский вестник Юга России. – 2012. – № 1. – С. 36-39. – EDN OTWSJH.
  9. Юрин, Д.А. Оптимизация гидрохимических показателей воды и условий содержания остероных рыб / Д. А. Юрин, Н. А. Юрина, Е. А. Максим [и др.] // Международный научно-исследовательский журнал. – 2021. – № 1-2(103). – С. 155-159. – DOI 10.23670/IRJ.2021.103.1.053. – EDN VXJHAE.
  10. Европейская конвенция по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей // Вопросы реконструктивной и пластической хирургии. – 2008. – № 1 (24). – С. 23-40. – EDN JWBILN.
  11. Липатов, В.А. Этические и правовые аспекты проведения экспериментальных биомедицинских исследований in vivo. Часть II / В. А. Липатов, Д. А. Северинов, А. А. Крюков, А. Р. Саакян // Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова. – 2019. – Т. 27. – № 2. – С. 245-257. – DOI 10.23888/PAVLOVJ2019272245-257. – EDN GIEJQL.
  12. Тимонин, В. И. Оценки Каплана-Мейера в статистиках типа Колмогорова-Смирнова при проверке гипотез в испытаниях с переменной нагрузкой / В. И. Тимонин, М. А. Ермолаева // Электромагнитные волны и электронные системы. – 2010. – Т. 15. – № 7. – С. 18-26. – EDN NURATZ.
  13. Миночкин, П.И. Изучение выживаемости новорожденных детей с полиорганной недостаточностью методом множительных оценок Каплана-Мейера / П. И. Миночкин, Д. К. Волосников, В. А. Просеков [и др.] // Вестник Уральской медицинской академической науки. – 2013. – № 4(46). – С. 117-119. – EDN RUGZBZ.
- REFERENCES**
1. Karpenko, L.Yu. Analysis of the short-term impact of heavy metals on protein metabolism in carp / L. Yu. Karpenko, P. A. Polistovskaya, A. I. Enukashvili, K. P. Ivanova // International Veterinary Bulletin. – 2020. – No. 4. – P. 145-149. – DOI 10.17238/issn2072-2419.2020.4.145. – EDN TIFYHGL. [in Russ.]
  2. Polistovskaya, P.A. Heavy metals in the water ecosystem and their impact on fish / P.A. Polistovskaya, L.Yu. Karpenko, A.A. Bakhta. - St. Petersburg: St. Petersburg State University of Veterinary Medicine, 2022. - 88 p. – EDN VMICIC. [in Russ.]
  3. Bystrova, A.A. Microbiological indicators of water in the coastal areas of the Gulf of Finland / A. A. Bystrova, L. A. Lukoyanova, K. E. Voronov, A. A. Zorina // International Veterinary Bulletin. - 2019. - No. 2. - P. 81-86. -EDN DWIKEC. [in Russ.]
  4. Andreeva, N. L. Influence of Hepaton on rectal temperature and duration of hexenal sleep / N. L. Andreeva, V. S. Ponamarev, M. S. Golodyaeva // International Veterinary Bulletin. - 2019. - No. 3. - P. 44-47. – EDN QECZDY. [in Russ.]
  5. Kalugniy II, Markova DS, Yashin AV. [et al.] Diagnosis of hepatopathy in Holstein cattle with metabolic disorders In: IOP conference series: earth and environmental science : Agriculture, field cultivation, animal husbandry, forestry and agricultural products Smolensk: [publisher unknown]; 2021. p. 022029.
  6. Stepanov, I.I. Development and application of new methods of correction and prevention of metabolic diseases in Holstein cattle / I. S. Stepanov, I. I. Kalugniy, D. S. Markova [et al.] // IOP conference series: earth and environmental science : Agriculture, field cultivation, animal husbandry, forestry and agricultural products– Smolensk, 2021. – P. 022030. – DOI 10.1088/1755-1315/723/2/022030. – EDN UATWYH.
  7. Popova, O. S., Agafonova, L. A. Features of the metabolism of bile acids in fishes // International Veterinary Bulletin. - 2022. - No. 1. - P. 61-65. – DOI 10.52419/issn2072-2419.2022.1.61. – EDN OJMMHT. [in Russ.]
  8. Veselova, E. N. Place of ursodeoxycholic acid in modern hepatology / E. N.

- Veselova, E. E. Alekseev, L. S. Mkrtchyan // Medical Bulletin of the South of Russia. - 2012. - No. 1. - P. 36-39. – EDN OTWSJH. [in Russ.]
9. Yurin, D.A. Yurin D.A., Yurina N.A., Maksim E.A. [et al.] Optimization of hydrochemical indicators of water and conditions for keeping Oster fishes // International Scientific Research Journal. - 2021. - No. 1-2 (103). - S. 155-159. – DOI 10.23670/IRJ.2021.103.1.053. – EDN VXJHAE. [in Russ.]
10. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes // Issues of Reconstructive and Plastic Surgery. - 2008. - No. 1 (24). - S. 23-40. – EDN JWBILN. [in Russ.]
11. Lipatov, V.A. Ethical and legal aspects of conducting experimental biomedical research in vivo. Part II / V. A. Lipatov, D. A. Severinov, A. A. Kryukov, A. R. Saakyan // Russian Medical and Biological Bulletin named after Academician I.P. Pavlova. - 2019. - T. 27. - No. 2. - S. 245-257. – DOI 10.23888/PAVLOVJ2019272245-257. – EDN GIEJQL. [in Russ.]
12. Timonin, V. I. Estimates of Kaplan-Meier in statistics of the Kolmogorov-Smirnov type in testing hypotheses in tests with variable load / V. I. Timonin, M. A. Ermolaeva // Electromagnetic waves and electronic systems. - 2010. - T. 15. - No. 7. - S. 18-26. – EDN NURATZ. [in Russ.]
13. Minochkin, P.I. The study of the survival of newborns with multiple organ failure by the Kaplan-Meier method of multiplier estimates / P. I. Minochkin, D. K. Volosnikov, V. A. Prosekov [et al.] // Bulletin of the Ural Medical Academic Science. - 2013. - No. 4 (46). - S. 117-119. – EDN RUGZBZ. [in Russ.]