

DOI 10.31029/vestdnc99/2

УДК 57.044:[57.017.32]

**ВЛИЯНИЕ МЕТИЛЕНОВОГО СИНЕГО НА МИКРОБИОТУ КИШЕЧНИКА,
УРОВНИ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ИММУННОГО СТАТУСА
И ОБМЕНА ВЕЩЕСТВ У КАРПА ОБЫКНОВЕННОГО
(*CYPRINUS CARPIO*)**

Н. А. Стрельников¹, ORCID: 0000-0002-0781-7713

Е. В. Семенова¹, ORCID: 0000-0003-3675-5467

Е. В. Михайлов¹, ORCID: 0000-0001-5457-1325

Ю. В. Шапошникова², ORCID: 0000-0002-8373-6544

У. Д. Зурхаева³, ORCID: 0009-0007-9328-2850

З. С. Курбанова³, ORCID: 0009-0007-9328-2850

¹Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии, Воронеж, Россия,

²Воронежский государственный аграрный университет имени императора Петра I, Воронеж, Россия,

³Прикаспийский институт биологических ресурсов Дагестанского федерального исследовательского центра РАН, Махачкала, Россия

**EFFECT OF METHYLENE BLUE ON INTESTINAL MICROBIOTA,
LEVELS OF EXPRESSION OF GENES OF IMMUNE STATUS
AND METABOLISM IN COMMON CARP (*CYPRINUS CARPIO*)**

N. A. Strelnikov¹, ORCID: 0000-0002-0781-7713

E. V. Semenova¹, ORCID: 0000-0003-3675-5467

E. V. Mikhailov¹, ORCID: 0000-0001-5457-1325

Y. V. Shaposhnikova², ORCID: 0000-0002-8373-6544

U. D. Zurkhaeva³, ORCID 0009-0007-9328-2850

Z. S. Kurbanova³, ORCID 0009-0007-9328-2850

¹All-Russian Research Veterinary Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy, Voronezh, Russia,

²Voronezh State Agrarian University named after Emperor Peter I, Voronezh, Russia,

³Precaspian Institute of Biological Resources of the Daghestan Federal Research Centre of the of RAS, Makhachkala, Russia

Аннотация. В статье представлены результаты исследования экспрессии генов про- и противовоспалительных цитокинов и обмена веществ в печени и кишечнике карпа обыкновенного, а также исследований гистологии исследуемых органов, биохимических показателей крови и микробного пейзажа кишечника. Цель исследования заключалась в изучении вышеописанных сфер исследований у карпа обыкновенного при применении метиленового синего. Для исследования использовали печень, кишечник и кровь карпа обыкновенного. Карп обыкновенный содержался в аквариумах объемом 500 л. Метиленовый синий (МС) добавляли в концентрации 1 мг на 1 литр воды. Для контроля использовали аналогичный аквариум с водой без добавления МС. Рыб инкубировали в аквариуме в течение 7 дней. Проведенные гистологические, гематологические, молекулярно-генетические исследования, а также изучение микробного пейзажа показывают, что метиленовый синий предотвращает токсическое повреждение печени, стабилизирует клеточные мембраны и поддерживает метаболическую функцию гепатоцитов. МС в использованной дозе не вызывает иммуносупрессии, а также способствует минимизации и регуляции воспалительных процессов, эффективно снижает оксидативный стресс и поддерживает гомеостаз печени. Нормализуются процессы липогенеза, гидролиза триглицеридов и β -окисления жирных кислот, а также процессы иммунного ответа, в частности гуморального. Метиленовый синий при краткосрочном применении обладает многокомпонентным защитным действием. Данная работа помогает в построении целостной картины влияния метиленового синего в корректных дозировках на иммунную систему рыб.

Abstract. The article presents the results of a study on the expression of genes related to pro- and anti-inflammatory cytokines and metabolism in the liver and intestine of the common carp (*Cyprinus carpio*), along with histological examinations of these organs, blood biochemical parameters, and the intestinal microbial profile. The aim of the research was to investigate the aforementioned parameters in common carp following the application of methylene blue. Liver, intestinal, and blood samples from common carp were used for the study. The fish were maintained in 500-liter aquariums. Methylene blue (MB) was added at a concentration of 1 mg per liter of water. A control aquarium with water without MB addition was used for comparison. The fish

were incubated in the aquarium for 7 days. The conducted histological, hematological, molecular genetic analyses, and study of the microbial profile demonstrate that methylene blue prevents toxic liver damage, stabilizes cell membranes, and supports the metabolic function of hepatocytes. Furthermore, at the administered dose, MB does not cause immunosuppression but rather helps minimize and regulate inflammatory processes, effectively reduces oxidative stress, and maintains liver homeostasis. It also normalizes the processes of lipogenesis, triglyceride hydrolysis, and β -oxidation of fatty acids, as well as immune response processes, particularly the humoral response. In conclusion, short-term application of methylene blue exerts a multi-component protective effect. This work contributes to building a comprehensive understanding of the impact of correctly dosed methylene blue on the immune system of fish.

Ключевые слова: экспрессия генов, цитокины, иммунная система, карп обыкновенный, печень, кишечник, микробный пейзаж, гистология.

Keywords: expression of genes, cytokines, immune system, ordinary carp, liver, intestines, microbial landscape, histology.

Введение

Аквакультура является одним из наиболее быстрорастущих секторов мирового сельского хозяйства, обеспечивая более 50% потребляемой человеком рыбы [1]. Однако интенсивное рыбоводство сопряжено с повышенным риском заболеваний, вызванных бактериальными, вирусными и грибковыми инфекциями. В связи с этим особое внимание уделяется разработке безопасных и эффективных методов профилактики и лечения, среди которых применение метиленового синего (МС) остается перспективным направлением. Метиленовый синий ($C_{16}H_{18}ClN_3S$) – синтетическое соединение, обладающее антисептическими, антипаразитарными и противогрибковыми свойствами [2]. В аквакультуре он используется для лечения таких заболеваний, как сапролегниоз, аэромоноз, а также от наружных паразитов. Также метиленовый синий используется при профилактике гипоксии, способствуя улучшению кислородтранспортной функции крови, и для стимуляции иммунного ответа у рыб, но с учетом корректных дозировок.

Последние исследования в этой области несколько расширили его иммуномодулирующее действие через дополнительные механизмы. Так, Wang et al показали, что МС повышает активность лизоцима и комплемента у карпа обыкновенного через 7 дней после обработки, а у тилапии наблюдается увеличение фагоцитарной активности макрофагов [3]. Другие исследования показывали дозозависимую модуляцию про- и противовоспалительных цитокинов, а также выраженный антиоксидантный эффект в виде снижения уровня малонового диальдегида и повышения активности фермента каталазы [4–6].

Цель данного исследования – изучить гистологическую структуру иммунных органов карпа обыкновенного, биохимические показатели крови, уровни экспрессии генов иммунного статуса и обмена веществ, а также микробный пейзаж кишечника у карпа обыкновенного при применении метиленового синего.

Материалы и методы

Исследования были выполнены на базе ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии» в лаборатории инновационных препаратов рекомбинантной протеомики. Объектом исследования служили особи карпа обыкновенного (*Cyprinus carpio L.*) весом 800–900 грамм ($n = 20$). Были сформированы две группы: контрольная ($n = 10$) и опытная ($n = 10$). Материалом для исследования служили образцы крови и паренхиматозные органы (печень, кишечник). Карп обыкновенный содержался в аквариумах объемом 500 л. Метиленовый синий (МС) добавляли в концентрации 1 мг на 1 литр воды. Для контроля использовали аналогичный аквариум с водой без добавления МС. Рыб инкубировали в аквариуме в течение 7 дней. Для анализа в асептических условиях отбирали кишечник и печень рыб. Выделение РНК осуществлялось набором «РНК-Экстран» (Синтол, Россия) согласно инструкции. Оценку качества выделенной РНК производили с помощью электрофореза в 2% агарозном геле. Полимеразная цепная реакция проводилась на приборе DTLite 4S1 («ДНК-Технология, Россия») с готовой коммерчески доступной смесью для ПЦР 5X qPCRmix-HS SYBR (Евроген, Россия). Для оценки экспрессии изучаемых генов использовалась панель специфичных праймеров исследуемых генов, представленных в табл. 1.

ПЦР-анализ микробиоты кишечника проводили на приборе «Bio-Rad CFX96TM Real-Time System» с добавлением красителя SYBR Green. Сравнение типов бактерий оценивали по ΔCT между контрольной и опытной группой. Среднее значение CT , полученное для каждой пары праймеров, было преобразовано в процент с использованием следующей формулы:

$$X = \frac{(\text{Eff.Univ})^{CT_{\text{univ}}}}{(\text{Eff.Spec})^{CT_{\text{spec}}}} \times 100$$

где Eff.Univ – расчетная эффективность универсальных праймеров (2 = 100% и 1 = 0%), а Eff.Spec относится к эффективности таксоноспецифичных праймеров. Стuniv и Стspec – это значения СТ, зарегистрированные амплификатором, «Х» представляет процент числа бактерий определенного типа.

Таблица 1. Праймеры, используемые при постановке ПЦР в реальном времени

№	Название	Последовательности нуклеотидов
1	β-actin F β-actin R	CAAGGCCAACAGGGAAAAGA AGGCATACAGGGACAGCACA
2	IL-1β F IL-1β R	AAGGAGGCCAGTGGCTCTGT CCTGAAGAAGAGGAGGCTGTCA
3	IL-4 F IL-4 R	CAAACACAAAGCGGGACAAA GCAGCCCACTGGAGGAAATA
4	LPL F LPL R	CGCTCCATTCACCTGTTCAT GCTGAGACACATGCCCTTATT
5	FASN F FASN R	GACAGGCCGCTATTGCTATT TGCCGTAAGCTGAGGAAATC

Таблица 2. Пары специфичных праймеров для анализа микробиома

Тип бактерий	Праймер	Последовательность праймера (5'-3')	Длина ампликона (п.н.)
Bacteroidetes	Bac960F	GTTTAATTCGATGATACGCGAG	122
	Bac1100R	TTAASCCGACACCTCACGG	122
Firmicutes	Firm934F	GGAGYATGTGGTTTAATTCGAAGCA	126
	Firm1060R	AGCTGACGACAACCATGCAC	126
Actinobacteria	Act664F	TGTAGCGGTGGAATGCGC	277
	Act941R	AATTAAGCCACATGCTCCGCT	277
Saccharibacteria	Sac1031F	AAGAGAACTGTGCCTTCGG	187
	Sac1218R	GCGTAAGGAAATACTGACC	187
Verrucomicrobia	Ver1165F	TCAKGTCAGTATGGCCCTTAT	97
	Ver1263R	CAGTTTTYAGGATTTCTCCGCC	97
Tenericutes	Ten662F	ATGTGTAGCGGTAATAATGCGTAA	200
	Ten862R	CMTACTTGCGTACGTACTACT	200
β-proteobacteria	Beta979F	AACGCGAAAAACCTTACCTACC	174
	Beta1130R	TGCCCTTTCGTAGCAACTAGTG	174
ε-proteobacteria	Epsilon940F	TAGGCTTGACATTGATAGAATC	189
	Epsilon1129R	CTTACGAAGGCAGTCTCCCTTA	189
Δ- и γ-Proteobacteria	Gamma877F	GCTAACGCATTAAGTRYCCCG	189
	Gamma1066R	GCCATGCRGCACCTGTCT	189

Результаты и их обсуждение

Анализируя представленные гистологические препараты печени карпов (рис. 1), можно выделить значительные различия в морфологической структуре печеночной ткани между контрольной и опытной группами.

В печени рыб контрольной группы (рис. 1А) наблюдается потеря архитектоники органа. Отмечается выраженный полиморфизм гепатоцитов, что является признаком дегенеративных процессов. Наиболее характерными патологическими изменениями являются множественные очаги жировой инфильтрации цитоплазмы. Ядра многих гепатоцитов смещены к периферии клетки и фрагментированы, что свидетельствует о наличии кариопикноза. О нарушении микроциркуляции в печени можно судить по наличию расширения в синусоидных пространствах. Звездчатые клетки Купфера активированы и увеличены в размерах, что свидетельствует об активации макрофагальной системы в ответ на токсическое воздействие. В портальных трактах наблюдается умеренная лимфоидная инфильтрация, указывающая на развитие воспалительной реакции.

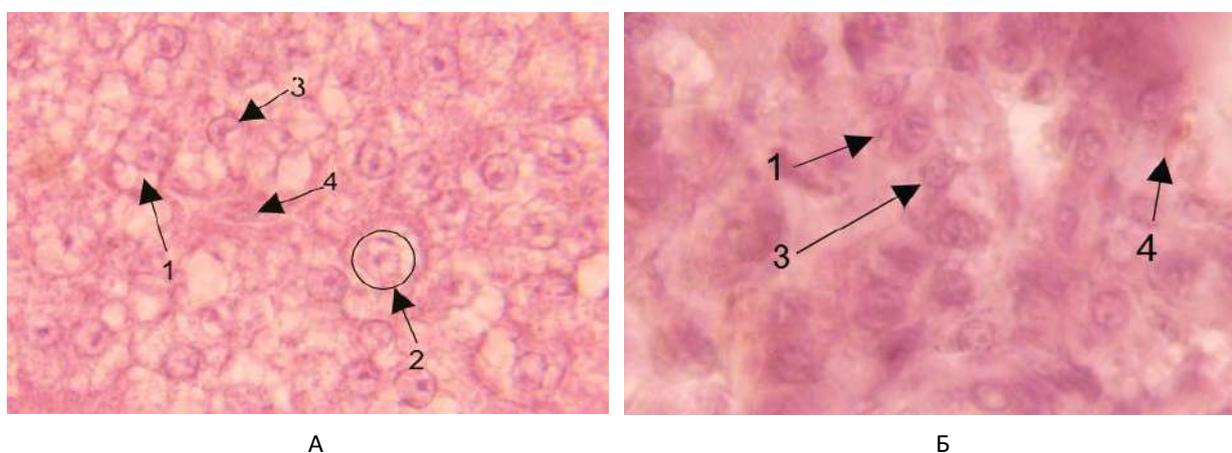


Рис. 1. Микрофотографии печени карпа обыкновенного. А – контрольная группа: 1 – наличие вакуолизации цитоплазмы; 2 – кариопикноз ядер; 3 – смещение ядра на периферию клетки; 4 – увеличенные в размере клетки Купфера; Б – опытная группа: 1 – отсутствие вакуолизации; 3 – ядра не смещены к периферии; 4 – нормальный размер клеток Купфера

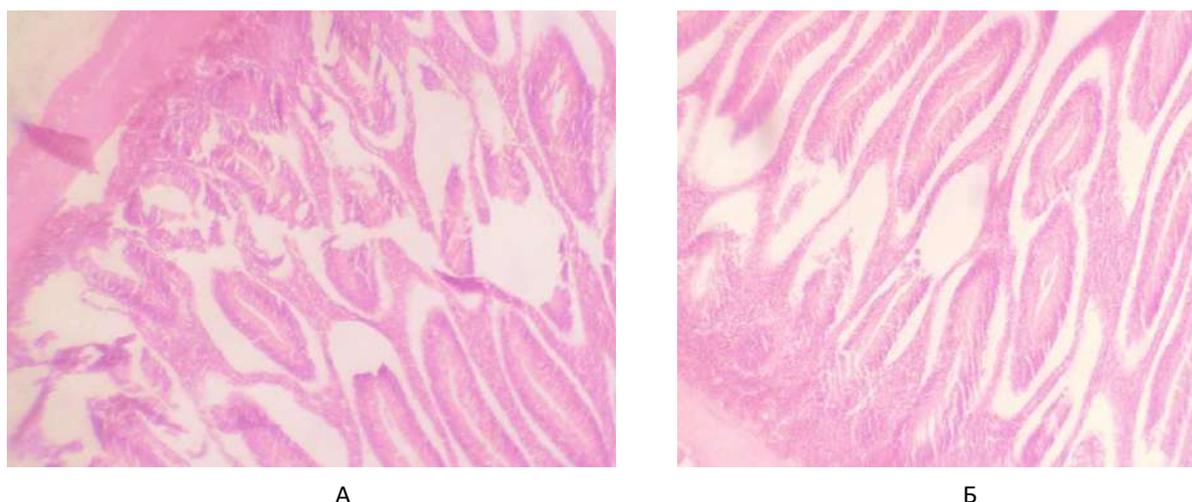


Рис. 2. Микропрепарат кишечника карпа обыкновенного. А – контрольная группа; Б – опытная группа

Печень опытной группы (рис. 1Б) демонстрирует практически нормальную гистологическую структуру. Печеночные балки сохраняют правильное радиальное расположение от центральных вен к периферии печеночных долек. Гепатоциты имеют типичную полигональную форму с четко выраженными

границами клеток. Ядра гепатоцитов округлые, расположены центрально или эксцентрично, с равномерно распределенным хроматином и хорошо различимыми ядрышками, что свидетельствует об активной синтетической функции клеток. Цитоплазма гепатоцитов умеренно эозинофильная, гомогенная, без патологических включений. Отсутствуют признаки жировой дистрофии и некротических изменений. Синусоиды имеют нормальную ширину и проходимость, эндотелий синусоидов не утолщен. Звездчатые клетки Купффера в неактивном состоянии, что указывает на отсутствие воспалительных процессов. Портальные тракты не расширены, инфильтрация отсутствует.

Представленные микрофотографии свидетельствуют о том, что метиленовая синь оказывает комплексное защитное действие на печень карпов, предотвращая развитие токсических повреждений и поддерживая нормальную структурно-функциональную организацию органа. Полученные данные также коррелирует с нормализацией биохимических показателей и подтверждает антиоксидантные свойства метиленовой сини, ее способность стабилизировать клеточные мембраны и поддерживать нормальный метаболизм в гепатоцитах.

Гистологическое исследование кишечника рыб (рис. 2А) контрольной группы показало выраженные патоморфологические изменения структурной организации слизистой оболочки. Наблюдается значительная деструкция кишечных ворсинок с нарушением их архитектоники и высоты. Апоикальная поверхность энтероцитов характеризуется отслаиванием и утратой микроворсинчатой каймы, что свидетельствует о нарушении всасывающей функции эпителиального пласта. Кровеносные капилляры подслизистого слоя расширены и гиперемированы, наблюдаются очаги геморрагий и отека интерстициальной ткани. Бокаловидные клетки демонстрируют гиперсекрецию муцина с нарушением нормального соотношения различных типов секреторных клеток. В криптах Либеркюна выявляется гиперплазия эпителиальных клеток с признаками дисплазии и нарушением полярности клеточных элементов.

Кишечные ворсинки опытной группы (рис. 2Б) сохраняют правильную цилиндрическую форму и оптимальную высоту, обеспечивающую максимальную площадь всасывающей поверхности. Ядра энтероцитов имеют овальную форму, базальную локализацию, равномерное распределение хроматина и выраженные ядрышки, что свидетельствует об активных процессах белкового синтеза. Цитоплазма клеток умеренно базофильная, без патологических включений и признаков дегенерации. Кровеносные сосуды не расширены, признаки застойных явлений отсутствуют. Бокаловидные клетки равномерно распределены по эпителию с нормальной секреторной активностью.

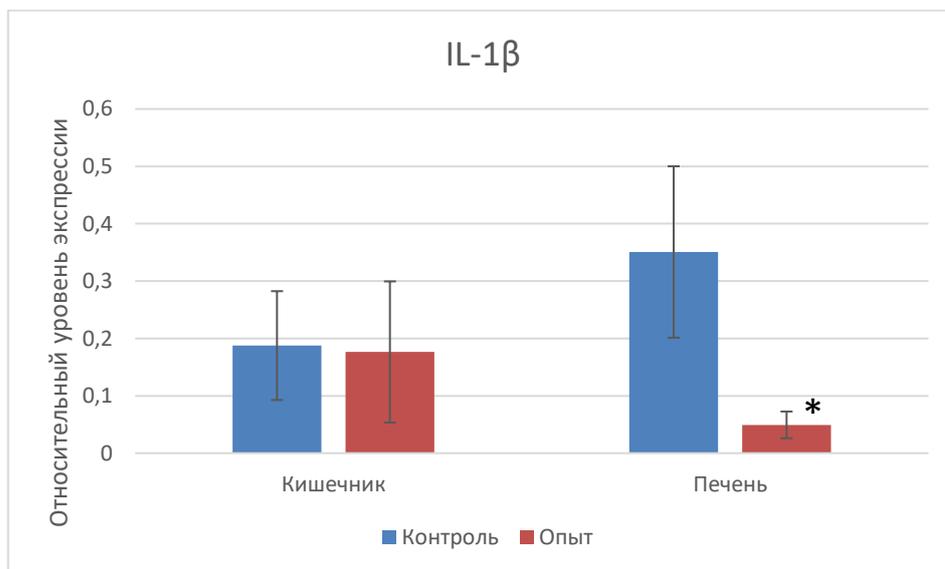


Рис. 3. Уровни экспрессии гена интерлейкина-1 бета (* – при $p < 0,05$)

При сравнительном анализе биохимических показателей сыворотки крови было установлено, что у животных контрольной группы, по сравнению с опытной, наблюдалось снижение белкового обмена. Концентрация общего белка была ниже на 23,5%, альбумина – на 29,3% (* $p < 0,05$), а глобулиновой фракции – на 19,9%. На фоне этого отмечалось значительное усиление воспалительной реакции; так,

уровень С-реактивного белка в контрольной группе превышал значение опытной группы в 3,1 раза (* $p < 0,05$). Также в контрольной группе зафиксировано повышение ферментативной активности, что может свидетельствовать о цитолитических процессах. Активность аланинаминотрансферазы (АЛТ) и аспаргатаминотрансферазы (АСТ) была выше на 52,4% (* $p < 0,05$) и 68,2% соответственно. Активность щелочной фосфатазы и лактатдегидрогеназы также превышала показатели опытной группы на 51,3 и 43,4%. Анализ липидного профиля показал, что содержание триглицеридов и холестерина в контрольной группе было снижено на 22,7 и 22,0% соответственно относительно данных опытной группы.

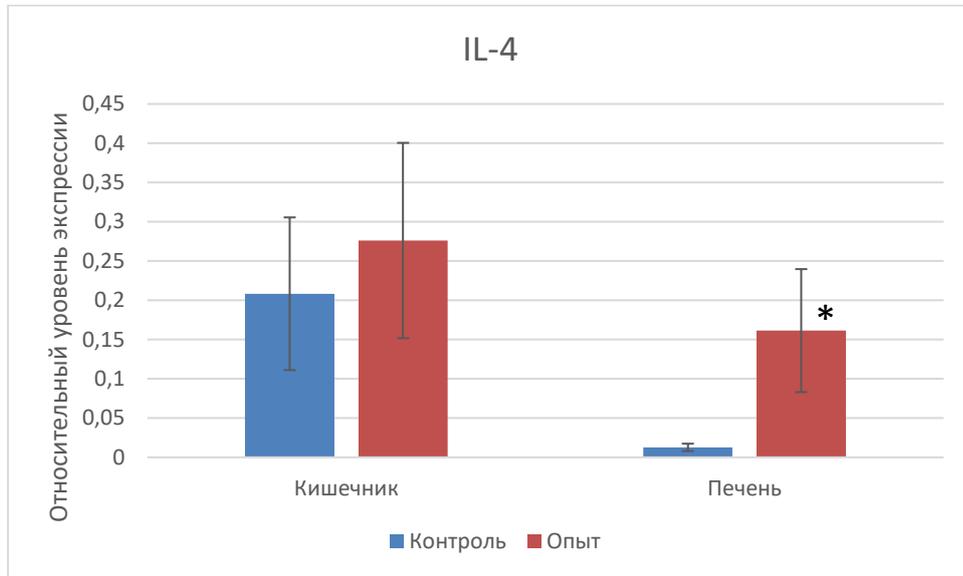


Рис. 4. Уровни экспрессии гена интерлейкина-4 (* – при $p < 0,05$)

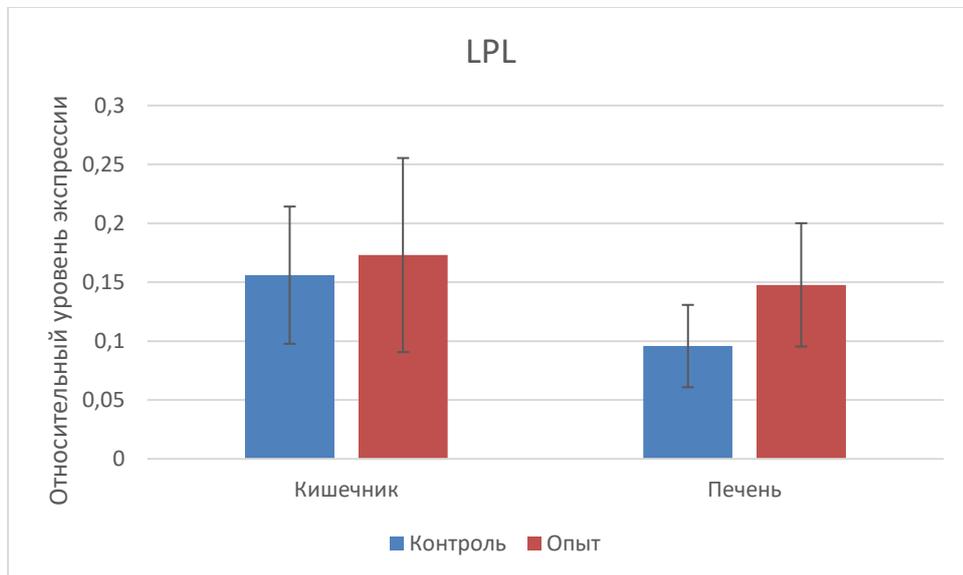


Рис. 5. Уровни экспрессии гена липопротеинлипазы (LPL)

Общая картина биохимических показателей свидетельствует о том, что рыбы контрольной группы находятся в состоянии выраженного патологического процесса, характеризующегося системным воспалением, печеночной дисфункцией, нарушением белкового и углеводного обмена, а также хроническим стрессом. Применение метиленовой сини в концентрации 1 мг/л эффективно нормализует все исследованные биохимические параметры, что указывает на выраженное гепатопротекторное, противовоспалительное и адаптогенное действие препарата [7–9].

Таблица 3. Биохимические показатели крови карпа обыкновенного

Показатель	Референсные значения	Контрольная группа	Опытная группа (МС 1 мг/л)
Общий белок, г/л	30–70	24,8±2,6	32,4±3,1
Альбумин, г/л	10–30	8,7±1,2	12,3±1,8*
Глобулины, г/л	15–40	16,1±2,1	20,1±2,4
С-реактивный белок, мг/л	1–20	8,6±1,4	2,1±0,4*
АЛТ, ед/л	10–100	18,9±3,2	12,4±2,1*
АСТ, ед/л	20–200	47,6±6,8	28,3±4,2
Лактатдегидрогеназа, ед/л	100–1000	284,7±32,4	198,6±24,1
Щелочная фосфатаза, ед/л	50–300	68,4±8,7	45,2±6,3

Примечание: * $p < 0,05$ по отношению к контрольной группе.

Сравнительный анализ уровней экспрессии генов про-, противовоспалительных цитокинов, а также генов обмена веществ показал следующие результаты. Так, экспрессия интерлейкина-1 бета снижалась в опытной группе и в кишечнике, и в печени. В кишечнике снижение было незначительным (лишь на 6,3%), а в печени фиксировалось снижение в 7,1 раза. Уровень экспрессии интерлейкина-4, напротив, возрастал в опытной группе: в кишечнике рост составил 32,5%, а в печени отмечено возрастание в 12,7 раза. Это свидетельствует о активизации альтернативного пути иммунного ответа, а именно гуморального. Он же взял на себя ведущую роль у провоспалительных механизмов, которые интенсифицируются с повышением экспрессии интерлейкина-1 бета, интерлейкина-6 и т.д. [10, 11] (рис. 3–4).

Среди уровней экспрессии генов обмена веществ наблюдалась схожая, но менее выраженная картина. Ген липопротеинлипазы (LPL) был активнее в опытной группе: на 10,9% выше в кишечнике и на 54,2% выше в печени по сравнению с контрольной группой. Экспрессия гена синтазы жирных кислот (FASN) была выше в опытной группе на 7,7% (в кишечнике) и в 3,7 раза (в печени). Подобный рост активности свидетельствует о улучшении синтеза насыщенных жирных кислот, липогенеза и гидролиза триглицеридов, что обеспечивает лучшее усвоение липидов в тканях, а также способствует активности такого процесса липидного обмена, как β -окисление жирных кислот [12, 13] (рис. 5–6).

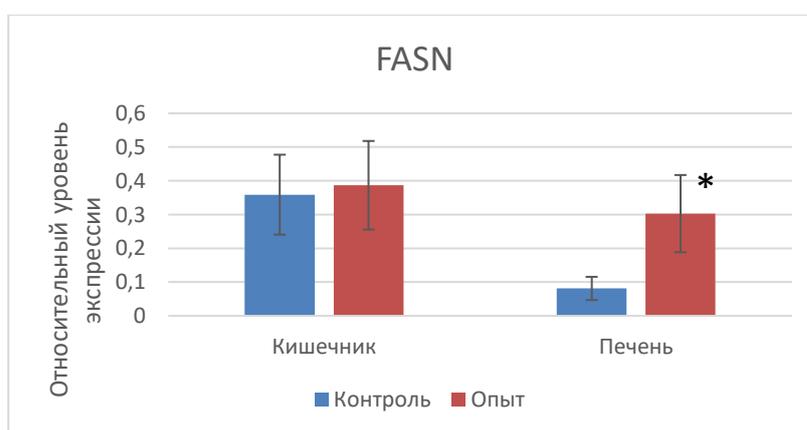


Рис. 6. Уровни экспрессии гена синтазы жирных кислот (FASN) (* при $p < 0,05$)

Сравнительное исследование микробиома кишечника карпа обыкновенного показало, что обильность бактерий *Actinobacteria* превысила контрольные пробы в 9,2 раза, *Bacteroidetes* – в 1,3 раза, а *Firmicutes* – в 1,2 раза (рис. 34). *Actinobacteria* – это тип анаэробных грамположительных бактерий, который считается одним из преобладающих видов в кишечнике. Основная функция – антагонист патогенной микрофлоры. Их основная роль заключается в расщеплении таких органических веществ, как целлюлоза и хитин. Прирост количества бактерий рода *Actinobacteria* под действием МС может иметь положительный эффект в виде более эффективного поддержания гомеостаза желудочно-кишечного тракта.

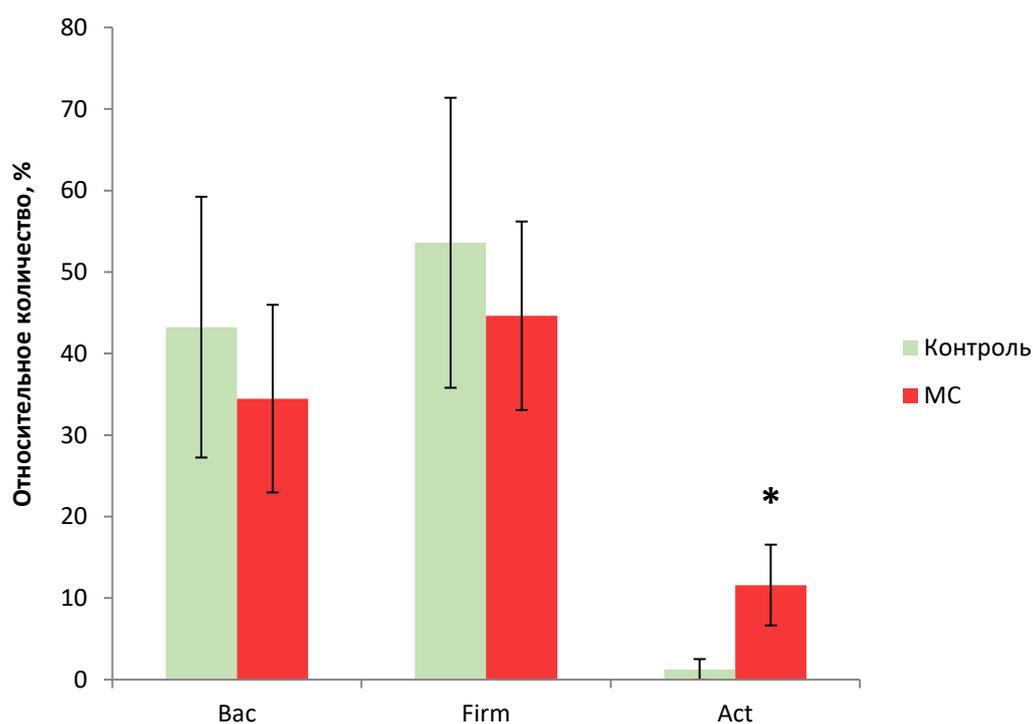


Рис. 7. Относительная обильность бактерий *Bacteroidetes*, *Firmicutes* и *Actinobacteria*.
* – $p < 0,05$

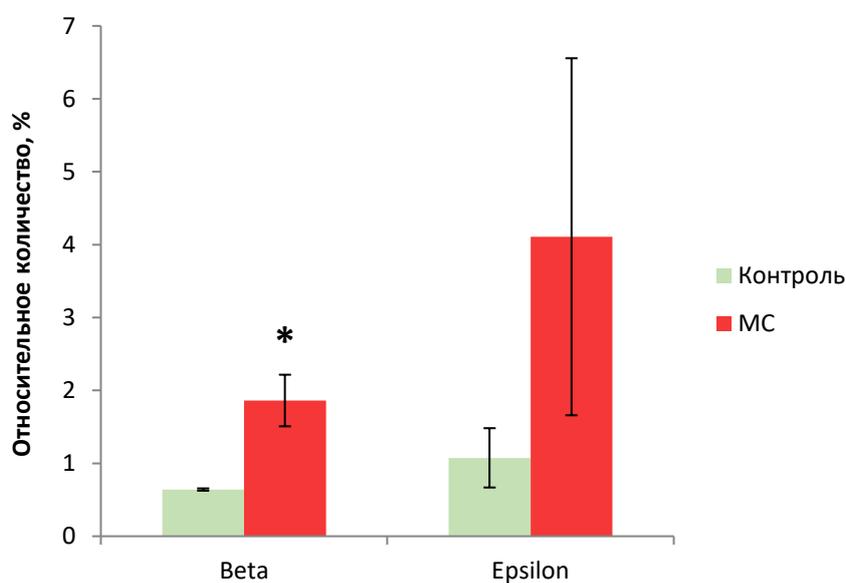


Рис. 8. Относительная обильность *Betaproteobacteria* и *Epsilonproteobacteria*.
* – различие с контролем статистически достоверное, $p < 0,05$

Относительная обильность филума *Betaproteobacteria* выросла в 3 раза по сравнению с контрольными образцами. Это класс грамотрицательных бактерий, широко распространенный в водных средах. Бактерия *Bordetella pertussis* вырабатывает несколько токсинов, которые парализуют движение ресничек в дыхательных путях человека и непосредственно повреждают клетки дыхательных путей, вызывая сильный кашель.

Превышение в 3,8 раза показателей контрольной группы также отмечено в относительной обильности бактерий *Epsilonproteobacteria*, однако различие не является статистически достоверным.

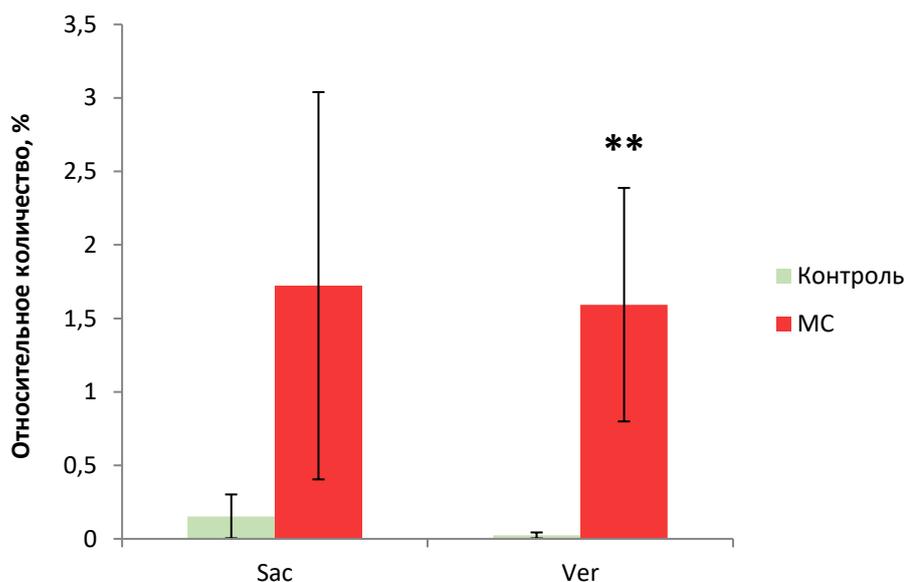


Рис. 9. Относительная обильность *Saccharibacteria* и *Verrucomicrobia*.
** – различие с контролем статистически достоверное, $p < 0,01$

Относительная обильность филума *Saccharibacteria* опытных проб превысила контрольные образцы в 11 раз. Наиболее сильное изменение произошло в относительной обильности бактерий *Verrucomicrobia*, их содержание превысило контрольные образцы в 68 раз. *Verrucomicrobia* – сложно культивируемый тип грамотрицательных бактерий, играющий важную роль в утилизации азотистых соединений в кишечнике животных и человека. Единственным культивируемым кишечным представителем *Verrucomicrobia* является *Akkermansia muciniphila*. Снижение уровня *A. muciniphila* наблюдалось у пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника и метаболическими нарушениями, что позволяет предположить, что он может обладать потенциальными противовоспалительными свойствами.

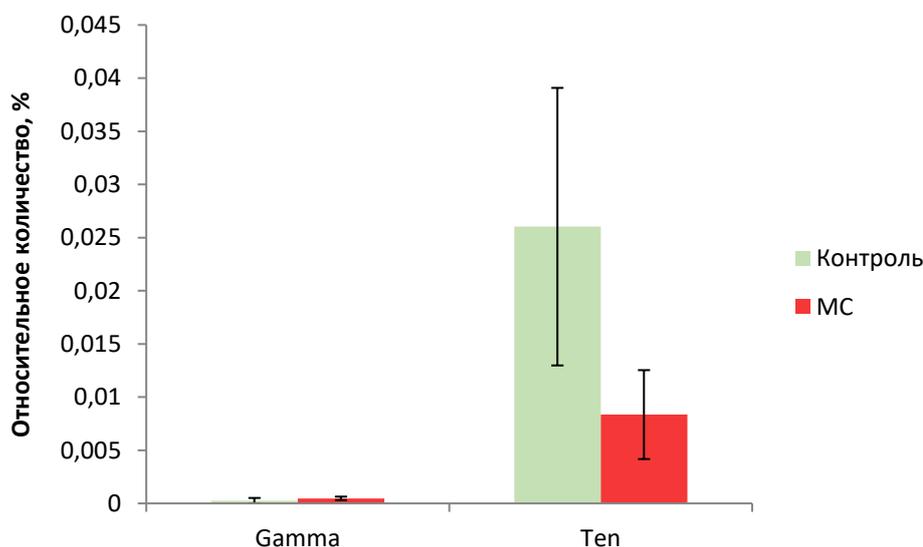


Рис. 10. Относительная обильность *Gammaproteobacteria* и *Tenericutes*

Относительная обильность бактерий *Gammaproteobacteria* возросла на 80% по сравнению с контрольными пробами. В образцах, подвергающихся обработке метиленовым синим, относительная обильность филума *Tenericutes* сократилась на 68%.

Выводы

Проведенными исследованиями установлено, что метиленовый синий предотвращает токсическое повреждение печени, стабилизирует клеточные мембраны и поддерживает метаболическую функцию гепатоцитов. МС в использованной дозе не вызывает иммуносупрессии, а также способствует минимизации и регуляции воспалительных процессов, эффективно снижает оксидативный стресс и поддерживает гомеостаз печени. Метиленовый синий при краткосрочном применении обладает многокомпонентным защитным действием.

ЛИТЕРАТУРА

1. FAO. 2022. The State of World Fisheries and Aquaculture 2022. Towards Blue Transformation. Rome, FAO.
2. Planelló R., Herrero O., Martínez-Guitarte J.L., Morcillo G. Comparative effects of butyl benzyl phthalate (BBP) and di (2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) on the aquatic larvae of *Chironomus riparius* based on gene expression assays related to the endocrine system, the stress response and ribosomes // *Aquatic toxicology*. 2011. Vol. 105, N 1–2. P. 62–70.
3. Wang Y., Fu R., Li X., Zhao W., Liu M., Li Y. Potential thyroid hormone disorder risks of tire antioxidants to aquatic food chain organisms after absorbing free radicals in marine and freshwater environments // *Aquatic Toxicology*. 2023. Vol. 260. P. 106587.
4. Goodwin A.E., Marecaux E. Validation of a qPCR assay for the detection of Ictalurid herpesvirus-2 (IcHV-2) in fish tissues and cell culture supernatants // *Journal of Fish Diseases*. 2010. Vol. 33, N 4. P. 341–346.
5. Green B.W., Rawles S.D., Schrader K.K., McEntire M.E., Abernathy Ja., Ray C.L., Gaylord T.G., Lange M.D., Webster C.D. Impact of dietary phytase on tilapia performance and biofloc water quality // *Aquaculture*. 2021. Vol. 541. P. 736845.
6. Lu R., Yang L., Jia S., Lin M., Zhang Yu., Xu X., Feng J., Nie G. Fatty hepatocyte-derived exosomal miR-122 promotes lipid synthesis and reduces immunocompetence in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) // *Aquaculture*. 2023. Vol. 563. P. 738921.
7. Hess C., Little L., Brown C., Kaller M., Galvez F. Transgenerational effects of parental crude oil exposure on the morphology of adult *Fundulus grandis* // *Aquatic Toxicology*. 2022. Vol. 249. P. 106209.
8. Li S., Li Z., Zhang J., Sang C., Chen N. The impacts of dietary carbohydrate levels on growth performance, feed utilization, glycogen accumulation and hepatic glucose metabolism in hybrid grouper (*Epinephelus fuscoguttatus*♀ × *E. lanceolatus*♂) // *Aquaculture*. 2019. Vol. 512. P. 734351.
9. Papapanagiotou E.P. Serious notifications on food contact materials in the EU RASFF // *Veterinary sciences*. 2021. Vol. 8, N 4. P. 56.
10. Kirik U., Greiff L., Levander F., Ohlin M. Parallel antibody germline gene and haplotype analyses support the validity of immunoglobulin germline gene inference and discovery // *Molecular immunology*. 2017. Vol. 87. P. 12–22.
11. Verreth J.A.J., Roy K., Turchini G.M. Circular bio-economy in aquaculture // *Reviews in Aquaculture*. 2023. Vol. 15, N 3. P. 944–946.
12. Kurta K., Jeuthe H., de Koning D.J., Palaïokostas C. Evaluating the potential of improving sperm quality traits in farmed Arctic charr (*Salvelinus alpinus*) using selective breeding // *Aquaculture Reports*. 2022. Vol. 25. P. 101234.
13. Yu D., Yang G., Xia H., Gan Z., Wang Z., Xia L., Kwok K. Wh., Cai J., Lu Y. Dextran sulfate sodium salt (DSS) induced enteritis in orange-spotted grouper, *Epinephelus coioides* // *Fish & Shellfish Immunology*. 2023. Vol. 137. P. 108742.

Поступила в редакцию 27.06.2025 г.

Принята к печати 24.12.2025 г.

Стрельников Николай Алексеевич, младший научный сотрудник лаборатории инновационных препаратов рекомбинантной протеомики отдела экспериментальной фармакологии и функционирования живых систем, Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии, Воронеж; e-mail: strelnikov.nickolay@yandex.ru

Nikolai A. Strelnikov, junior researcher at the laboratory of innovative drugs of the recombinant proteomy of the Department of Experimental Pharmacology and the Functioning of Living Systems, All-Russian Research Veterinary Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy, Voronezh; e-mail: strelnikov.nickolay@yandex.ru

Семенова Елена Владимировна, младший научный сотрудник лаборатории инновационных препаратов рекомбинантной протеомики отдела экспериментальной фармакологии и функционирования живых систем, Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии, Воронеж; e-mail: elenasemyonova5@gmail.com

Elena V. Semenova, junior researcher, at the Laboratory of innovative drugs of the recombinant proteomy of the Department of Experimental Pharmacology and the Functioning of Living Systems, All-Russian Research Veterinary Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy, Voronezh; e-mail: elenasemyonova5@gmail.com

Михайлов Евгений Владимирович, кандидат ветеринарных наук, зав. лабораторией, Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии, Воронеж; e-mail: voronezh81@rambler.ru

Evgeniy V. Mikhailov, Candidate of Veterinary Sciences, head of the laboratory, All-Russian Research Veterinary Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy, Voronezh; e-mail: voronezh81@rambler.ru

Шапошникова Юлия Владимировна, кандидат ветеринарных наук, доцент кафедры ветеринарно-санитарной экспертизы, эпизоотологии и паразитологии, Воронежский государственный аграрный университет имени императора Петра I; e-mail: ivanets7111979@gmail.com

Julia V. Shaposhnikova, associate professor of the Department of Veterinary and Sanitary Expertise, Epizooting and Parasitology, Voronezh State Agrarian University named after Emperor Peter I, Candidate of Veterinary Sciences; e-mail: ivanets7111979@gmail.com

Зурхаева Умианат Джамалдиновна, младший научный сотрудник, Прикаспийский институт биологических ресурсов Дагестанского федерального исследовательского центра РАН; e-mail: zurkhaeva81@mail.ru

Umshanat D. Zurkhaeva, junior researcher, Precaspian Institute of Biological Resources of the Daghestan Federal Research Centre of RAS; e-mail: zurkhaeva81@mail.ru

Курбанова Зури Салмановна, старший лаборант, Прикаспийский институт биологических ресурсов Дагестанского федерального исследовательского центра РАН; e-mail: kurbanova zuri@mail.ru

Zuri S. Kurbanova, senior laboratory assistant, Precaspian Institute of Biological Resources of the Daghestan Federal Research Centre of RAS; e-mail: kurbanova zuri@mail.ru