

АДАПТИВНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ КАРТИНЫ КРОВИ КЛАРИЕВОГО СОМА НА ФОНЕ ТРЕКРЕЗАНА ПРИ ВЫРАЩИВАНИИ В ИСКУССТВЕННОЙ СРЕДЕ

Спирина Елена Владимировна, кандидат биологических наук, доцент кафедры «Биология, ветеринарная генетика, паразитология и экология»

Романова Елена Михайловна, доктор биологических наук, профессор, заведующая кафедрой «Биология, ветеринарная генетика, паразитология и экология»

Петрова Юлия Владимировна, аспирант третьего года обучения

ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ

432017, г. Ульяновск, бульвар Новый Венец, 1; тел. 8(8422)55-23-75;

e-mail: elspirin@yandex.ru

Ключевые слова: аквакультура, клариевый сом, адаптоген трекрезан, гематологические показатели клариевых сомов, антиоксидантная система.

Работа посвящена исследованию влияния адаптогена трекрезана на гематологические параметры клариевых сомов, выращенных в искусственной среде. В частности, оценивалось влияние трекрезана на общие гематологические параметры и антиоксидантную систему африканского клариевого сома, так как выращивание в искусственной среде сопровождается стрессом, при котором происходит усиление окислительных процессов, приводящих к повреждению биологических мембран и нарушению функционирования клеток. Анализировали препараты крови с помощью микроскопа Axio Imager.M2 (Carl Zeiss, Германия). Анализ ферментативной активности (ед./мг белка) осуществляли на дулучевом спектрофотометре UV-1800 (Shimadzu, Япония). Полученные нами результаты свидетельствуют, что на фоне использования адаптогена трекрезана прослеживалась тенденция увеличения доли моноцитов, тромбоцитов и палочкоядерных нейтрофилов. Наблюдается увеличение общего количества внутриклеточного гемоглобина, активности СОД и каталазы в эритроцитах и в крови рыб, выращенных с использованием адаптогена трекрезан. Трекрезан индуцирует выработку интерферонов, повышает иммунный статус организма, активируя клеточный и гуморальный иммунитет, приводит к снижению токсичных продуктов, образующихся при перекисном окислении липидов за счет повышения активности ферментного звена в антиоксидантной системе и обеспечивает нормализацию антиоксидантной защиты у клариевых сомов, выращенных в искусственной среде. Он укрепляет иммунную систему организма и повышает устойчивость к неблагоприятным факторам окружающей среды. В наших исследованиях трекрезан проявил себя как мягкий, эффективный иммуномодулятор.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-416-730005

Введение

Выращивание клариевых сомов в искусственной среде часто сопровождается стрессом, приводящим к снижению приспособительных механизмов организма и как следствие возникновению заболеваний рыб [1, 2]. При стрессе в организме рыб активность ферментов повышается, за счёт этого происходит окисление в митохондриях липидов и образуется АТФ [3]. Вследствие этого процесса происходит образование радикалов, повреждающих биологические мембраны и как следствие приводящие к нарушению их функционирования. Из-за нарушения мембран происходит резкое снижение барьерных функций клетки [3], происходят нарушения в морфологии и функционировании организма рыб, снижающие гомеостаз. Наблюдается увеличение роли антиоксидантной системы в организме рыб, обеспечивающей связывание свободных радикалов, предупреждающей образование перекисей водорода, образующихся

в клетке. В состав антиоксидантной защиты организма рыб входит супероксиддисмутаза (СОД) и каталаза. Супероксиддисмутаза представляет собой группу металлоферментов, ускоряющих реакции диспропорционирования свободных радикалов. Каталаза представляет собой фермент геминный природы, образующийся в пероксисомах, разлагающий перекиси водорода на O_2 и H_2O [4]. Каталаза обеспечивает разрушение перекиси водорода в клетках рыб, которая образуется вследствие действия оксидаз. Каталаза защищает клеточные структуры от воздействия перекиси водорода.

Для активации антиоксидантной системы и повышения сопротивляемости организма, мобилизации резервных сил, все чаще применяют адаптогены (от латинского «adaptatio» - приспособление). Адаптогены мобилизуют организм рыб, влияя на тканевый метаболизм, так как адаптогены способны оказать иммуностимулирующее и анаболическое действие на нервную

систему, органы кроветворения. Адаптогены способны влиять на клеточный иммунитет, синтезируя иммуноглобулины и тимусзависимые клетки [5-10]. Главным преимуществом адаптогенов является - это безвредность для организма и широкое стимулирующее физиологическое действие [6, 8]. Одним из перспективных адаптогенов является трекрезан [9], действие которого сходно с женьшенем, элеутерококком и золотым корнем и др. [9-12].

Исследования показали, что трекрезан повышает эффективность защиты организма от болевых, температурных и нервных раздражителей, оказывает антистрессовое действие [13-17], усиливает иммунитет [16-20].

Целью работы являлось изучение влияния адаптогена трекрезана на гематологические параметры клариевого сома при выращивании в искусственной среде.

Материалы и методы исследований

Пробы крови брали у клариевых сомов, выращенных в искусственной среде в Ульяновском ГАУ. Особей экспериментальной группы кормили кормом с добавлением трекрезана. Для этого раствором трекрезана опрыскивали корм Аqаgex в дозировке 0,03 г/кг, затем корм просушивали и скармливали сомам вручную через каждые 3 часа. Особей контрольной группы кормили кормом без добавления трекрезана.

Показатели крови клариевых сомов исследовали используя методические указания по проведению гематологического обследования рыб [22].

Анализировали препараты крови с помощью микроскопа Axio Imager.M2 (Carl Zeiss, Германия). Лейкоцитарная формула крови опре-

делялась согласно рекомендациям [23]. Анализ антиоксидантной системы определяли по активности ферментов каталазы и СОД на спектрофотометре UV-1800 (Япония) при длине волны 480 и 347 нм при температуре воздуха 24 °С. Уровень активности каталазы определяли согласно методическим рекомендациям [24-26] по реакциям разложения H_2O_2 . Супероксиддисмутазу определяли на спектрофотометре в системе (НСТ-ФМС-НАДН). Активность антиоксидантных ферментов выражали в нмоль субстрата/мин на мг белка (усл.ед.).

Обработку полученных статистических результатов осуществляли с помощью «STATISTICA-6» [27] при уровне статистической значимости $*p=0,05$. Определяли средние значения, медиану и дисперсию. По большинству изученных параметров статистические данные имели непараметрический характер распределения, поэтому использовали методы непараметрического анализа различий между независимыми выборками.

Результаты исследований

Гематологические исследования клариевых сомов, экспериментальной и контрольной групп выявили отличия по некоторым параметрам (табл. 1). Так общее количество лейкоцитов достоверно ниже у особей, выращенных без использования адаптогена трекрезан и составляет $40,5 \cdot 10^3/\mu l$, а у экспериментальных особей - $58,3 \pm 2,2 \cdot 10^3/\mu l$. Повышенное содержание лейкоцитов в крови клариевых сомов экспериментальной группы свидетельствует об активно идущем лейкопоэзе, обеспечивающем повышение адаптации рыб при обитании в искусственной среде.

Таблица 1

Гематологические показатели клариевых сомов

Наименование показателя	Контроль	Эксперимент
WBC (общее количество лейкоцитов) $10^3/\mu l$	40,5±1,2	58,3±2,2*
RBC (общее количество эритроцитов) $10^6/\mu l$	1,3±0,1	1,9±0,6
НСТ (гематокрит, относительный объем эритроцитов в плазме крови) %	30,1±3,3	33,5±3,9
MCV (средний объем эритроцитов) fl	350,1±28,7	368,9±31,2
HGB (общее количество внутриклеточного гемоглобина) g/dl	55,3±15,2	78,3±10,8*
PLT (общее количество кровяных пластинок) $10^3/\mu l$	10,8±2,1	15,5±3,6*
Лейкоцитарная формула %		
ПЯ	0,7±0,01	1,0±0,1*
СЯ	4,0±0,5	8,2±1,1
Всего нейтрофилов	4,7±0,6	9,2±0,6*
Эозинофилы	-	0,9±0,03
Базофилы	0,3±0,02	0,7±0,08
Моноциты	3,5±1,0	9,8±2,8*
Лимфоциты	86,5±3,6	70,2±5,8*

Показатели антиоксидантных ферментов клариевых сомов

Наименование	Контроль	Эксперимент
Каталаза (CAT; EC 1.11.1.6) в сыворотке крови	0,85±0,03	2,7±0,7*
Каталаза (CAT; EC 1.11.1.6) в эритроцитах	1,35±0,7	5,2±1,6*
Супероксиддисмутаза (SOD; EC 1.15.1.1) в сыворотке крови	182,7±8,4	202,4±15,9*
Супероксиддисмутаза (SOD; EC 1.15.1.1) в эритроцитах	246,2±10,8	316,3±26,7*

При анализе общего количества кровяных пластинок выявлено их достоверное увеличение у особей, выращенных с использованием трекрезана, так в контроле $10,8 \cdot 10^3/\mu\text{l}$, а у особей с трекрезаном - $15,5 \cdot 10^3/\mu\text{l}$. Увеличение доли тромбоцитов может быть свидетельством повышения иммунитета, так как тромбоциты способны обеспечивать выработку бактерицидных веществ, а также за счёт фагоцитоза обеспечить нейтрализацию некоторых патогенных микроорганизмов.

Содержание внутриклеточного гемоглобина у контрольных рыб достоверно ниже, составляет 55,3 g/dl, в то время как у особей, употреблявших в составе корма трекрезан, составила 78,3 g/dl. Повышенное содержание гемоглобина может свидетельствовать об интенсификации обмена веществ у клариевых сомов, употреблявших корм с трекрезаном.

Достоверных различий между показателями: общее количество эритроцитов, гематокрит, относительный объем эритроцитов в плазме крови, средний объем эритроцитов не было обнаружено.

Анализ лейкоформулы клариевых сомов, экспериментальной и контрольной групп показывает достоверные различия по лимфоцитам (86,5 % контроль и 70,2 % эксперимент). Наблюдается снижение показателей палочкоядерных нейтрофилов у контрольных особей (0,7 %) по сравнению с экспериментальной группой (1,0 %) и моноцитов (9,8 % эксперимент) к 3,5 % контроль.

Анализ ферментативной активности антиоксидантных ферментов клариевых сомов контрольной группы свидетельствует об усиленных процессах приводящих к снижению адаптивных возможностей организма рыб, так как имеются достоверные отличия в показателях активности СОД и каталазы в эритроцитах и в крови клариевых сомов (табл. 2).

У клариевых сомов на фоне использования адаптогена трекрезан, имеются достоверные отличия в активности антиоксидантных ферментов, содержащихся в эритроцитах, так у контрольных особей показатель каталазы со-

ставляет 1,35 усл. ед., что достоверно ниже 5,2 усл. ед. у особей, выращенных с использованием трекрезана. Показатель СОД в эритроцитах контрольных особей составил 246,2 усл. ед. по сравнению с 316,3 усл. ед. у особей, выращенных с использованием трекрезана. Данные показатели свидетельствуют об повышении активности антиоксидантной системы защиты крови клариевых сомов экспериментальной группы.

Анализ показателей антиоксидантных ферментов в сыворотке крови клариевых сомов подтверждает закономерность, полученную при анализе их содержания в клетках крови. Так у особей контрольной группы содержание каталазы составило 0,85 усл. ед., а у особей, выращенных с использованием адаптогена трекрезан - 2,7 усл. ед. Показатели СОД в сыворотке крови контрольных особей составляли 182,7 усл. ед., а у особей, выращенных с использованием адаптогена трекрезан - 202,4 усл. ед.

Обсуждение

Увеличение общего количества внутриклеточного гемоглобина, доли тромбоцитов и палочкоядерных нейтрофилов, моноцитов свидетельствуют об увеличении иммунного статуса клариевых сомов, выращенных с использованием адаптогена трекрезан за счёт повышения защитных сил организма.

Повышение активности антиоксидантной системы защиты крови клариевых сомов, выращенных с использованием адаптогена трекрезан способствует поддержанию гомеостаза и повышению адаптационных возможностей при обитании в искусственной среде. Таким образом, трекрезан индуцирует выработку интерферонов, повышает иммунный статус организма, активируя клеточный и гуморальный иммунитет, приводит к снижению токсичных продуктов, образующихся при перекисном окислении липидов за счет активации ферментов и обеспечивает нормализацию антиоксидантной защиты у клариевых сомов, выращенных в искусственной среде. Он укрепляет иммунную систему организма и повышает устойчивость к неблагоприятным факторам окружающей среды.

Заключение

Выращивание рыб в искусственной среде сопровождается накоплением большого количества органики, продуктов жизнедеятельности рыб, которые с одной стороны могут оказывать отравляющее воздействие на организм рыб, а с другой становятся средой для развития патогенных организмов. Поэтому повышение адаптационных возможностей организма рыб за счёт усиления иммунитета и стимуляции антиоксидантной системы становится крайне важным.

Результаты исследований, полученные у клариевых сомов, выращенных с использованием адаптогена трекрезана, в качестве пищевой добавки, свидетельствуют о повышении иммунитета рыб, усилении оздоравливающего эффекта на организм рыб. За счёт снижения перекисного окисления липидов и повышения активности антиоксидантной системы происходит повышение энергетического статуса организма рыб.

Таким образом, трекрезан позитивно воздействует на организм клариевых сомов, оптимизирует метаболизм и снижает энергозатраты, поэтому его использование в качестве пищевой добавки в рационе клариевых сомов, выращиваемых в условиях искусственной среды, является перспективным.

Библиографический список

1. Effects of *Bacillus subtilis* and *Bacillus licheniformis* on catfish in industrial aquaculture / E. Romanova, E. Spirina, V. Romanov, V. Lyubomirova, L. Shadyeva // E3S Web of Conferences. XIII International Scientific and Practical Conference "State and Prospects for the Development of Agribusiness. – INTERAGROMASH, 2020. - С. 02013.
2. Athology of cells and tissues of the gastrointestinal tract of african catfish in high-tech industrial aquaculture / E. Spirina, E. Romanova, V. Romanov, V. Lyubomirova, L. Shadyeva, T. Shlenkina, L. Rakova // IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. 12th International Scientific Conference on Agricultural Machinery Industry. - INTERAGROMASH, 2019. - С. 012220.
3. Журавлев, А. И. Свободнорадикальная биология : лекция / А. И. Журавлев, В. П. Пантюшенко. – Москва : Московская ветеринарная академия, 1989. - 60 с.
4. Oganisyan, A. O. Changes in succinate dehydrogenase activity in various parts of the brain during combined exposure to vibration and licorice root / A. O. Oganisyan, K. R. Oganisyan, S. M. Minasyan // Neuroscience and behavioral physiology. - 2005. - Vol. 35, No. 5. - P. 545–548.
5. Определение активности каталазы эритроцитов как показателя антиоксидантной защиты организма лабораторных животных при воздействии пятиоксида ванадия / Л. Н. Самыкина, О. Я. Сказкина, Н. И. Дроздова, И. М. Ибрагимов // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. - 2010. - Т. 12, № 1(6). – С. 1497-1502.
6. Шабанов, П. Д. Адаптогены и антигипоксанты / П. Д. Шабанов // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. - 2003. - Т. 2, № 3. - С. 50–81.
7. Адаптогены и родственные группы лекарственных препаратов — 50 лет поиска / Е. П. Студенцов, С. М. Рамш, Н. Г. Казурова, О. В. Непорожнева, А. В. Гарабаджиу, Т. А. Кочина, М. Г. Воронков, В. А. Кузнецов, Д. В. Криворотов // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. - 2013. – Т. 11(4). - С. 3-43.
8. Шабанов, П. Д. Концепция адаптогенов: истоки, современное состояние, перспективы / П. Д. Шабанов // Акт. речь на 2-х Лазаревских чтениях. – Санкт-Петербург : ВМедА, 2002. - 72 с.
9. Фармакологические свойства и клинические эффекты трекрезана / М. Г. Воронков, О. П. Колесникова, М. М. Расулов, А. Н. Мирскова // Химико-фармакологический журнал. - 2007. - Т. 41, № 5. - С. 13–17.
10. Применение трекрезана для повышения репродуктивной способности млекопитающих и жизнеспособности их потомства / М. Г. Воронков, А. П. Дыбан, В. М. Дьяков, Н. Л. Симбирцев // Доклады РАН. - 1999. - Т. 364, № 5. - С. 703–707.
11. Эффективность добавки трекрезана в рацион цыплят / М. Г. Воронков, Х. Н. Мухитдинова, М. К. Нурбеков, М. М. Расулов // Доклады РАСХН. - 2003. - № 2. - С. 39-42.
12. Шабанов, П. Д. Фармакология трекрезана - нового иммуномодулятора и адаптогена / П. Д. Шабанов, И. В. Зарубина, Е. В. Мокренко // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. - 2014. – Т. 12(2). - С. 12-27.
13. Трекрезан как метаболический активатор, обладающий свойствами метеoadаптогена, психоэнергизатора и иммуномодулятора (теоретическое и экспериментальное обоснование) / П. Д. Шабанов [и др.] // Вестник Российской военно-медицинской академии. - 2006. - № 1(15). - С. 53–57.
14. Шабанов, П. Д. Нейропротектор метапрот: механизм действия и новые клинические направления использования / П. Д. Шабанов

// Медицинский альманах. - 2011. - № 1(14). - С. 197–199.

15. Шабанов, П. Д. Психофармакология / П. Д. Шабанов. – Санкт-Петербург : Издательство Н-Л, 2008. - 384 с.

16. Трекрезан как метаболический активатор, обладающий свойствами метеoadаптогена, психоэнергизатора и иммуномодулятора (теоретическое и экспериментальное обоснование) / П. Д. Шабанов, В. П. Ганопольский, А. Б. Жумашева, А. А. Елистратов // Вестник Российской военно-медицинской академии. - 2006. - № 1(15). - С. 53–57.

17. Метаболический активатор трекрезан: изучение метеoadаптогенных и иммуномодулирующих свойств / П. Д. Шабанов, В. П. Ганопольский, И. В. Зарубина [и др.] // Нейронауки. - 2006. - Т. 2, № 3(5). - С. 43–48.

18. Иммуномодулятор трекрезан: профиль общей и иммунотропной активности / П. Д. Шабанов, И. В. Зарубина, А. В. Болехан [и др.] // Лечащий врач. - 2006. - № 6. - С. 34-35.

19. Метаболические корректоры гипоксии / П. Д. Шабанов, И. В. Зарубина, В. Е. Новиков, В. Н. Цыган. – Санкт-Петербург : Информ-навигатор, 2010. - 916 с.

20. Иммуномодулятор трекрезан / П. Д. Шабанов, И. В. Зарубина, А. В. Болехан [и др.] // Русский медицинский журнал. - 2005. - Т. 13, № 20. – С.1361с.

21. Юшков, В. В. Иммунокорректоры: руководство для врачей и провизоров / В. В. Юшков, Т. А. Юшкова, А. В. Казьянин. – Екатеринбург : ИРА УТК, 2002. - 255 с.

22. Методические указания по проведению гематологического обследования рыб. Министерство сельского хозяйства и продовольствия Российской Федерации (Минсельхозпрод России) № 13-4-2/1487 от 02 февраля 1999 г.

23. Житенева, Л. Д. Атлас нормальных и патологически измененных клеток крови рыб / Л. Д. Житенева, Т. Г. Полтавцева, О. А. Рудницкая. - Ростов-на-Дону : Книжное издательство, 1989. - 112 с.

24. Nishikimi, M. The occurrence of superoxide anion in the reaction of reduced phenazine / M. Nishikimi, N. A. Rao, K. Jagik // Biochim. Biophys. Res. Com. - 1972. - Vol. 46, N 2. - P. 849–854.

25. Асатиани, В. С. Ферментные методы анализа / В. С. Асатиани. – Москва : Наука, 1969. - 611 с.

26. Aebi, H. Catalase *in vitro* / H. Aebi // Methods Enzymology. - 1984. – Vol. 105. – P. 121-126.

27. Реброва, О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA / О. Ю. Реброва. – Москва : МедиаСфера, 2000. - 312 с.

ADAPTIVE CHANGES IN THE BLOOD PICTURE OF SHARPTOOTH CATFISH IN CASE OF TRECRESAN APPLICATION WHEN BREEDING IN ARTIFICIAL ENVIRONMENT

Spirina E.V., Romanova E.M., Petrova Yu.V.
FSBEI HE Ulyanovsk SAU

432017, Ulyanovsk, Novyi Venets boulevard, 1; Tel. 8 (8422) 55-23-75;
e-mail: elspirin@yandex.ru

Key words: aquaculture, sharptooth catfish, trecresan adaptogen, hematological parameters of sharptooth catfish, antioxidant system.

The work is devoted to the study of trecresan adaptogen effect on hematological parameters of sharptooth catfish bred in an artificial environment. In particular, the effect of trecresan on general hematological parameters and antioxidant system of African sharptooth catfish was assessed, since breeding in an artificial environment is accompanied by stress, in which oxidative processes increase, leading to damage of biological membranes and disruption of cell functioning. Blood samples were analyzed using an Axio Imager.M2 microscope (Carl Zeiss, Germany). The analysis of enzymatic activity (units / mg of protein) was carried out on a UV-1800 double-beam spectrophotometer (Shimadzu, Japan). The obtained results indicate that in case of trecresan adaptogen application, there was a tendency to a proportion increase of monocytes, platelets and stab neutrophils. There is an increase of the total amount of intracellular hemoglobin, superoxide dismutase and catalase activity in erythrocytes and in the blood of fish bred with application of trecresan adaptogen. Trecresan induces production of interferons, increases the body immune status, activating cellular and humoral immunity, leads to a decrease of toxic products formed during lipid peroxidation by increasing the activity of enzyme unit in the antioxidant system and ensures antioxidant defense improvement of sharptooth catfish bred in an artificial environment. It strengthens the body immune system and increases resistance to adverse environmental factors. In our studies, trecresan revealed itself as a mild, effective immunomodulator.

Bibliography

1. Effects of *Bacillus subtilis* and *Bacillus licheniformis* on catfish in industrial aquaculture / E. Romanova, E. Spirina, V. Romanov, V. Lyubomirova, L. Shadyeva // E3S Web of Conferences. XIII International Scientific and Practical Conference "State and Prospects for the Development of Agribusiness. - INTERAGROMASH, 2020. -- P. 02013.

2. Anthology of cells and tissues of the gastrointestinal tract of African catfish in high-tech industrial aquaculture / E. Spirina, E. Romanova, V. Romanov, V. Lyubomirova, L. Shadyeva, T. Shlenkina, L. Rakova // IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. 12th International Scientific Conference on Agricultural Machinery Industry. - INTERAGROMASH, 2019. -- P. 012220.

3. Zhuravlev, A. I. Free radical biology: lecture / A. I. Zhuravlev, V. P., V.P. Pantyushenko. - Moscow: Moscow Veterinary Academy, 1989. -- 60 p.

4. Oganisyan, A. O. Changes in succinate dehydrogenase activity in various parts of the brain during combined exposure to vibration and licorice root / A. O. Oganisyan, K. R. Oganisyan, S. M. Minasyan // Neuroscience and behavioral physiology. - 2005. - Vol. 35, No. 5. - P. 545-548.

5. Specification of erythrocyte catalase activity as an indicator of the organism antioxidant defense of the of laboratory animals under the influence of vanadium pentoxide / L. N. Samykina, O. Ya. Skazkina, N. I. Drozdova, I. M. Ibragimov // Izvestiya of Samara Scientific Center of the Russian Academy of Sci-

ences ... - 2010. - V. 12, No. 1 (6). - P. 1497-1502.

6. Shabanov, P.D. Adaptogens and antihypoxants / P.D. Shabanov // *Reviews on clinical pharmacology and medication therapy*. - 2003. - V. 2, No. 3. - P. 50–81.

7. Adaptogens and related groups of drugs - 50 years of search / E. P. Studentsov, S. M. Ramsh, N. G. Kazurova, O. V. Neporozhneva, A. V. Garabadzhiu, T. A. Kochina, M. G. Voronkov, V. A. Kuznetsov, D. V. Krivorotov // *Reviews on clinical pharmacology and medication therapy*. - 2013. -- V. 11 (4). - P. 3-43.

8. Shabanov, P.D. The concept of adaptogens: origins, current state, prospects / P.D. Shabanov // *Act. speech at 2nd Lazarev's readings*. - St. Petersburg: VMedA, 2002. -- 72 p.

9. Pharmacological properties and clinical effects of trecrezan / M.G. Voronkov, O.P. Kolesnikova, M.M. Rasulov, A.N. Mirskova // *Chemical and pharmacological journal*. - 2007. - V. 41, No. 5. - P. 13-17.

10. Usage of trecrezan for increase of reproductive capacity of mammals and viability of their offsprings / M.G. Voronkov, A.P. Dyban, V.M. Dyakov, N.L. Simbirtsev // *Reports of RAS*. - 1999. - V. 364, No. 5. - P. 703–707.

11. Efficiency of trecrezan application in the rations of chickens / M.G. Voronkov, Kh. N. Mukhitdinova, M.K. Nurbekov, M.M. Rasulov // *Reports of the Russian Academy of Agricultural Sciences*. - 2003. - No. 2. - P. 39-42.

12. Shabanov, P.D. Pharmacology of trecrezan - a new immunomodulator and adaptogen / P.D. Shabanov, I.V. Zarubina, E.V. Mokrenko // *Reviews on clinical pharmacology and medication therapy*. - 2014. -- V. 12 (2). - P. 12-27.

13. Trecrezan as a metabolic activator with the properties of meteoadaptogen, psychoenergizer and immunomodulator (theoretical and experimental substantiation) / P.D. Shabanov [et al.] // *Vestnik of the Russian Military Medical Academy*. - 2006. - No. 1 (15). - P. 53–57.

14. Shabanov, P.D. Neuroprotector metaprot: action mechanism and new clinical usage directions / P.D. Shabanov // *Medical almanac*. - 2011. - No. 1 (14). - P. 197-199.

15. Shabanov, P.D. Psychopharmacology / P.D. Shabanov. - St. Petersburg: Publishing house N-L, 2008. -- 384 p.

16. Trecrezan as a metabolic activator with the properties of meteoadaptogen, psychoenergizer and immunomodulator (theoretical and experimental substantiation) / P.D. Shabanov, V. P. Ganapolsky, A. B. Zhumasheva, A. A. Elistratov // *Vestnik of the Russian military medical academy*. - 2006. - No. 1 (15). - P. 53–57.

17. Metabolic activator trecrezan: study of meteoadaptogenic and immunomodulatory properties / P.D. Shabanov, V.P. Ganapolsky, I.V. Zarubina [et al.] // *Neurosciences*. - 2006. - V. 2, No. 3 (5). - P. 43–48.

18. Immunomodulator trecrezan: profile of general and immunotropic activity / P.D. Shabanov, I.V. Zarubina, A.V. Bolekhan [and others] // *Consulting physician*. - 2006. - No. 6. - P. 34-35.

19. Metabolic correctors of hypoxia / P. D. Shabanov, I. V. Zarubina, V. E. Novikov, V. N. Tsygan. - St. Petersburg: Inform-navigator, 2010. -- 916 p.

20. Trecrezan immunomodulator / P. D. Shabanov, I. V. Zarubina, A. V. Bolekhan [and others] // *Russian medical journal*. - 2005. - V. 13, No. 20. - P.1361.

21. Yushkov, V. V. Immunocorrectors: a guide for doctors and pharmacists / V. V. Yushkov, T. A. Yushkova, A. V. Kazyanin. - Yekaterinburg: IRA UTK, 2002. -- 255 p.

22. Guidelines for carrying out hematological examination of fish. Ministry of Agriculture and Food of the Russian Federation (Ministry of Agriculture and Food of Russia) No. 13-4-2 / 1487 dated February 02, 1999

23. Zhiteneva, L. D. Atlas of normal and pathologically altered fish blood cells / L. D. Zhiteneva, T. G. Poltavtseva, O. A. Rudnitskaya. - Rostov-on-Don: Publishing house, 1989. - 112 p.

24. Nishikimi, M. The occurrence of superoxide anion in the reaction of reduced phenazine / M. Nishikimi, N. A. Rao, K. Jagik // *Biochim. Biophys. Res. Com.* - 1972. - Vol. 46, No. 2. - P. 849–854.

25. Asatiani, V. S. Enzymatic analysis methods / V. S. Asatiani. - Moscow: Nauka, 1969. - 611 p.

26. Aebi, H. Catalase in vitro / H. Aebi // *Methods Enzymology*. - 1984. - Vol. 105. - P. 121-126.

27. Rebrova, O. Yu. Statistical analysis of medical data. Application of the STATISTICA software package / O. Yu. Rebrova. - Moscow: MediaSfera, 2000. - 312 p.