

ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ЭФФЕКТЫ ПРИМЕНЕНИЯ АНЕСТЕЗИРУЮЩИХ ПРЕПАРАТОВ НА КОСТИСТЫХ РЫБАХ (ОБЗОР)

© 2021 г. А. А. Солдатов^{a, b, *}

^aИнститут биологии южных морей им. А.О. Ковалевского Российской академии наук, Севастополь, Россия

^bСевастопольский государственный университет, Севастополь, Россия

*e-mail: alekssoldatov@yandex.ru

Поступила в редакцию 23.01.2020 г.

После доработки 25.03.2020 г.

Принята к публикации 25.05.2020 г.

Обобщены данные о функциональных аспектах действия на организм рыб более 25 видов химических средств и физических факторов, применяемых в целях анестезии. Показано, что большинство наркотических агентов оказывают явно выраженное стрессорное действие на организм рыб и радикально изменяют его состояние. Многие вызывают функциональный отклик на уровне отдельных физиологических систем (дыхание, кровообращение, кровь) и изменяют характер течения метаболических процессов. Сделан вывод, что применение анестезирующих препаратов в практике научных исследований должно носить дифференцированный характер. Так, применение изоэвгенола (AQUI-S) не влияло на уровень кортизола и катехоламинов в крови. Пропанидид и уретан были нейтральны в отношении респираторной и циркуляционной систем. На сердечную ритмику не оказывали влияние альфаксалон и кетамин. Гематологические показатели не претерпевали статистически значимых изменений при применении тиопентала. Процессы углеводного обмена тканей рыб малочувствительны к следующим анестезирующим агентам: к AQUI-S, уретану, хлоргидрату, а также к сочетанию хинальдина с миорелаксантом (диазепамом). Анализ стадий развития наркотического состояния у рыб выявил преимущество применения уретана, хлоргидрата, гвоздичного масла и AQUI-S. Для данных видов анестезии не характерно развитие состояния возбуждения, а особи многих видов сразу переходили в наиболее приемлемую для проведения манипуляционных мероприятий с рыбой стадию покоя (утрата болевой чувствительности). Учет представленной выше информации в научной практике позволяет снизить побочные функциональные эффекты, которые могут быть вызваны манипуляционными мероприятиями, а также применением отдельных наркотических агентов. Это предоставляет возможность получать более надежные результаты, особенно при проведении экспериментальных работ.

Ключевые слова: анестезия, стресс, дыхание, кровообращение, кровь, метаболизм

DOI: 10.31857/S0320965220060169

Отлов, транспортировка, пересадка и другие виды манипуляций с рыбой характерны не только для рыбохозяйственной практики, но и большинства научных исследований. Эти процедуры объединяются термином “handling stress” (манипуляционный стресс) (Barton et al., 1998; Morales et al., 2005; Purbosari et al., 2019; Sumpter, 1997; Wendelaar, 1997). В последнее время ему уделяется пристальное внимание, так как он оказывает существенное влияние на функциональное состояние особей и в конечном итоге искажает результаты экспериментов (Krejszefz et al., 2013). Известно повреждающее действие манипуляционного стресса на тканевые структуры рыб и, как следствие, изменение осмотического баланса их плаз-

мы крови (Laidley, Leatherland, 1988; Smith, 1992). Отмечены также усиление анаэробных процессов в тканях (Smith, 1992; Carragher, Rees, 1994), падение тканевого уровня АТФ (Naux et al., 1985), изменение клеточного состава на уровне гемопоэтических органов и циркулирующей крови (Pearson, Stevens, 1991), перестройки гормонального статуса организма (Laidley, Leatherland, 1988; Thomas, Robertson, 1991; Carragher, Rees, 1994; Vijayan et al., 1997; Barton, 2000), белкового, углеводного и липидного обмена (Braley, Anderson, 1992; Sherwani, Parwez, 2000).

Использование анестезии, в этой связи, позволяет предотвратить или существенно уменьшить повреждения (Neiffer, Stamper, 2009; Silbernagel, Yochem, 2016; Martins et al., 2019). При этом немаловажное значение имеет тип применяемого наркотического агента и физиологические аспек-

Сокращения: AQUI-S – изоэвгенол; MS-222 – трикаинметансульфонат натрия.

ты его действия. Некоторые виды анестетиков вызывают у рыб реакцию избегания (Readman et al., 2017). В практике научных исследований используется достаточно широкий арсенал различных анестетиков: MS-222, хлорбутанол, хинальдин, менакаин, пропоксат, метомидат и многие другие (Zahl et al., 2011; Popovic et al., 2012; Kazuñ, Siwicki, 2012; Valentim et al., 2016; Purbosari et al., 2019). В ряде случаев применяют гвоздичное масло (Akbulut et al., 2011; Simões et al., 2011) и препараты, разработанные на его основе (Javaheri, Moradlu, 2012; Chance et al., 2018;), миорелаксанты и нестандартные методы анестезии: холодной шок, электрошок, высокие концентрации CO₂, иммобилизацию (Barham, Schoonbee, 1990; Yokoyama et al., 1996; Marx et al., 1996; Trushenski et al., 2013; Githuria et al., 2016; Regan et al., 2016).

В настоящем обзоре делается акцент на сравнительной оценке функциональных эффектов, вызываемых различными видами анестетиков на уровне эндокринной системы, кислородтранспортных систем и процессов энергетического обмена в тканевых структурах костистых рыб.

Цель работы — дать оптимальный перечень наркотических агентов для использования в практике научных исследований.

Анестезия и состояние стресса

Применение анестезии при исследовании рыб необходимо для ограничения (исключения) функциональных эффектов манипуляций, болевых воздействий, которые способны изменять состояние организма при проведении различных экспериментальных работ, оперативных вмешательств, процедурах отбора проб и т.д. При этом сам наркотический агент не должен быть причиной развития состояния стресса. Маркеры этого состояния — повышение концентрации в системах циркуляции глюкокортикоидов (кортизола) и катехоламинов (адреналина, норадреналина).

К сожалению, большинство применяемых анестетиков являются стрессорными агентами. Так, у всех рыб, подверженных действию MS-222, отмечали существенное увеличение концентрации в крови кортизола и адреналина (Small, 2003; King et al., 2005; Barton, Peter, 2006; Kiessling et al., 2009; Iwama et al., 2011; Zahl et al., 2011; Popovic et al., 2012). Данный препарат активизировал группу генов (TNFA-3) в головной почке рыб, ответственных за развитие реакции стресса (Chance et al., 2018). Оказалось, что многие из известных препаратов вызывают эффект, близкий к MS-222. Рост содержания кортизола в плазме крови показан для 2-феноксиэтанола, бензокаин-гидрохлорида, изоэвгенолметомидата, метомидата (Sandodden et al., 2001; King et al., 2005; Barton, Peter, 2006; Kiessling et al.,

2009; Karlsson-Drangsholt et al., 2011; Zahl et al., 2011). Применение метомидата, 2-феноксиэтанола, бензокаин-гидрохлорида также сопровождалось повышением уровня катехоламинов (Epple et al., 1993; Iwama et al., 2011). Наиболее эффективным принято считать 2-феноксиэтанол, так как его последствия, в сравнении с другими анестетиками (MS-222, метомидат), наблюдаются в течение более короткого промежутка времени (Weber et al., 2009).

В качестве эффективного наркотического агента в последнее время применяют гвоздичное масло (активное начало — эвгенол). По силе действия оно близко к MS-222 (Anderson et al., 1997). Важным достоинством данного типа анестезии считается короткий период последствий. Двигательная активность рыб и их поведенческие реакции восстанавливаются в течение трех–пяти мин (Soto, 1995; Peake, 1998; Mylonas et al., 2005; Weber et al., 2009). Высокие температуры ускоряют развитие наркотического эффекта, а также процесс восстановления физиологических функций у рыб после прекращения действия наркотического агента (Kildea et al., 2004; Woolsey et al., 2004; Kristan et al., 2014). Гвоздичное масло при этом не исключало возникновение состояния стресса у рыб. Уровень кортизола и трийодтиронина в их плазме крови при применении данного анестетика был повышен (Small, 2003; Holloway et al., 2004; King et al., 2005), а у особей морского окуня сохранялась и болевая чувствительность, в отличие от случаев использования метомидата и MS-222 (King et al., 2005).

К близким к гвоздичному маслу наркотическим агентам относится вододиспергируемый жидкий анестетик AQUI-S. В качестве активного начала он содержит изоэвгенол. AQUI-S рекомендован к применению в рыбоводной практике в Австралии, Чили, Новой Зеландии, Корею, Коста-Рике, Норвегии и Гондурасе (Javaheri, Moradlu, 2012). Седативный эффект применения данного анестетика наблюдали при низких концентрациях (10–20 мг/л) с относительно коротким периодом восстановления исходного функционального состояния. При этом накопление изоэвгенола тканями рыб не зависело от температуры среды (Kildea et al., 2004). Препарат подавлял чувствительность рыб к манипуляционным воздействиям (Javaheri, Moradlu, 2012). При его действии не выявлен рост содержания кортизола в плазме крови рыб (Davis, Griffin, 2004; Small, 2004; Small, Chatakondi, 2005). Отмечено лишь незначительное понижение содержания хлоридов (Small, Chatakondi, 2005). В генах, ответственных за формирование воспалительных процессов и стресс-ответа, в головных почках рыб, неоднократно подвергавшихся анестезии AQUI-S, не наблюдали каких-либо существенных изменений (Chance et al., 2018). Однако данная реакция, по-видимому, была видоспецифична. У радужной форели, напротив,

регистровали незначительное увеличение концентрации кортизола. Также отмечен рост содержания адреналина и норадреналина в плазме крови у рыб, получавших изоэвгенол (Hill, Forster, 2004).

Величина эффективных доз для всех видов анестезии в значительной степени зависит от факторов среды, массы тела и состояния организма (White et al., 1996; Deacon et al., 1997; Yin et al., 1995; Parma de Sroux, Montagna, 1998; Weyl et al., 2008; Zahl et al., 2009; 2010a). Высокие температуры сокращают время индукции и увеличивают время восстановления исходного функционального состояния рыб после воздействия MS-222 (Zahl et al., 2009; 2010a; Kristan et al., 2014; Me-deiros Júnior et al., 2019).

Физические методы анестезии также не исключают развития состояния стресса у рыб. Сравнительная оценка действия MS-222 и иммобилизации (оглушения) показала, что последняя процедура менее стрессорна (Magx et al., 1996), но увеличение концентрации кортизола в крови рыб также происходило (Holloway et al., 2004). При характеристике действия холодовой анестезии (холодовой шок) авторы обычно ограничиваются описанием поведенческих реакций (Siwicki, 1983; Yokoama et al., 1996). В единственной работе, выполненной на сеголетках радужной форели, констатируется рост содержания кортизола в крови данного вида (Barton, Peter, 2006). Сведения о действии электронаркоза ограничены. Однако считается, что он также оказывает стрессорное действие на организм рыб (Barham, Schoonbee, 1990). Об этом свидетельствовал рост мышечного тетануса у особей гольца (Chiba et al., 1990a).

Из представленной выше информации следует, что большинство применяемых в рыбоводной практике и научных исследованиях наркотических препаратов сами могут выступать в качестве стрессорных агентов. Наиболее перспективным следует считать AQUI-S. Однако у некоторых видов рыб он может вызвать незначительный рост содержания в крови кортизола, адреналина и норадреналина. Поэтому перед применением следует испытать его действие на содержание в плазме крови глюкокортикоидов и катехоламинов.

Отмечено, что основными каналами проникновения наркотических агентов в организм рыб служат жабры и кожа. Это показано для бензокаин-гидрохлорида (Ferreira et al., 2006). Функциональные эффекты анестезии на респираторную систему костистых рыб рассмотрены ниже.

Эффекты анестезии на уровне респираторных систем

Действие наркотических препаратов на дыхательную ритмику рыб неоднозначно. В большин-

стве случаев происходит угнетение деятельности жаберного аппарата. Это отмечали при использовании тиопентала (Hikasa, 1986), гидрохлорид-2-метил-4-винилоксихинолина (Дьяконов, 1980), метомидата (Hansen et al., 2003) и других соединений (Houston et al., 1973). Параллельно происходило снижение скорости потребления кислорода рыбами (Стребкова, 1972). Альфаксалон, кетамин, 2-феноксиэтанол и бензокаин-гидрохлорид оказывали более выраженное действие, вызывая остановку дыхания у особей (Iwama et al., 2011; Zahl et al., 2011). При этом после прекращения действия наркотического агента (2-феноксиэтанола, бензокаин-гидрохлорида) наблюдали существенное повышение частоты дыхания относительно исходного состояния организма (Kiessling et al., 2009).

Действие MS-222, напротив, сразу сопровождалось ростом дыхательной ритмики у рыб (Hikasa, 1986; Hedrick, Winmill, 2003). Одновременно происходила вазодилатация сосудов жаберных лепестков (Soivio, Hughes, 1978). По общему признанию данное соединение оказывает выраженный асфиксический эффект (Zahl et al., 2011) и вызывает ряд характерных изменений стрессорного порядка в крови и тканях рыб (Davis, Griffin, 2004). При использовании пропанидида и уретана реакция со стороны респираторной системы не была выражена (Oswald, 1978), что позволяет рекомендовать эти соединения к применению в практике научных исследований.

Эффекты анестезии на уровне циркуляционных систем

Одним из самых распространенных препаратов считается MS-222. В настоящее время накоплена обширная информация о физиологических аспектах его действия на организм морских и пресноводных рыб. MS-222 активно накапливается тканевыми структурами сердца (Ryan et al., 1993). Дериваты его обнаружены в печени и почках (Ryan, 1992). Отмечено, что MS-222 вызывает снижение сократительной активности волокон миокарда (Hill et al., 2002) на фоне вазодилатации сосудов периферического русла (Wright, Forster, 2005) и падение диастолического давления (Hill, Forster, 2004).

Реакции со стороны сердечно-сосудистой системы, вызываемые другими наркотическими агентами, были близкими. Начальная тахикардия обычно сменялась выраженной брадикардией с последующей остановкой сердца (Burlison, Smartresk, 1989). Так, при использовании пропоксата сердечная ритмика угнеталась в 3–4 раза (Лиманский, Мартемьянов, 1985). Аналогично действовали 2-феноксиэтанол (Lambooi et al., 2009), метомидат (Hill et al., 2002; Hansen et al., 2003), гидрохлорид-2-метил-4-винилоксихинолин (Дьяконов,

1980) и ряд других препаратов (Houston et al., 1973; Kohbarae et al., 1987). В то же время для альфа-факсалона, пропанидида, кетамина, этрофина и метомидата подобный эффект не был выявлен (Hill, Forster, 2004). Для многих наркотических соединений отмечено также влияние на скорость тканевого кровотока у рыб. AQUI-S оказывал депрессорное действие на сосудистую стенку и понижал сократительную способность миокарда у рыб (Hill et al., 2002; Hill, Forster, 2004; Wright, Forster, 2005). Кокаин-гидрохлорид и этил-3-аминобензоатовая соль метансульфокислоты быстро угнетали тканевой кровоток, тогда как влияние пропанидида и уретана было слабо выражено (Veenstra et al., 1987).

Гематологические эффекты анестезии

Большинство видов анестезии затрагивало гематологические характеристики рыб. Обычно начальный эритроцитоз в последующем сменялся эритропенией с падением уровня гемоглобина в крови и снижением значений гематокрита. Подобна реакция характерна в случае применения бензокаин-гидрохлорида, хлорбутанола, 2-феноксиэтанола, пропоксата, метомидата, феноксиэтанола и пропанидида (Barham, Schoonbee, 1991; Sandodden et al., 2001; Hseu et al., 1994; Soivio et al., 2006). Понижение значений гематокритной величины отмечено и при действии гвоздичного масла и AQUI-S (Davidson et al., 2000; Zahl et al., 2010b). Иммобилизация также сопровождалась снижением уровня гемоглобина и числа эритроцитов в крови рыб (Oikari, Soivio, 1975; Hoffman et al., 1982).

Действие MS-222, феноксиэтанола и этомидата было противоположно: увеличивались концентрация гемоглобина и число эритроцитов в крови (Pearson, Stevens, 1991; Ryan, 1992; Handa et al., 1996; Soivio et al., 2006; Witeska et al., 2015), происходила коррекция положения кривой оксигенации гемоглобина (Soldatov, 1997; Soldatov et al., 2010). В последнем случае увеличивалась концентрация АТФ в клетках красной крови. Это сопровождалось снижением сродства гемоглобина к кислороду, что облегчало процесс деоксигенации на тканевом уровне. Применение элекронаркоза (постоянный ток 210 В; переменный ток 60 В, 50 Гц) также вызывало устойчивое повышение числа эритроцитов в крови, что связывают с опорожнением селезенки (Barham, Schoonbee, 1991).

При использовании тиопентала существенных гематологических изменений не выявлено (Стребкова, 1972), однако отмечено увеличение размеров очага эритропоэза в кроветворной ткани почек сеголетков зеркального карпа. Сходный эффект на кроветворную ткань оказывала и процедура иммобилизации (Oikari, Soivio, 1975; Hoffman et al., 1982).

MS-222, напротив, подавлял процессы эритропоэза в кроветворной ткани рыб (Маргаритов, 1984).

К гематологическим эффектам анестезии следует также отнести увеличение числа лейкоцитов (бензокаин-гидрохлорид, тиопентал) (Стребкова, 1972; Soivio et al., 2006; Chance et al., 2018) и тромбоцитов в крови (хлорбутанол) (Hoffman et al., 1982), снижение активности комплемента и подавление реакции фагоцитоза (бензокаин, 2-феноксиэтанол, сульфат хиналдин) (Ortuño et al., 2002), увеличение времени формирования кровяного сгустка (электронаркоз) (Siwicki, 1983), ускорение реакции оседания эритроцитов (MS-222) (Smit et al., 1979). Действие феноксиэтанола и этомидата сопровождалось лимфопенией, нейтрофилезом, моно- и тромбоцитозом (Witeska et al., 2015).

Значительные изменения под действием наркотических агентов выявлены и на уровне циркулирующих форменных элементов крови рыб. Применение элекронаркоза (постоянный ток 210 В; переменный ток 60 В, 50 Гц) вызывало снижение стойкости эритроцитов к осмотическому шоку (Barham et al., 1988). Сходное действие оказывал бензокаин-гидрохлорид, при этом отмечено усиление внутрисосудистого лизиса клеток красной крови (Soivio et al., 2006; Zahl et al., 2011). Рост MCV (mean cell volume) зарегистрирован и при действии прописцина (Velisek et al., 2009; Kazuń, Siwicki, 2012; Rożyński et al., 2018).

MS-222 также вызывал набухание циркулирующих эритроцитов (свеллинг) (Pearson, Stevens, 1991; Ryan, 1992; Soivio et al., 2006; Zahl et al., 2011) и частичный их лизис (Korcock et al., 1988). При этом активность ферментов антиоксидантной защиты клеток не претерпевала статистически значимых изменений (Gabryelak et al., 1989). Следствием увеличения MCV был выраженный рост значений гематокрита (Pearson, Stevens, 1991; Ryan, 1992; Korstrom et al., 1996; Soivio et al., 2006; Iwama et al., 2011) и снижение среднечелочной концентрации гемоглобина (Pearson, Stevens, 1991). Данная реакция, по-видимому, результат трансмембранного H^+/Na^+ обмена между эритроцитами и плазмой, поскольку набухание клеток происходило на фоне увеличения концентрации адреналина и других катехоламинов в крови (Spotte et al., 1991; Handa et al., 1996; Iwama et al., 2011).

Наркоз и электролитный состав плазмы крови

Из анализа имеющихся работ следует, что многие наркотические агенты оказывают существенное влияние на электролитный состав плазмы крови. В основе этих изменений лежат процессы, реализуемые, прежде всего, на уровне респираторных поверхностей. Так, метомидат и 2-феноксиэтанол вызывали развитие осмотического стресса из-за

остановки дыхания и недостаточного обмена ионов и газов между кровью и водой (Kporh, 1995; Zahl et al., 2011). При этом, в крови повышалось содержание Mg^{2+} (Soivio et al., 2006). Аналогичное действие оказывал бензокаин-гидрохлорид (Soivio et al., 2006), в крови увеличивалось не только содержание Mg^{2+} , но и K^+ . Действие метомидата, гвоздичного масла и AQUI-S было противоположное – содержание K^+ в плазме крови понижалось (Davidson et al., 2000; Zahl et al., 2010b; Karlsson-Drangsholt et al., 2011; Simões et al., 2011).

Наиболее радикальные изменения в крови рыб происходили под воздействием MS-222. В плазме не только повышались концентрации K^+ и Mg^{2+} (Laidley, Leatherland, 1988; Soivio et al., 2006), но и происходили разнонаправленные изменения концентраций Na^+ , Ca^{2+} и Cl^- (Laidley, Leatherland, 1988). По-видимому, подобная динамика была следствием лизиса части циркулирующей эритроцитарной массы, о чем сообщалось выше. Изменение концентрации Ca^{2+} в крови рыб отмечены и при действии прописцина (Velisek et al., 2009; Kaziñ, Siwicki, 2012; Rożyński et al., 2018). У рыб, многократно подвергнутых анестезии MS-222 или AQUI-S, в жабрах выявлена повышенная экспрессия генов, ответственных за процессы осморегуляции (Chance et al., 2018).

Метаболические процессы и анестезия

Многие виды анестезии сопровождаются развитием состояния стресса и асфиксии у костистых рыб. Это, в свою очередь, усиливает анаэробные процессы в тканях и, как следствие, приводит к повышенной продукции лактата, развитию ацидоза (тканях и плазмы крови) и активному использованию углеводных ресурсов организма. Подобные изменения отмечены в организме рыб при действии MS-222, бензокаин-гидрохлорида, 2-феноксиэтанола, пропоксата, пропанидида, метомидата и меноксаина.

Особенно они заметны при применении MS-222. У всех рыб, подверженных действию MS-222, выявляли существенное увеличение содержания в плазме крови глюкозы и лактата (Cornish, Moon, 1986; Wang et al., 1994; Roubach et al., 2001; Ortuño et al., 2002; Harms et al., 2005; Soivio et al., 2006) на фоне снижения содержания гликогена в печени (Velisek et al., 2009). Одновременно развивался выраженный ацидоз на уровне плазмы крови. Значения P_{CO_2} в крови повышались, а P_{O_2} и pH – снижались (Handa et al., 1996; Soivio et al., 2006; Iwama et al., 2011; Zahl et al., 2011). Энергетические ресурсы организма при этом падали. Это нашло отражение в снижении уровня АТФ, повышении пула АДФ, АМФ, PO_4^{3-} , концентрации креатинфосфата (Wang et al., 1994) на фоне увели-

чения активности креатинкиназы (Harms et al., 2005).

В последнее время в качестве альтернативы MS-222 используют препараты прописцина, оказывающие более мягкое действие на ткани рыб (Velisek et al., 2009; Kaziñ, Siwicki, 2012). Они содержат 0.2%-ный раствор этомидата. После введения препарата в воду с рыбами подавление двигательных рефлексов происходит уже в течение двух–четырех мин. Однако действие этого препарата приводит к повышению содержания глюкозы и лактата в крови (Velisek et al., 2009; Rożyński et al., 2018).

Бензокаин-гидрохлорид, 2-феноксиэтанол, пропоксат, пропанидид, метомидат и меноксаин также вызывали развитие ацидоза периферического русла крови. Это выражалось в росте P_{CO_2} в плазме и снижении значений pH (Cooper, Morris, 1998; Soivio et al., 2006; Iwama et al., 2011; Zahl et al., 2011). В случае с 2-феноксиэтанолом, бензокаином и хинальдином данные изменения происходили на фоне повышения содержания в крови глюкозы и лактата при снижении уровня гликогена в печени (Hseu et al., 1994; Sandodden et al., 2001; Ortuño et al., 2002; Davis, Griffin, 2004; Soivio et al., 2006; Velisek et al., 2009; Zahl et al., 2010b; Karlsson-Drangsholt et al., 2011). Более эффективным оказалось применение хинальдина вместе с миорелаксантом (диазепамом) (Yanar, Kumlu, 2001). Однако они также усиливали анаэробные процессы в организме рыб. При действии бензокаин-гидрохлорида, 2-феноксиэтанола и фентиамина отмечено также снижение уровня АТФ в крови при одновременном росте концентрации ADP, AMP и креатинфосфата (Chiba et al., 1990c; Chiba, Chichibu, 1992). Действие метомидата и уретана на фосфорный обмен было менее выраженным (Chiba, Chichibu, 1993; Groettum et al., 1998). Физические методы анестезии (электронаркоз) также приводили к развитию аналогичных изменений в крови рыб: росту концентрации глюкозы, лактата, снижению содержания АТФ и креатинфосфата (Barham, Schoonbee, 1990; Chiba et al., 1990a, 1990b).

Развитие плазменного ацидоза отмечено и при использовании повышенных концентраций CO_2 в качестве анестезирующего средства (Trushenski et al., 2013; Githuria et al., 2016; Regan et al., 2016). Показано, что CO_2 блокирует экскрецию бикарбонатов жабрами, что приводит к развитию ацидоза крови (Post, 1979). У радужной форели и карпа это сопровождалось значительным повышением уровня P_{CO_2} в плазме и снижением pH (Itazawa, Takeda, 1982; Yoshikawa et al., 1991a; 1993; 1996; Marx et al., 1996; Iwama et al., 2011). Также считается, что наркотическое действие CO_2 опосредуется через изменения Cl^- и HCO_3^- -градиентов на

уровне мембран нервных клеток, что нарушает функцию ГАМК-стробированных анионных каналов (ГАМК-рецепторов) (Regan et al., 2016). Одновременно происходит быстрое снижение содержания АТФ, креатинфосфата и гликогена (Yokoyama et al., 1993; 1996). В некоторых случаях отмеченные изменения приводят к развитию аноксических состояний (Post, 1979). По данным других авторов величина P_{O_2} в плазме не претерпевает статистически значимых изменений (Itazawa, Takeda, 1982).

Препараты гвоздичного масла, AQUI-S оказывали неоднозначное действие. В ряде исследований в крови рыб отмечали повышение содержания лактата (Davidson et al., 2000; Zahl et al., 2010b). При этом роста содержания глюкозы в плазме, как в случае с метомидатом, MS-222 и другими анестетиками, при использовании гвоздичного масла и AQUI-S не наблюдали (Davis, Griffin, 2004; Holloway et al., 2004; Small, 2004; Small, Chatakondi, 2005; Velisek et al., 2009).

К реакциям, вызываемым в организме рыб MS-222 и прописцином, следует также отнести усиление процессов белкового катаболизма (Laidley, Leatherland, 1988; Wang et al., 1994; Harms et al., 2005; Velisek et al., 2009; Kazuñ, Siwicki, 2012). Это выразилось в увеличении продукции NH_4^+ жабрами рыб (Velisek et al., 2009; Rożyński et al., 2018), а также в росте активности ряда ферментов белкового обмена (аспартатаминотрансферазы) (Harms et al., 2005).

В отличие от рассмотренных выше видов анестезии, для уретана, хлоргидрата и пропанидида наблюдали умеренное действие, при котором не регистрировали изменений, характерных для рассмотренных выше видов анестезии (Veenstra et al., 1987; Chiba, Chicibu, 1993; Epple et al., 1993).

Стадии развития наркотического состояния

Во многих исследованиях отмечено, что действие анестетика вызывает ряд последовательных поведенческих реакций у рыб, отражающих изменение состояния их организма. При этом общая схема развития наркотического состояния одинакова независимо от применяемых препаратов: возбуждение → покой → потеря равновесия → потеря двигательных рефлексов → асфиксия.

Первая стадия (**возбуждение**) характеризовалась резким возрастанием двигательной активности и обменных процессов. Последнее нашло отражение в увеличении частоты дыхательных движений жаберных крышек. Такое состояние развивалось в случае применения хлорбутанола, хинальдина, пропанидида, высоких концентраций CO_2 и холодового шока (Yoshikawa et al., 1991a).

Однако стадию возбуждения рыб наблюдали при всех использованных видах анестезии. Так, при применении уретана, хлоргидрата, 2-феноксиэтанола, метомидата, 2-метил-4-винилоксихинолина, MS-222, бензокаина и гвоздичного масла AQUI-S особи сразу переходили в **стадию покоя** (Akbulut et al., 2011; Iwama et al., 2011; Medeiros Júnior et al., 2019; Soldatov, 2005; Zahl et al., 2010b). Для нее характерен нормальный дыхательный ритм и исчезновение реакции испуга. Считается, что стадия покоя наиболее приемлема для проведения манипуляционных мероприятий с рыбами (Soldatov, 2005; Weber et al., 2009).

Стадию потери равновесия наблюдали при всех видах анестезии. Особи вначале покачивались, затем начинали вращаться вокруг продольной оси, переходя к плаванию вверх брюхом. При этом предпринимались активные попытки восстановления равновесия, что обычно было сопряжено с активизацией дыхательной ритмики (Iwama et al., 2011; Soldatov, 2005). Развитие данной стадии наркоза обычно связывают с блокированием нервно-мышечной передачи (Oswald, 1978).

Для стадии **потери двигательной активности** характерно прекращение плавательных движений, отсутствие реакции на болевые раздражители и снижение, но устойчивость дыхательной ритмики (Soldatov, 2005; Iwama et al., 2011). За ней следовали изменения характера ЭЭГ (рост низкочастотной и высоко-амплитудной ритмики) (Yoshikawa et al., 1991b; Lambooi et al., 2009), прогрессивное снижение частоты дыхательных движений и сердечной деятельности, что приводило к развитию асфиксии и гибели особей (Mylonas et al., 2005). Во избежание летального исхода ряд авторов в условиях глубокой анестезии рыб применяли искусственное орошение жабр, что в конечном итоге предотвращало развитие удушья (Takeda, 1987).

В большинстве исследований наркотический агент вводили в воду аквариума, где содержали рыбу. В крайне редких случаях использовали внутривенное (хвостовая вена) и паритальное введение препаратов. Сравнительный анализ показал, что внутрибрюшинные инъекции наименее эффективны (Миросниченко, 1990). Введение препаратов в воду требует более значительных дозировок, но почти не оказывает стрессорного действия на организм рыб и поэтому предпочтительнее.

Наиболее подробно изучено действие уретановой анестезии на организм 12 видов морских рыб (Soldatov, 2005). Показано, что данное соединение в концентрации 1.5–2.2 г/л вызывает развитие у рыб трех последовательных состояний: покоя, возбуждения и глубокого наркоза, которые проявляются по мере увеличения концентрации уретана в воде. Период покоя сохраняется продолжительный промежуток времени (1.5–3 ч) и наблюдается в достаточно широком диапазоне

концентраций уретана в воде. У особей исчезает реакция испуга, болевая чувствительность, а физиологическое состояние носит относительно устойчивый характер. Период возбуждения совпадает с потерей координации движений, некоторой интенсификацией обменных процессов и повышением вариабельности контролируемых показателей. При глубоком наркозе полностью теряется двигательная активность, прогрессирующе снижается дыхательная и сердечная ритмика, развивается тканевая гипоксия. Предлагается использовать первую стадию уретановой анестезии (период покоя) в качестве рабочей при проведении экспериментальных исследований. Изучена также зависимость эффективных доз уретана от температуры, солености, концентрации кислорода в воде и двигательной активности рыб (Soldatov, 2005). Необходимо отметить, что продукты распада данного соединения (CO₂, вода, мочевины) вполне физиологичны и не должны оказывать токсического действия на организм.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Большинство наркотических агентов (MS-222, 2-феноксэтанол, бензокаин, хинальдин, пропоксат, иммобилизация, холодовой шок и др.) демонстрируют явно выраженный стрессорный эффект в организме рыб и радикально изменяют их состояние. Многие анестетики вызывают функциональный отклик на уровне отдельных физиологических систем (дыхание, кровообращение, кровь) и изменяют характер течения метаболических процессов. Следовательно, применение анестезирующих препаратов при исследовании рыб должно носить дифференцированный характер. Так, использование AQUI-S не влияло на уровень кортизола и катехоламинов в крови. Пропанидид и уретан были нейтральны в отношении респираторной и циркуляционной систем. На сердечную ритмику не оказывали влияния альфаксалон и кетамин. Гематологические показатели существенно не изменялись при применении тиопентала. Процессы углеводного обмена тканей рыб были малочувствительны к следующим анестезирующим агентам: AQUI-S, уретан, хлоргидрат, а также сочетанию хинальдина с миорелаксантом (диазепамом). Анализ стадий развития наркотического состояния у рыб выявил преимущество применения уретана, хлоргидрата, гвоздичного масла и AQUI-S. Для данных типов анестезии не было характерно развитие состояния возбуждения, а особи многих видов рыб сразу переходили в стадию покоя, которая наиболее приемлема для проведения манипуляций с ними (утрата болевой чувствительности). Учет представленной информации позволяет снизить побочные функциональные эффекты, которые могут вызвать манипуляционные действия, а также применение отдельных нар-

котических агентов. Это предоставляет возможность получать более надежные результаты, особенно при проведении экспериментальных работ.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена в рамках Гостемы АААА-А18-118021490093-4 и при частичной поддержке проекта Российского фонда фундаментальных исследований 20-44-920001.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Дьяконов Ю.Н.* 1980. Влияние наркотизирующего препарата гидрохлорид-2-метил-4-винилоксихинолина на дыхание и сердечную деятельность карпа // Сб. науч. тр. НИИ оз. реч. рыб. хоз-ва. № 157. С. 50.
- Лиманский В.В., Мартемьянов В.И.* 1985. Определение глубины наркоза рыб с помощью метода электрокардиографии // VI Всес. конф. по экол. физиол. и биохим. рыб (сентябрь, 1985). Тез. докл. Вильнюс. С. 119.
- Маргаритов Н.* 1984. Влияние анестезирующего препарата трикаин метансульфоната (MS-222) на размерно-возрастной состав эритроцитов периферической крови карпа // Софийск. ун-т. Биол. фак. Зоол. Т. 75. № 1. С. 71.
- Миросниченко О.Р.* 1990. Анестезия карпа путем инъекций // Сб. науч. тр. ВНИИ пруд. рыб. хоз-ва. Вып. 59. С. 163.
- Стребкова Т.П.* 1972. Влияние анестезирующих веществ (тиопентал натрия) на физиологические показатели сеголетков зеркального карпа // Вопр. ихтиологии. Т. 12. № 2. С. 397.
- Akbulut B., Çakmak E., Aksungur N., Çavdar Y.* 2011. Effect of exposure duration on time to recovery from anaesthesia of clove oil in juvenile of Russian Sturgeon // Turkish J. Fisheries and Aquatic Sciences. V. 11. P. 463. https://doi.org/10.4194/1303-2712-v11_3_17
- Anderson W.G., McKinley R.S., Colavecchia M.* 1997. The use of clove oil as an anesthetic for rainbow trout and its effects on swimming performance // N. Am. J. Fish. Manage. V. 17. № 2. P. 301. [https://doi.org/10.1577/1548-8675\(1997\)017<0301:TUOAOA>2.3.CO;2](https://doi.org/10.1577/1548-8675(1997)017<0301:TUOAOA>2.3.CO;2)
- Barham W.T., Schoonbee H.J.* 1990. A comparison of the effects of alternating current electronarcosis, rectified current electronarcosis and chemical anaesthesia on the blood physiology of the freshwater bream *Oreochromis mossambicus* (Peters). 1. The effect on blood pH, pO₂, pCO₂, glucose, lactate, LDH and HBDH // Comp. Biochem. Physiol. V. 96C. № 2. P. 333.
- Barham W.T., Schoonbee H.J.* 1991. A comparison of the effects of alternating current electronarcosis, rectified current electronarcosis and chemical anaesthesia on the blood physiology of the freshwater bream *Oreochromis mossambicus* (Peters). 2. The effect on haematocrit, haemoglobin concentration, red cell count, mean cell volume, mean cell haemoglobin and mean cell haemoglobin concentration // Comp. Biochem. Physiol. V. 98A. № 2. P. 179.

- Barham W.T., Schoonbee H.J., Visser J.G.J., Smit G.L. 1988. A comparison of red-cell fragilities of electronarcotized and chemically anaesthetized freshwater bream, *Oreochromis mossambicus* // Comp. Biochem. Physiol. V. 91A. № 2. P. 241.
- Barton B.A. 2000. Salmonid fishes differ in their cortisol and glucose responses to handling and transport stress // North American Journal of Aquaculture. V. 62. P. 12. [https://doi.org/10.1577/1548-8454\(2000\)062<0012:SFDITC>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1577/1548-8454(2000)062<0012:SFDITC>2.0.CO;2)
- Barton B.A., Peter R.E. 2006. Plasma cortisol stress response in fingerling rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, to various transport conditions, anaesthesia, and cold shock // J. Fish Biol. V. 20. Iss. 1. P. 39. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1982.tb03893.x>
- Barton B.A., Rahn A.B., Feist G. et al. 1998. Physiological stress responses of the freshwater chondrosteian paddlefish (*Polyodon spathula*) to acute physical disturbances // Comp. Biochem. Physiol. V. 120A. P. 355. [https://doi.org/10.1016/S1095-6433\(98\)10036-3](https://doi.org/10.1016/S1095-6433(98)10036-3)
- Braley H., Anderson T.A. 1992. Changes in blood metabolite concentrations in response to repeated capture, anaesthesia and blood sampling in the golden perch, *Macquaria ambigua* // Comp. Biochem. Physiol. V. 103A. № 3. P. 445.
- Burleson M.L., Smatresk N.J. 1989. The effect of decerebration and anesthesia on the reflex responses to hypoxia in catfish // Can. J. Zool. V. 67. № 3. P. 630.
- Carragher J.F., Rees C.M. 1994. Primary and secondary stress responses in golden perch, *Macquaria ambigua* // Comp. Biochem. Physiol. V. 107A. № 1. P. 49.
- Chance R.J., Cameron G.A., Fordyce M. et al. 2018. Effects of repeated anaesthesia on gill and general health of Atlantic salmon, *Salmo salar* // J. Fish Biol. V. 93. Iss. 6. P. 1069. <https://doi.org/10.1111/jfb.13803>
- Chiba A., Chichibu S. 1992. High-energy phosphate metabolism in the phentiazamine hydrobromide anesthetized loach *Cobitis biwae* // Comp. Biochem. Physiol. V. 102C. № 3. P. 433.
- Chiba A., Chichibu S. 1993. High-energy phosphate metabolites in loach (*Cobitis biwae*) during urethane anesthesia // Comp. Biochem. Physiol. V. 106C. № 1. P. 87.
- Chiba A., Hamaguchi M., Kosaka M. et al. 1990a. *In vivo* ³¹P-NMR analysis of the electric anesthetized loach, *Cobitis biswae* // Comp. Biochem. Physiol. V. 97A. № 3. P. 385.
- Chiba A., Hamaguchi M., Kosaka M. et al. 1990b. Energy metabolism in unrestrained fish with *in vivo* ³¹P-NMR // Comp. Biochem. Physiol. V. 96A. № 2. P. 253.
- Chiba A., Hamaguchi M., Tokuno T. et al. 1990c. Changes in high-energy phosphate metabolites in loaches (*Cobitis biwae*) during 2-phenoxyethanol anesthesia // Comp. Biochem. Physiol. V. 97C. № 1. P. 183.
- Cooper A.R., Morris S. 1998. The blood respiratory, haematological, acid-base and ionic status of the Port Jackson shark, *Heterodontus portusjacksoni*, during recovery from anaesthesia and surgery: a comparison with sampling by direct caudal puncture // Comp. Biochem. Physiol. V. 119A. № 4. P. 895.
- Cornish I.M.E., Moon T.W. 1986. The glucose and lactate kinetics of American eels, *Anguilla rostrata* (LeSueur), under MS 222 anaesthesia // J. Fish Biol. V. 28. № 1. P. 1.
- Davidson G., Davie P.S., Young G., Fowler R.T. 2000. Physiological Responses of Rainbow Trout *Oncorhynchus mykiss* to Crowding and Anesthesia with AQUI-S™ // J. World Aquaculture Society. V. 31. Iss. 1. P. 105. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2000.tb00704.x>
- Davis K.B., Griffin B.R. 2004. Physiological responses of hybrid striped bass under sedation by several anesthetics // Aquaculture. V. 233. Iss. 1. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2003.09.018>
- Deacon N., White H., Hecht T. 1997. Isolation of the effective concentration of 2-phenoxyethanol for anaesthesia in the spotted grunter, *Pomadasys commersonnii*, and its effect on growth // Aquarium Sci. Conserv. V. 1. № 1. P. 19.
- Epple A., Navarro I., Horak P., Spector S. 1993. Endogenous morphine and codeine: Release by the chromaffin cells of the eel // Life Sci. V. 52. № 16. P. PL117.
- Ferreira J.T., Schoonbee H.J., Smit G.L. 2006. The uptake of the anaesthetic benzocaine hydrochloride by the gills and skin of three freshwater fish species // J. Fish Biol. V. 25. Iss. 1. P. 35. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1984.tb04848.x>
- Gabryelak T., Zalesna G., Roche H., Peres G. 1989. The effect of MS-222 an anaesthetics on the peroxide metabolism enzymes in erythrocytes of freshwater and marine fish species // Comp. Biochem. Physiol. V. 92C. № 1. P. 5.
- Githuria C.M., Kembenya E.M., Opiyo M.A. 2016. Anaesthetic effects of sodium bicarbonate at different concentrations on african catfish (*Clarias gariepinus*) juveniles // J. Aquacult. Engin. Fish. Res. V. 2. Iss. 3. P. 151. <https://doi.org/10.3153/JAEFR16017>
- Groettum J.A., Erikson U., Grasdalen H., Staurnes M. 1998. *In vivo* ³¹P-NMR spectroscopy and respiration measurements of anaesthetized goby (*Pomatoschistus* sp.) pre-exposed to ammonia // Comp. Biochem. Physiol. V. 120A. № 3. P. 469.
- Handa T., Namba K., Uematsu K., Yoshida M. 1996. Blood properties and cardiovascular function after the cannulation into the dorsal aorta in carp, *Cyprinus carpio* // Appl. Biol. Sci. V. 35. № 2. P. 139.
- Hansen M.K., Nymoen U., Horsberg T.E. 2003. Pharmacokinetic and pharmacodynamic properties of metomidate in turbot (*Scophthalmus maximus*) and halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) // J. Vet. Pharmacol. Ther. V. 26. Iss. 2. P. 95. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2885.2003.00454.x>
- Harms C.A., Lewbart G., Swanson C.R., Boylan S.M. 2005. Behavioral and clinical pathology changes in Koi Carp (*Cyprinus carpio*) subjected to anesthesia and surgery with and without intra-operative analgesics // Comp. Med. V. 55. Iss. 3. P. 221.
- Haux C., Sjobeck M.L., Larsson A. 1985. Physiological stress responses in a wild fish population of perch (*Perca fluviatilis*) after capture and during subsequent recovery // Mar. Environ. Res. V. 15. № 2. P. 77.

- Hedrick M.S., Winmill R.E.* 2003. Excitatory and inhibitory effects of tricaine (MS-222) on fictive breathing in isolated bullfrog brain stem // *AJP Regulatory Integrative and Comparative Physiology*. V. 284. Iss. 2. P. R405. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00418.2002>
- Hikasa Y.* 1986. Anesthesia and recovery with tricaine methanesulfonate, eugenol and thiopental sodium in the carp, *Cyprinus carpio* // *Jap. J. Vet. Sci.* V. 48. № 2. P. 341.
- Hill J.V., Davison B., Forster M.E.* 2002. The effects of fish anaesthetics (MS222, metomidate and AQUI-S) on heart ventricle, the cardiac vagus and branchial vessels from Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) // *Fish Physiol. Biochem.* V. 27. Iss. 1. P. 19. <https://doi.org/10.1023/B:FISH.0000021742.30567.2d>
- Hill J.V., Forster M.E.* 2004. Cardiovascular responses of Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) during rapid anesthetic induction and recovery // *Comp. Biochem. Physiol. Part C*. V. 137. Iss. 2. P. 167. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2004.01.002>
- Hoffman R., Lommel R., Riedl M.* 1982. Influence of different anaesthetics and bleeding methods on hematological values in fish // *Arch. Fischereiwiss.* V. 33. № 1–2. P. 91.
- Holloway A.C., Keene J.L., Noakes D.L.G., Moccia R.D.* 2004. Effects of clove oil and MS-222 on blood hormone profiles in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*, Walbaum // *Aquacult. Res.* V. 35. Iss. 11. P. 1025. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2004.01108.x>
- Houston A.H., Czerwinski C.L., Woods R.J.* 1973. Cardiovascular-respiratory activity during recovery from anesthesia and surgery in brook trout (*Salvelinus fontinalis*) and carp (*Cyprinus carpio*) // *J. Fish. Res. Board Can.* V. 30. № 11. P. 1705.
- Hseu J.R., Yeh Sh.L., Chu Y.T., Ting Y.Y.* 1994. The changes of hematological parameters during sustained anaesthesia with 2-phenoxyethanol in yellowfin porgy (*Acanthopagrus latus*) // *J. Taiwan Fish. Res.* V. 2. № 2. P. 63.
- Itazawa Y., Takeda T.* 1982. Respiration of carp under anaesthesia induced by mixed bubbling of carbon dioxide and oxygen // *Bul. Jap. Soc. Sci. Fish.* V. 48. № 4. P. 489.
- Iwama G.K., Mcgeer J.C., Pawluk M.P.* 2011. The effects of five fish anaesthetics on acid-base balance, hematocrit, blood gases, cortisol, and adrenaline in rainbow trout // *Can. J. Zool.* V. 67. Iss. 8. P. 2065.
- Javaheri S., Moradlu A.H.* 2012. AQUI-S, a new anesthetic for use in fish propagation // *Global Vet.* V. 9. Iss. 2. P. 205. <https://doi.org/10.5829/idosi.gv.2012.9.2.64167>
- Karlsson-Drangsholt A., Rosseland B.O., Massabuau J-C., Kiessling A.* 2011. Pre-Anaesthetic Metomidate Sedation Delays the Stress Response After Caudal Artery Cannulation in Atlantic Cod (*Gadus Morhua*) // *Fish Physiol. Biochem.* V. 38. Iss. 2. P. 401.
- Kazuń K., Siwicki A.K.* 2012. Propiscin – a safe new anaesthetic for fish // *Arch. Pol. Fish.* V. 20. P. 173. <https://doi.org/10.2478/v10086-012-0021-3>
- Kiessling A., Johansson D., Zahl I.H., Samuelsen O.B.* 2009. Pharmacokinetics, plasma cortisol and effectiveness of benzocaine, MS-222 and isoeugenol measured in individual dorsal aorta-cannulated Atlantic salmon (*Salmo salar*) following bath administration // *Aquaculture*. V. 296. Iss. 3–4. P. 301. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.09.037>
- Kildea M.A., Allan G.L., Kearney R.E.* 2004. Accumulation and clearance of the anaesthetics clove oil and AQUI-S™ from the edible tissue of silver perch (*Bidyanus bidyanus*) // *Aquaculture*. V. 232. Iss. 1–4. P. 265. [https://doi.org/10.1016/s0044-8486\(03\)00483-6](https://doi.org/10.1016/s0044-8486(03)00483-6)
- King W., Hooper B., Hillsgrave S., Berlinsky D.L.* 2005. The use of clove oil, metomidate, tricaine methanesulfonate and 2-phenoxyethanol for inducing anaesthesia and their effect on the cortisol stress response in black sea bass (*Centropristis striata* L.) // *Aquacult. Res.* V. 36. Iss. 14. P. 1442. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2005.01365.x>
- Knoph M.B.* 1995. Effects of metomidate anaesthesia or transfer to pure sea water on plasma parameters in ammonia-exposed Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) in sea water // *Fish Physiol. Biochem.* V. 14. № 2. P. 103. <https://doi.org/10.1007/BF00002454>
- Kohbarae J., Nanda K., Murachi S.* 1987. The heart rate of carp anesthetized with tetraethylene glycol dibutyl ether // *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* V. 53. № 4. P. 681.
- Korcock D.E., Houston A.H., Gray J.D.* 1988. Effects of sampling conditions on selected blood variables of rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson // *J. Fish Biol.* V. 33. № 2. P. 319.
- Korstrom J.S., Birtwell I.K., Piercey G.E. et al.* 1996. Effect of hypoxia, fresh water, anaesthesia and sampling technique on the hematocrit values of adult sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*) // *Can. Tech. Rep. Fish. Aquat. Sci.* 34 p.
- Krejszef S., Źarski D., Palińska-Źarska K. et al.* 2013. Procedure for Harmless Estimation of Fish Larvae Weight // *Ital. J. Anim. Sci.* V. 12. Iss. 44. P. 270. <https://doi.org/10.4081/ijas.2013.e44>
- Kristan J., Stara A., Polgesek M. et al.* 2014. Efficacy of different anaesthetics for pikeperch (*Sander lucioperca* L.) in relation to water temperature // *Neuroendocrinol. Lett.* V. 35. Suppl. 2. P. 81.
- Laidley C.W., Leatherland J.F.* 1988. Cohort sampling, anaesthesia and stocking-density effects on plasma cortisol, thyroid hormone, metabolite and ion levels in rainbow trout, *Salmo gairdneri* R. // *J. Fish Biol.* V. 33. № 1. P. 73.
- Lambooj B., Pilarczyk M., Bialowas H., Van de Vis H.* 2009. Anaesthetic properties of Propiscin (Etomidat) and 2-phenoxyethanol in the common carp (*Cyprinus carpio* L.), neural and behavioural measures // *Aquacult. Res.* V. 40. Iss. 11. P. 1328. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2009.02233.x>
- Martins T., Valentim A., Pereira N., Antunes L.M.* 2019. Anaesthetics and analgesics used in adult fish for research: A review // *Laborat. Anim.* V. 53. Iss. 4. P. 325. <https://doi.org/10.1177/0023677218815199>
- Marx H., Brunner B., Weinzierl W. et al.* 1996. Comparative investigations on different methods for stunning fish with special regard to meat quality parameters // *Proceed. Conf. IIR Commission C2. Paris (France): Ins. Inter. Du Froid.* P. 199.
- Medeiros Júnior E.F., Uehara S.A. et al.* 2019. Effectiveness of benzocaine as anesthetic at different water tempera-

- tures for early juvenile curimba (*Prochilodus lineatus* Valenciennes, 1836), a neotropical fish species // *Bol. Inst. Pesca*. V. 45. Iss. 3. P. 474.
<https://doi.org/10.20950/1678-2305.2019.45.3.474>
- Morales A.E., Cardenete G., Abellán E., García-Rejón L. 2005. Stress-related physiological responses to handling in common dentex (*Dentex dentex* Linnaeus, 1758) // *Aquacult. Res.* V. 36. P. 33.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2004.01180.x>
- Mylonas C.C., Cardinaletti G., Sigelaki I., Polzonetti-Magni A. 2005. Comparative efficacy of clove oil and 2-phenoxyethanol as anesthetics in the aquaculture of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and gilthead sea bream (*Sparus aurata*) at different temperatures // *Aquaculture*. V. 246. Iss. 1. P. 467.
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2005.02.046>
- Neiffer D., Stamper M.A. 2009. Fish Sedation, Anesthesia, Analgesia, and Euthanasia: Considerations, Methods, and Types of Drugs // *ILAR J.* V. 50. Iss. 4. P. 343.
<https://doi.org/10.1093/ilar.50.4.343>
- Oikari A., Soivio A. 1975. Influence of sampling methods and anaesthetization on various haematological parameters of several teleosts // *Aquaculture*. V. 6. № 2. P. 171.
- Ortuño J., Esteban M.A., Meseguer J. 2002. Effects of four anaesthetics on the innate immune response of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) // *Fish Shellfish Immunol.* V. 12. Iss. 1. P. 49.
<https://doi.org/10.1006/fsim.2001.0353>
- Oswald R.L. 1978. Injection anaesthesia for experimental studies in fish // *Comp. Biochem. Physiol.* V. 60C. № 1. P. 19.
- Parma de Croux M.J., Montagna M. 1998. Efficacy of benzocaine as an anesthetic for juveniles *Pimelodus clarias maculatus* (Pisces, Pimelodidae) // *Iheringia Ser. Zool.* № 84. P. 29.
- Peake S. 1998. Sodium Bicarbonate and Clove Oil as Potential Anesthetics for Nonsalmonid Fishes // *N. Am. J. Fish Manage.* V. 18. № 4. P. 919.
[https://doi.org/10.1577/1548-8675\(1998\)018<0919:SBACOA>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1577/1548-8675(1998)018<0919:SBACOA>2.0.CO;2)
- Pearson M.P., Stevens E.D. 1991. Size and hematological impact of the splenic erythrocyte reservoir in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* // *Fish Physiol. Biochem.* V. 9. № 1. P. 39.
- Popovic N.T., Strunjak-Perovic I., Coz-Rakovac R. et al. 2012. Tricaine methane-sulfonate (MS-222) application in fish anaesthesia (review) // *J. Appl. Ichthyol.* V. 28. P. 553.
<https://doi.org/10.1111/j.1439-0426.2012.01950.x>
- Post G. 1979. Carbonic acid anesthesia for aquatic organisms // *Progr. Fish-Cult.* V. 41. № 3. P. 142.
- Purbosari N., Warsik E., Syamsuc K., Santosod J. 2019. Natural versus synthetic anesthetic for transport of live fish: A review // *Aquacult. Fish.* № 4. P. 129.
- Readman G.D., Owen S.F., Knowles T.G., Murrell J.C. 2017. Species specific anaesthetics for fish anaesthesia and euthanasia // *Sci. Rep.* V. 7. Iss. 1. P. 7102.
<https://doi.org/10.1038/s41598-017-06917-2>
- Regan M.D., Turko A.J., Heras J. et al. 2016. Ambient CO₂, fish behaviour and altered GABAergic neurotransmission: exploring the mechanism of CO₂-altered behaviour by taking a hypercapnia dweller down to low CO₂ levels // *J. Exp. Biol.* V. 219. P. 109.
<https://doi.org/10.1242/jeb.131375>
- Roubach R., De-Carvalho-Gomes L., Val A.L. 2001. Safest level of tricaine methanesulfonate (MS-222) to induce anesthesia in juveniles of matrinxã, *Brycon cephalus* // *Acta Amazon.* V. 31. № 1. P. 159.
<https://doi.org/10.1590/1809-43922001311163>
- Rożyński M., Demska-Zakęś K., Sikora A., Zakęś Z. 2018. Impact of inducing general anesthesia with Propiscin (etomidate) on the physiology and health of European perch (*Perca fluviatilis* L.) // *Fish Physiol. Biochem.* V. 44. № 3. P. 927.
<https://doi.org/10.1007/s10695-018-0482-4>
- Ryan S. 1992. The dynamics of MS-222 anaesthesia in a marine teleost (*Pagrus auratus: Sparidae*) // *Comp. Biochem. Physiol.* V. 101C. № 3. P. 593.
- Ryan S.N., Davie P.S., Gesser H., Wells R.M.G. 1993. The effect of MS-222 on paced ventricle strips and the perfused heart of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* // *Comp. Biochem. Physiol.* V. 106C. № 2. P. 549.
- Sandodden R., Finstad B., Iversen M. 2001. Transport stress in Atlantic salmon (*Salmo salar*): Anaesthesia and recovery Comparative physiology and biochemistry // *Aquacult. Res.* V. 32. P. 987.
<https://doi.org/10.1046/j.1365-2109.2001.00533.x>
- Sherwani F.A., Parwez I. 2000. Effects of stress and food deprivation on catfish, *Heteropneustes fossilis* (Bloch) // *Indian J. Exp. Biol.* V. 38. № 4. P. 379.
- Simões L.N., Lombardi D.C., Gomide A.T.M., Gomes L.C. 2011. Efficacy of clove oil as anesthetic in handling and transportation of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (Actinopterygii: Cichlidae) juveniles // *Zoologia*. V. 28. Iss. 3. P. 285.
<https://doi.org/10.1590/S1984-46702011000300001>
- Silbernagel C., Yochem P. 2016. Effectiveness of the anesthetic AQUI-S® 20E in marine finfish and elasmobranchs // *J. Wild. Dis.* V. 52. № 2. P. S96-S103.
<https://doi.org/10.7589/52.2S.S96>
- Siwicki A. 1983. Znieczulenie ogolne u ryb. Czesc I. Nowy preparat do znieczulenia ogolnego ryb // *Gosp. Ryb.* V. 35. № 11. P. 5.
- Small B.C. 2003. Anesthetic efficacy of metomidate and comparison of plasma cortisol responses to tricaine methanesulfonate, quinaldine and clove oil anesthetized channel catfish *Ictalurus punctatus* // *Aquaculture*. V. 218. Iss. 1-4. P. 177.
[https://doi.org/10.1016/s0044-8486\(02\)00302-2](https://doi.org/10.1016/s0044-8486(02)00302-2)
- Small B.C. 2004. Effect of isoeugenol sedation on plasma cortisol, glucose, and lactate dynamics in channel catfish *Ictalurus punctatus* exposed to three stressors // *Aquaculture*. V. 238. Iss. 1-4. P. 469.
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.05.021>
- Small B.C., Chatakondi N.G. 2005. Routine Measures of Stress Are Reduced in Mature Channel Catfish during and after AQUI-S Anesthesia and Recovery // *North American J. Aquaculture*. V. 67. Iss. 1. P. 72.
- Smith M.F.L. 1992. Capture and transportation of elasmobranchs, with emphasis on the grey nurse shark (*Carch-*

- arias taurus*) // Aust. J. Mar. Freshwater. Res. V. 43. № 1. P. 325.
- Smit G.L., Hattingh J., Burger A.P. 1979. Haematological assessment of the effects of the anaesthetic MS-222 in natural and neutralized form in three freshwater fish species: haemoglobin electrophoresis, ATP levels and corpuscular fragility curves // J. Fish Biol. V. 15. № 6. P. 655.
- Soivio A., Hughes G.M. 1978. Circulatory changes in secondary lamellae of *Salmo gairdneri* gills in hypoxia and anaesthesia // Ann. zool. fenn. V. 15. № 3. P. 221.
- Soivio A., Nyholm K., Huhti M. 2006. Effects of anaesthesia with MS 222, neutralized MS 222 and benzocaine on the blood constituents of rainbow trout, *Salmo gairdneri* // J. Fish Biol. V. 10. Iss. 1. P. 91. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1977.tb04045.x>
- Soldatov A.A. 1997. Oxygen-Dissociation Properties of Blood and Intraerythrocytic Medium Composition in Sea Fish with Different Motor Activity // J. Evol. Biochem. Physiol. V. 33. № 6. P. 534.
- Soldatov A.A. 2005. Physiological Aspects of Effects of Urethane Anesthesia on the Organism of Marine Fishes // Hydrobiol. J. V. 41. № 1. P. 113. <https://doi.org/10.1615/HydrobJ.v41.i1.130>
- Soldatov A.A., Parfyonova I.A., Novitskaya V.N. 2010. Contents of monovalent cations and ATP in erythrocytes of marine fishes under experimental hypoxia // Ukrain'skyi Biokhimichniy Zhurnal. V. 82. № 2. P. 36.
- Soto C. 1995. Clove oil: A fish anaesthetic // Window Newsl. V. 6. № 2. P. 2.
- Spotte S., Bubucis P.M., Anderson G. 1991. Plasma cortisol response of seawater-adapted mummichogs (*Fundulus heteroclitus*) during deep MS-222 anesthesia // Zool. Biol. V. 10. № 1. P. 75.
- Sumpter J.P. 1997. The endocrinology of stress // Fish stress and health in aquaculture. Society for Experimental Biology Seminar. Series 62. Cambridge: Cambridge University Press. P. 95.
- Takeda T., Yamasaki K., Itazawa Y. 1987. Effect MS-222 on respiration and effectiveness of artificial gills irrigation by anaesthetic solution in carp // Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. V. 53. № 10. P. 1701.
- Thomas P., Robertson L. 1991. Plasma cortisol and glucose stress responses of red drum (*Sciaenops ocellatus*) to handling and shallow water stressors and anesthesia with MS-222, quinaldine sulfate and metomidate // Aquaculture. V. 96. № 1. P. 69.
- Trushenski J.T., Bowker J.D., Cooke S.J. et al. 2013. Issues regarding the use of sedatives in fisheries and the need for immediate-release options // Transactions of the American Fisheries Society. V. 142. Iss. 1. P. 156. <https://doi.org/10.1080/00028487.2012.732651>
- Valentim A.M., Félix L.M., Carvalho L. et al. 2016. A New anaesthetic protocol for adult zebrafish (*Danio rerio*): Propofol combined with lidocaine // PLOS ONE. V. 11. P. 1. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0147747>
- Veenstra R.S., Balon E.K., Flegler-Balon Ch. 1987. Propanidid — a usefull anaesthetic for studying blood circulation in early development of fish // Can. J. Zool. V. 65. № 5. P. 1286.
- Velisek J., Stejskal V., Kouřil J., Svobodová Z. 2009. Comparison of the effects of four anaesthetics on biochemical blood profiles of perch // Aquacult. Res. V. 40. Iss. 3. P. 354. <https://doi.org/doi.org/10.1111/j.1365-2109.2008.02102.x>
- Vijayan M.M., Pereira C., Grau E.G., Iwama G.K. 1997. Metabolic responses associated with confinement stress in tilapia: the role of cortisol // Comparative Biochemistry and Physiology. V. 116C. P. 89.
- Wang Y., Wilkie M.P., Heigenhauser G.J.F., Wood C.M. 1994. The analysis of metabolites in rainbow trout white muscle: A comparison of different sampling and processing methods // J. Fish Biol. V. 45. № 5. P. 855. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1994.tb00950.x>
- Weber R.A., Peleteiro J.B., Garcia-Martín L.O.G., Aldegunde M. 2009. The efficacy of 2-phenoxyethanol, metomidate, clove oil and MS-222 as anaesthetic agents in the Senegalese sole (*Solea senegalensis* Kaup 1858) // Aquaculture. V. 288. Iss. 1–2. P. 147. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.11.024>
- Wendelaar Bonga S.E. 1997. The stress response in fish // Physiol. Rev. V. 77. P. 591. <https://doi.org/10.1152/physrev.1997.77.3.591>
- Weyl O.L., Kaiser H., Hecht T. 2008. On the efficacy and mode of action of 2-phenoxyethanol as an anaesthetic for goldfish, *Carassius auratus* (L.), at different temperatures and concentrations // Aquacult. Res. V. 27. Iss. 10. P. 757. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2109.1996.t01-1-00791.x>
- White H.I., Hecht T., Potgieter B. 1996. The effect of four anaesthetics on *Haliotis midae* and their suitability for application in commercial abalone culture // Aquaculture. V. 140. № 1–2. P. 145.
- Witeska M., Dudyk J., Jarkiewicz N. 2015. Haematological effects of 2-phenoxyethanol and etomidate in carp (*Cyprinus carpio* L.) // Vet. Anaesth. Analg. V. 42. Iss. 5. P. 537. Epub 2014 Dec 29. <https://doi.org/10.1111/vaa.12242>
- Woolsey J., Holcomb M., Ingermann R.L. 2004. Effect of temperature on clove oil anesthesia in steelhead fry // North Am. Aquaculture. V. 66. Iss. 1. P. 35. <https://doi.org/10.1577/A03-008>
- Wright S., Forster M.E. 2005. Anaesthetic effects on the hepatic portal vein and on the vascular resistance of the tail of the chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) // Fish Physiol. Biochem. V. 31. Iss. 1. P. 11.
- Yanar M., Kumlu M. 2001. The Anaesthetics Effects of Quinaldine Sulphate and/or Diazepam on Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*) Juveniles // Turk. J. Vet. Anim. Sci. V. 25. Iss. 2. P. 185.
- Yin M., Batty R.S., Franklin C.E., Johnston I.A. 1995. The influence of temperature and activity on oxygen consumption of larval herring (*Clupea harengus* L.) // Oceanol. Limnol. Sin. V. 26. № 3. P. 285.
- Yokoyama Y., Azuma Y., Sakaguchi M., et al. 1996. ³¹P NMR study of bioenergetic changes in carp muscle with cold-CO₂ anesthesia and non-destructive evaluation of freshness // Fish. Sci. V. 62. № 2. P. 267.

- Yokoyama Y., Kawai F., Kanamori M. 1993. Effect of cold CO₂ anesthesia on postmortem levels of ATP-related compounds, pH, and glycogen in carp muscle // Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. V. 59. № 12. P. 2047.
- Yoshikawa H., Yokoyama Y., Ueno S., Mitsuda H. 1991a. Changes of blood gas in carp, *Cyprinus carpio*, anesthetized with carbon dioxide // Comp. Biochem. Physiol. V. 98A. № 3–4. P. 431.
- Yoshikawa H., Yokoyama Y., Ueno S., Mitsuda H. 1991b. Electroencephalographic spectral analysis in carp, *Cyprinus carpio*, anesthetized with high concentrations of carbon dioxide // Comp. Biochem. Physiol. V. 98A. № 3–4. P. 437.
- Zahl I.H., Kiessling A., Samuelsen O.B., Hansen M.K. 2009. Anaesthesia of Atlantic cod (*Gadus morhua*) – Effect of pre-anaesthetic sedation, and importance of body weight, temperature and stress // Aquaculture. V. 95. Iss. 1–2. P. 52.
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2009.06.019>
- Zahl I.H., Kiessling A., Samuelsen O.B., Hansen M.K. 2010a. Anaesthesia of Atlantic Halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) – effect of pre-anaesthetic sedation and importance of body weight and water temperature // Aquacult. Res. V. 42. Iss. 9. P. 1235.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2010.02711.x>
- Zahl I.H., Kiessling A., Samuelsen O.B., Olsen R.E. 2010b. Anesthesia induces stress in Atlantic salmon (*Salmo salar*), Atlantic cod (*Gadus morhua*) and Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) // Fish Physiol. Biochem. V. 36. Iss. 3. P. 719.
<https://doi.org/10.1007/s10695-009-9346-2>
- Zahl I.H., Samuelsen O.B., Kiessling A. 2011. Anaesthesia of farmed fish: Implications for welfare // Fish Physiol. Biochem. V. 38. Iss. 1. P. 201.
<https://doi.org/10.1007/s10695-011-9565-1>

Functional Effects of the Use of Anesthetics on Bony Fish (a Brief Overview)

A. A. Soldatov^{1,2, *}

¹*Institute of Biology of Southern Seas Russian Academy of Sciences, Sevastopol, Russia*

²*Sevastopol State University, Sevastopol, Russia*

**e-mail: alekssoldatov@yandex.ru*

Information on the functional aspects of the influence of more than 25 types of chemicals and physical factors used for anesthesia on bony fish has been summarized. It has been shown that most narcotic agents have a pronounced stressful effect on the fish organism and radically change their state (MS-222, 2-phenoxyethanol, benzocaine, quinaldine, propoxate, immobilization, cold shock, etc.). Many of these agents have caused a functional response at the level of individual physiological systems (respiration, blood circulation, blood) and changed the characteristics of the course of metabolic processes. It has been concluded that the use of anesthetics in the practice of scientific research should be differentiated. For example, the use of isoeugenol (AQUI-S) has no effect on the level of cortisol and catecholamines in the blood. Propanidide and urethane are neutral agents concerning the respiratory and circulatory systems. Alflaxalone and ketamine have not affected cardiac rhythm. Hematological parameters have not changed significantly in the case of thiopental use. The processes of carbohydrate metabolism in fish tissues have been insensitive to the following anesthetics: isoeugenol (AQUI-S), urethane, hydrochloride, as well as the combination of quinaldine with muscle relaxant (diazepam). An analysis of the stages of narcotic state development in fish has revealed the advantage of using urethane, hydrochloride, clove oil and AQUI-S. For these types of anesthesia, the development of the state of excitement has not been observed, and individuals of many species immediately have turned to the resting stage, which is most suitable for carrying out the manipulations with fish (loss of pain sensitivity). Taking into account the above information in scientific practice, one can reduce the incidental functional effects caused by the experimental manipulations, as well as the use of separate narcotic agents. This should provide the opportunity to obtain more reliable results, especially during experimental work.

Keywords: anesthesia, stress, respiration, blood circulation, blood, metabolism, fish