

Міністерство освіти і науки України
Національний університет «Чернігівський колегіум» імені Т. Г. Шевченка

Природничо-математичний факультет

Кафедра біології

Дипломна робота

Магістра

на тему: ЗМІНИ НУКЛЕЇНОВОГО ГОМЕОСТАЗУ ЗА ДІЇ ТОКСИКАНТІВ
РІЗНОЇ ХІМІЧНОЇ БУДОВИ ЯК МАРКЕР РИЗИКУ ДЛЯ ЗДОРОВ'Я
НАСЕЛЕННЯ

Виконала:

студентка 6 курсу, 67 групи
напряму підготовки (спеціальності)
229 Громадське здоров'я
Остряньська Ірина Миколаївна

Керівники: _

Демченко Н. Р., к.б.н., доцент

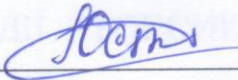
Мехед О.Б., к.б.н., д.пед.н., професор

Рецензент _____

Чернігів – 2024

Роботу подано до розгляду « 14 » червне 2024 року.

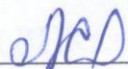
Студент (ка)


(підпис)

Остряньська І. М.
(прізвище та ініціали)

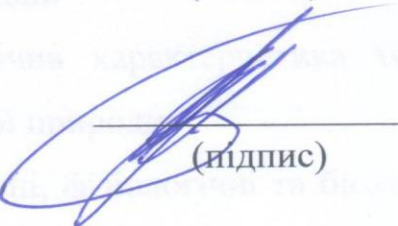
Овчаренко І. Р.

Науковий керівник


(підпис)

Мехед О. Б.
(прізвище та ініціали)

Рецензент


(підпис)


Карпущо І. О.
(прізвище та ініціали)

Кваліфікаційна робота розглянута на засіданні кафедри біології

протокол № 10 від « 10 » червне 2024 року.

Студент допускається до захисту даної роботи в екзаменаційній комісії.

Завідувач кафедри


(підпис)

Мехед О. Б.
(прізвище та ініціали)

ЗМІСТ

ВСТУП	4
РОЗДІЛ I. ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА НУКЛЕЇНОВОГО ГОМЕОСТАЗУ ЗА ДІЇ ТОКСИКАНТІВ ОРГАНІЧНОЇ ТА НЕОРГАНІЧНОЇ ПРИРОДИ	10
1.1. Обмін нуклеїнових кислот	10
1.2. Дезоксирибонуклеаза (ДНКаза) та рибонуклеаза (РНКаза), їх біологічна роль	13
1.3. Токсикологічна характеристика токсикантів органічної та неорганічної природи	14
1.4. Морфологічні, фізіологічні та біохімічні зміни в організмі за дії токсикантів органічної та неорганічної природи	21
РОЗДІЛ II. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ	26
РОЗДІЛ III. ЗМІНИ ВМІСТУ НУКЛЕЇНОВИХ КИСЛОТ ТА АКТИВНОСТІ ФЕРМЕНТІВ-НУКЛЕАЗ ЗА ДІЇ ТОКСИКАНТІВ	30
3.1. Динаміка нуклеїнового гомеостазу в тканинах риб	30
3.2. Динаміка нуклеїнового гомеостазу в крові пацюків	41
ВИСНОВКИ	46
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	48

ВСТУП

Нуклеїнові кислоти виконують важливу роль у процесах життєдіяльності організму, основною функцією яких є збереження та передача генетичної інформації, що проявляється у біосинтезі білків. Неадекватно тривале або вагоме функціональне навантаження на клітини, зокрема на нейрони, призводить до зниження вмісту РНК. Зменшення площі ядер і концентрації в них РНК свідчить про посилення її транспортування із ядра в цитоплазму, а також про переважання процесів розпаду над синтезом. Подібні розлади ведуть порушення енергетичного обміну. Аеробний обмін змінюється анаеробним шляхом засвоєння енергії, відбувається накопичення кислих органічних кислот, рН знижується і розвивається ацидоз. В результаті дезорганізації клітинних і мітохондріальних мембран, впорядкованості ферментних систем активується вільнорадикальний шлях перекисного окиснення. Порушення нуклеїнового гомеостазу спричинюють розвиток трофічних змін з боку різних органів. Механізм нуклеїнового гомеостазу при токсикозі та його значення залишаються відкритими [12].

Мідь є одночасно необхідним для життєдіяльності мікроелементом і токсичним важким металом для багатьох живих клітин. Мідь бере участь в перебізі багатьох важливих метаболічних процесів і виявляє значну бактеріостатичну і бактерицидну дію завдяки пошкодженню плазматичних мембран. Механізм антибактеріальної дії міді заснований переважно на порушенні структури ДНК. Мідь селективно зв'язується з гуанозіновими залишками в молекулі ДНК, в результаті чого відбувається розрив одного або обох ланцюгів, а також модифікація основ. Крім того, існують побоювання про можливий зв'язок між використанням пестицидів і розвитком онкологічних захворювань як наслідку змін у структурі ДНК.

Медичним працівникам важливо вивчати нуклеїновий гомеостаз за дії токсикантів з кількох вагомих причин, які стосуються як діагностики, лікування та профілактики захворювань, так і загального покращення

здоров'я населення: раннє виявлення і діагностика (знання про те, як токсиканти впливають на нуклеїновий гомеостаз, допомагає медикам розробляти методи раннього виявлення пошкоджень ДНК і РНК. Це дозволяє діагностувати захворювання на ранніх стадіях, коли лікування є найбільш ефективним. Специфічні біомаркери, що вказують на пошкодження нуклеїнових кислот, можуть бути використані для скринінгу та моніторингу стану пацієнтів); профілактика і лікування захворювань (розуміння механізмів, за допомогою яких токсиканти викликають пошкодження нуклеїнових кислот, дозволяє розробляти ефективніші профілактичні та лікувальні заходи. Це може включати створення нових лікарських засобів, що захищають ДНК від пошкоджень, або стимулюють механізми репарації ДНК, а також розробку антиоксидантних препаратів, що знижують оксидативний стрес); розробка індивідуальних терапевтичних підходів (вивчення впливу токсикантів на нуклеїновий гомеостаз може допомогти в розробці персоналізованих підходів до лікування. Генетичні дослідження можуть виявити індивідуальні особливості пацієнтів, що впливають на їхню чутливість до токсичних речовин. Це дозволить адаптувати терапію під конкретного пацієнта, підвищуючи її ефективність і зменшуючи побічні ефекти); підвищення ефективності моніторингу та профілактики професійних захворювань (медикам важливо знати, як різні токсиканти впливають на працівників певних галузей, таких як хімічна, фармацевтична чи металургійна промисловість. Вивчення нуклеїнового гомеостазу дозволяє розробляти програми моніторингу та профілактики професійних захворювань, пов'язаних із впливом токсичних речовин); оцінка ризиків і встановлення стандартів безпеки (дослідження нуклеїнового гомеостазу під дією токсикантів допомагає медикам та регуляторним органам оцінювати ризики для здоров'я населення, пов'язані з впливом різних хімічних речовин. Це сприяє розробці і вдосконаленню нормативних документів і стандартів безпеки, що регулюють використання, зберігання і утилізацію токсикантів); захист навколишнього середовища і здоров'я населення (вплив токсикантів

на нуклеїнові кислоти може мати довготривалі наслідки для здоров'я населення і стану екосистем. Медики, що вивчають цей вплив, можуть сприяти розробці екологічних програм, спрямованих на зниження рівня забруднення навколишнього середовища і запобігання негативним наслідкам для здоров'я людей).

Мета дослідження — дати оцінку динаміки кількісного спектра нуклеїнових кислот за дії токсикантів різної хімічної природи.

Об'єкт дослідження: зміни нуклеїнового гомеостазу за дії токсикантів різної хімічної природи

Предмет дослідження: кількісний вміст нуклеїнових кислот (ДНК та РНК) та активність нуклеаз.

Для досягнення мети вирішуватимуться наступні **завдання:**

1. Прослідкувати динаміку кількісного вмісту ДНК та РНК різних тканин (мозок, печінка, білі м'язи, кров) за умов дії токсикозу йонів міді, гербіцидів.
2. З'ясувати відмінності у прояві активності ферментів нуклеаз за токсичних умов.
3. Порівняти вплив досліджуваних токсикантів.
4. З'ясувати можливий вплив досліджуваних токсикантів на стан здоров'я населення.

Методи дослідження.

Теоретичні методи дослідження: аналіз, порівняння, синтез, систематизація, класифікація та узагальнення теоретичних даних, представлених у біологічній та медичній літературі.

Емпіричні методи дослідження: спектрофотометрія, фотометрія, статистичні методи обробки лабораторних даних.

Наукова новизна одержаних результатів може бути представлена такими аспектами: виявлення нових механізмів пошкодження нуклеїнових кислот, порівняльний аналіз впливу різних токсикантів (дослідження може вперше систематично порівняти вплив токсикантів різної хімічної природи

на нуклеїновий гомеостаз, що дозволить зрозуміти, які токсиканти викликають найбільші пошкодження і які захисні механізми активуються у відповідь на кожен тип токсичного впливу); ідентифікація біомаркерів токсичного впливу (виявлення специфічних біомаркерів пошкодження ДНК і РНК, які можуть бути використані для ранньої діагностики токсичного впливу на організм, це можуть бути специфічні мутації, зміни в рівнях експресії певних генів або наявність певних продуктів пошкодження нуклеїнових кислот); дослідження може розширити наше розуміння впливу екологічних забруднювачів на генетичний матеріал живих організмів, що дозволить розробити більш ефективні заходи для захисту навколишнього середовища і збереження здоров'я людини.

Практична значущість дослідження полягає у багатьох аспектах, які можуть мати безпосередній вплив на охорону здоров'я, промисловість, екологію та розвиток нових технологій. Нижче наведено основні практичні аспекти:

Розробка нових методів діагностики - дослідження може призвести до створення нових діагностичних тестів для виявлення токсичного впливу на організм на ранніх стадіях. Специфічні біомаркери пошкодження ДНК та РНК можуть бути використані для моніторингу стану здоров'я людей, які зазнають впливу шкідливих речовин, таких як працівники хімічних заводів або мешканці забруднених районів.

Профілактика та лікування захворювань - отримані дані можуть бути використані для розробки нових профілактичних і лікувальних заходів щодо захворювань, викликаних токсичними речовинами. Це може включати створення фармакологічних препаратів, які посилюють механізми репарації ДНК або нейтралізують токсичні ефекти.

Покращення умов праці - результати дослідження можуть бути використані для покращення умов праці на підприємствах, де використовуються або виробляються токсичні речовини. Це включає розробку рекомендацій щодо використання захисного обладнання,

оптимізацію технологічних процесів для зниження рівня токсичного впливу та впровадження систем моніторингу стану здоров'я працівників.

Екологічний моніторинг і захист навколишнього середовища - дослідження може надати нові методи для оцінки впливу забруднювачів на екосистеми. Виявлення специфічних пошкоджень ДНК в організмах, що живуть у забруднених середовищах, допоможе оцінити екологічний ризик і розробити ефективні заходи з очищення та збереження природних ресурсів.

Біотехнологічні застосування - отримані знання можуть бути використані в біотехнології для створення стійких до токсинів організмів. Це може бути корисним у сільському господарстві, де використання стійких до шкідливих речовин культур може підвищити врожайність і знизити потребу в пестицидах.

Поліпшення стандартів безпеки - дослідження може сприяти вдосконаленню національних і міжнародних стандартів безпеки щодо використання та утилізації токсичних речовин. Це включає розробку нормативних документів, що регулюють гранично допустимі концентрації токсикантів і методи їх контролю.

Освіта та підвищення обізнаності - результати дослідження можуть бути використані для освітніх програм, спрямованих на підвищення обізнаності про небезпеку токсичних речовин та способи їхнього безпечного використання. Це включає підготовку спеціалістів у галузі екологічної безпеки, медицини праці та біотехнології.

Публікації

Остряньська І. М. Характеристика нуклеїнового гомеостазу за дії токсикантів різної хімічної будови. *Крок у науку: дослідження у галузі природничо-математичних дисциплін та методик їх навчання* : Збірник тез доповідей Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю студентів, аспірантів і молодих учених. Чернігів : НУЧК імені Т. Г. Шевченка, 2022. С. 71-72

Апробація

Основні положення роботи були представлені на всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю студентів, аспірантів і молодих учених «Крок у науку: дослідження у галузі природничо-математичних дисциплін та методик їх навчання» (Чернігів, 07.12.2023 року)

Структура роботи. Дипломна робота складається із вступу, трьох розділів, висновків, списку використаних джерел (54 джерела) та викладена на 53 сторінках.

РОЗДІЛ 1

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА НУКЛЕЇНОВОГО ГОМЕОСТАЗУ ЗА ДІЇ ТОКСИКАНТІВ ОРГАНІЧНОЇ ТА НЕОРГАНІЧНОЇ ПРИРОДИ

1.1. Обмін нуклеїнових кислот

Вивчення нуклеїнових кислот при токсичному впливі на організм має велике значення. Основні аспекти полягають у наступному.

Генетична стабільність - нуклеїнові кислоти, такі як ДНК і РНК, зберігають генетичну інформацію організму. Токсичні речовини можуть викликати мутації або пошкодження ДНК, що призводить до порушення генетичної стабільності. Вивчення цих пошкоджень допомагає зрозуміти, як токсини впливають на геном і як вони можуть сприяти розвитку хвороб, таких як рак.

Механізми клітинної відповіді - токсичний вплив може викликати зміни в експресії генів. Дослідження РНК, включаючи мРНК, тРНК та інших типів РНК, дозволяє виявити, які гени активуються або пригнічуються у відповідь на токсини. Це допомагає зрозуміти механізми клітинної відповіді на стрес і пошкодження, що сприяє розробці нових методів лікування і профілактики.

Розробка методів діагностики - аналіз змін у структурі і функції нуклеїнових кислот може слугувати основою для розробки нових діагностичних методів. Наприклад, виявлення специфічних мутацій або маркерів пошкоджень ДНК може бути використано для ранньої діагностики захворювань, викликаних токсичними агентами.

Токсикогеноміка - це відносно нова наука, яка вивчає взаємодію між генетичним матеріалом і токсичними речовинами. Вона допомагає ідентифікувати генетичні фактори, що впливають на чутливість або стійкість до токсинів, і розуміти, як ці фактори можуть бути використані для розробки більш ефективних заходів захисту.

Розуміння механізмів канцерогенезу - багато токсинів мають канцерогенну дію, тобто вони здатні викликати розвиток раку. Вивчення того, як токсини пошкоджують ДНК і які механізми репарації ДНК активуються у відповідь на ці пошкодження, дозволяє краще зрозуміти процеси канцерогенезу і розробити методи його запобігання.

Екологічний моніторинг - аналіз нуклеїнових кислот може бути використаний для оцінки впливу забруднювачів на екосистеми. Наприклад, дослідження ДНК організмів, що живуть у забруднених середовищах, дозволяє визначити рівень генетичних пошкоджень і оцінити загрозу для біорізноманіття.

Вивчення нуклеїнових кислот при токсичному впливі на організм є критично важливим для розуміння того, як токсини впливають на генетичний матеріал, які наслідки це має для здоров'я і як можна розробити ефективні методи діагностики, лікування і профілактики токсичних впливів. Біосинтез рибо- та дезоксирибонуклеотидів є життєво важливим процесом, оскільки ці біомолекули є прямими попередниками РНК, ДНК і нуклеотидних коферментів [3]. Утворення нуклеотидів у організмі може відбуватися шляхом синтезу *de novo*, тобто з простих попередників, а також безпосередньо готових пуринових і піримідинових основ [10, 26]. Нуклеотиди є мономерними ланками молекул нуклеїнових кислот. Їх полімеризація відбувається під час реплікації та транскрипції. Під час цих процесів за допомогою специфічного спарювання основ на ДНК-матриці утворюються комплементарні ланцюги нуклеїнових кислот (ДНК і РНК) [27].

Нуклеїнові кислоти зазнають постійного ферментативного розпаду. Під дією нуклеаз (РНКаз і ДНКаз) відбувається гідроліз полінуклеотидів до оліго- та мононуклеотидів. Олігонуклеотиди далі гідролізуються до мононуклеотидів під дією дієстераз. За допомогою нуклеотидаз (3'-нуклеотидаза або 5'-рибонуклеотид-фосфогідролаза), також нуклеозидфосфорилаз мононуклеотиди активно перетворюються на вільні пуринові та піримідинові основи, пентози та фосфатну кислоту [10].

Пуринові та піримідинові основи можуть використовуватися або для синтезу нуклеотидів і нуклеїнових кислот, або зазнавати подальшого розпаду [3]. Фосфатна кислота використовується в процесах, які пов'язані з обміном речовин та енергії, а пентози, етерифіковані фосфатною кислотою у положенні 1 або 5, можуть використовуватися для синтезу 5'-фосфорибозил-1'-пірофосфату, нуклеозидів і нуклеотидів.

Оскільки в нуклеїнових кислотах число нуклеотидів кожного виду дорівнює числу відповідних основ, для встановлення нуклеотидного складу даної нуклеїнової кислоти достатньо визначити кількісне співвідношення основ. За допомогою хроматографії на папері або електрофореза (коли в результаті гідролізу одержують нуклеотиди) виділяють індивідуальні з'єднання [26]. Кожна основа, незалежно від того, зв'язана вона з вуглеводним фрагментом чи ні, володіє характерним максимумом поглинання в УФ, інтенсивність якого залежить від концентрації речовини [27]. Можна визначити кількісне співвідношення основ, а отже, і нуклеотидний склад початкової нуклеїнової кислоти [10].

Важливе значення нуклеїнових кислот полягає в тому, що особливості їх хімічної будови забезпечують можливість зберігання, перенесення в цитоплазму і передачі у спадок дочірнім клітинам інформації про структуру білкових молекул, які синтезуються в кожній клітині. Стабільність структури нуклеїнових кислот - найважливіша умова нормальної життєдіяльності клітин і організму в цілому. Будь-які зміни будови нуклеїнових кислот призводять до змін структури клітин або активності протікання фізіологічних процесів в них, впливаючи таким чином на життєздатність.

1.2. Дезоксирибонуклеаза (ДНКаза) та рибонуклеаза (РНКаза), їх біологічна роль

Нуклеази – це група ферментів, які розщеплюють фосфодієфірні зв'язки в молекулах нуклеїнових кислот без вивільнення неорганічного фосфату. Нуклеази класифікують за певними ознаками [3,10].

1. Здатність ферментів розщеплювати одну чи кілька міжнуклеотидних зв'язків в будь-якому місці всередині полінуклеотидного ланцюга – ендонуклеази, або одного з кінців ланцюга – екзонуклеази. Ендонуклеази виявляють певний ступінь вибірковості щодо тих чи інших азотистих основ або їх послідовності.

2. Ферменти, які гідролізують зв'язки між групою 3'-ОН і фосфатною групою з утворенням продуктів, що містять 5'-фосфатні кінцеві групи, й ферменти, які гідролізують зв'язки між групою 5'-ОН і фосфатною групою з утворенням продуктів, що містять 3'-фосфатні кінцеві групи.

3. Специфічність щодо вуглеводу в нуклеотидній структурі; за цією ознакою виділяють рибонуклеази, дезоксорибонуклеази та нуклеази, які не виявляють даної специфічності.

Рибонуклеази (РНКази) поділяються на:

Ендонуклеази. До цієї групи відноситься велика кількість ферментів, які виконують у клітині різноманітні функції. РНКаза I, II, III, IV, Р та Н. Їх фосфоестеразна дія спрямована на посттранскрипційне розщеплення первинних транскриптів різних типів РНК (мРНК, тРНК і рРНК). Таким чином, поряд з іншими ферментами та ферментами системи, ендорибонуклеази беруть участь у перетворенні попередників РНК у біологічно активні форми [10,26].

Екзонуклеази. До цієї групи ферментів відносять оліго-РНКазу і полірибонуклеотидфосфорилазу, які каталізують реакцію взаємодії одноланцюгової РНК із неорганічним фосфатом, в результаті якої утворюються 5'-рибонуклеозиддифосфати.

Дезоксорибонуклеази (ДНКази) поділяються на:

Ендонуклеази. Найвідомішими є ДНКаза I і ДНКаза II. ДНКаза I у нативній ДНК призводить до виникнення безлічі одноланцюгових розривів із 5'-фосфатним залишком. ДНКаза II міститься переважно в селезінці та тимусі, має оптимум дії в кислому середовищі (рН 4,5 – 5,5) [25,33]. Фермент розщеплює фосфодієфірний зв'язок у обох ланцюгах дволанцюгової ДНК, вивільнюючи 3'-фосфатні залишки [10].

Екзонуклеази. Серед відомих ДНК-специфічних екзонуклеаз є екзонуклеаза I, II, III, IV. Екзонуклеази II і IV відповідають за екзонуклеазне розщеплення ДНК і відіграють важливу роль в механізмах реплікації та репарації ДНК [3].

Нуклеази беруть участь у різних процесах, які пов'язані з реплікацією, транскрипцією нуклеїнових кислот, трансляцією, рекомбінацією, репарацією, а також у захисті клітини від чужорідних нуклеїнових кислот [26].

1.3. Токсикологічна характеристика токсикантів органічної та неорганічної природи

Будь-яке водоймище або водне джерело співвіднесене з навколишнім зовнішнім середовищем [5]. На нього впливають умови формування поверхневого або підземного водного стоку, різноманітні природні явища, індустрія, промислове і комунальне будівництво, транспорт, господарська й побутова діяльність людини [4,9]. Результатом цих впливів стає привнесення у водне середовище нових, не властивих йому речовин — забруднювачів, що погіршують якість води і викликають морфологічні, фізіологічні патогенні зміни у будові і процесах життєдіяльності організмів водного середовища [8]. Зазвичай виділяють хімічне, фізичне і біологічне забруднення [20]. Хімічне забруднення являє собою зміну природних хімічних властивостей води за рахунок збільшення вмісту в ній шкідливих домішок як неорганічної

(мінеральні солі, кислоти, луги, глинисті частинки), так і органічної природи (нафта й нафтопродукти, органічні залишки, поверхнево-активні речовини, пестициди) [8, 23].

Основними неорганічними (мінеральними) забруднювачами прісних вод є різноманітні хімічні сполуки, токсичні для мешканців водного середовища. Це сполуки Арсену, Плюмбуму, Меркурію, Хрому, Купруму, Флуору. Більшість із них опиняється у воді внаслідок людської діяльності [8]. Важкі метали усмоктуються фітопланктоном, а потім передаються через харчовий ланцюг більш високоорганізованим організмам [24].

До небезпечних забруднювачів водного середовища можна віднести неорганічні кислоти й основи, що обумовлюють широкий діапазон рН промислових стоків (1,0—11,0) [9] і здатні змінювати рН водного середовища до значень 5,0 або вище 8,0, тоді як риба в прісній воді може існувати тільки в інтервалі рН 5,0—8,5 [25]. До основних джерел забруднення гідросфери мінеральними речовинами і біогенними елементами слід віднести підприємства харчової промисловості й сільське господарство [9]. Зі зрошуваних земель щорічно вимивається близько 6 млн т солей [20]. Відходи, що містять йони ртуті, свинцю, міді, зібрані в окремих районах біля берегів, однак певна їх частина виноситься далеко за межі територіальних вод [4,9,20].

Серед розчинних речовин, що потрапляють до водойм, велике значення для мешканців водного середовища мають не тільки мінеральні, біогенні елементи, але й органічні залишки [8]. Стічні води, які містять суспензії органічного походження або розчинену органічну речовину, згубно впливають на стан водойм. Осідаючи, суспензії заливають дно і затримують розвиток або зовсім припиняють життєдіяльність мікроорганізмів, які беруть участь у процесі самоочищення вод [5]. При гнитті цих осадів можуть утворюватися шкідливі сполуки й отруйні речовини, такі як сірководень, що призводять до забруднення усієї води в річці [14]. Наявність суспензій ускладнює також проникнення світла в глиб води і сповільнює процес

фотосинтезу [15,23]. Шкідливий вплив мають усі речовини, які так чи інакше сприяють зниженню вмісту кисню у воді. Значний обсяг органічних речовин, більшість з яких не властива природним водам, скидається в річки разом із промисловими й побутовими стоками [4]. Інтенсивне забруднення водою і водостоків спостерігається у всіх промислових країнах. У зв'язку зі швидкими темпами урбанізації і порівняно уповільненим будівництвом очисних споруд або їхньою незадовільною експлуатацією водні басейни й ґрунт забруднюються побутовими відходами [20]. Особливо відчутним є забруднення у водоймах з уповільненою течією або непроточних (водосховища, озера). Розкладаючись у водному середовищі, органічні відходи можуть стати середовищем для патогенних організмів. Побутові відходи небезпечні не тільки тим, що є джерелом деяких хвороб людини, але й тим, що вимагають для свого розкладання багато кисню. Якщо побутові стічні води надходять у водоймище в дуже великих кількостях, то вміст розчиненого кисню може впасти нижче рівня, необхідного для життя прісноводних організмів [30].

Пестициди — це група штучно створених речовин, що використовуються для боротьби зі шкідниками й хворобами рослин [14]. Відомо дуже багато груп пестицидів. Інсектициди — для боротьби зі шкідливими комахами, фунгіциди й бактерициди — для боротьби з бактеріальними хворобами рослин, гербіциди — для боротьби з бур'янами [9,14]. Встановлено, що пестициди, знищуючи шкідників, заподіюють шкоду багатьом корисним організмам. У сільському господарстві давно вже стоїть проблема переходу від хімічних (що забруднюють середовище) до біологічних (екологічно чистих) методів боротьби зі шкідниками [8]. Промислове виробництво пестицидів супроводжується виникненням великої кількості побічних продуктів, що забруднюють стічні води. У водному середовищі частіше за інші зустрічаються представники інсектицидів, фунгіцидів і гербіцидів [23]. Синтезовані пестициди поділяються на три основні групи: хлорорганічні, фосфорорганічні та карбонати [20].

Комплексна взаємодія природних явищ, хімічних процесів та людських дій призводить до появи достатньо високих концентрацій пестицидів у поверхневих водах, що викликає занепокоєння через шкідливу дію на водні організми, міграцію у харчових ланцюгах [24]. Тому в наш час важливу роль відіграє вивчення біохімічних та фізіологічних показників життєдіяльності гідробіонтів, і зокрема риб, у відповідь на отруєння. Знання характеру змін в органах і тканинах в результаті отруєння може бути використане для пояснення механізмів адаптації риб до токсикантів, виявлення причин загибелі гідробіонтів у природних водоймах та обґрунтування методів контролю забруднення навколишнього середовища [8,9].

Як відомо, існує матеріальна кумуляція (накопичення в організмі токсичної речовини) та функціональна (викликані токсикантом ефекти) [33]. Функціональна ж кумуляція здатна спричинити морфологічні, фізіологічні та біохімічні зміни в органах і тканинах, проявляючись навіть при дії препаратів, що швидко руйнуються та виводяться з організму. Як відомо, функціональна кумуляція в органічному світі зустрічається частіше, оскільки після кожного попадання отрути в організм зберігаються наслідки попередньої реакції, які накладаючись на наступну, призводять до появи токсичного ефекту [29]. До організму риб пестициди потрапляють переважно через зябра, шкіру та можуть захоплюватись з їжею [17,30]. Токсиканти пестицидної групи мають різний механізм дії. Він залежить від хімічної будови цих речовин і тому єдиної думки по даному питанню не існує. Але особливо шкідливими виявились хлорорганічні сполуки, що обумовлено їх значною стійкістю як у навколишньому середовищі так і всередині організмів тварин, а також різноманітним ефектом дії (токсичний, мутагенний, канцерогенний). Значно більш токсичні, ніж хлорорганічні, фосфорорганічні пестициди. Не настільки токсичні, але дуже шкідливі похідні симм-триазина, сечовини та карбонових кислот [8,23].

Одним з основних шляхів підвищення рибопродуктивності водойм є їх меліорація: боротьба з заростанням, замулення, осушення [14].

Перспективним методом боротьби з небажаною водною рослинністю є застосування гербіцидів.

Гербіциди (від латів.(латинський) *herba* — трава і *caedo* — вбиваю), хімічні речовини, вживані для знищення рослинності. По характеру дії на рослини діляться на гербіциди суцільної дії, що вбивають всі види рослин, і вибіркової (селективного) дії, знищують певні види рослин і не ушкоджують інші [23]. Такий поділ умовний, оскільки в більшості випадків одна і та ж речовина залежно від концентрації, норм витрати і умов вживання може проявляти себе як гербіцид суцільної або вибіркової дії.

Сучасні гербіциди — органічні сполуки, що діляться на декілька великих груп: заміщені феноли (ДНОК, пентахлорфенолят натрію); бензонітрил (іоксиніл і ін.); четвертинні сполуки амонія (реглон, грамоксон); похідні хлорфеноксикарбонових кислот (2,4-Д; 2,4-ДМ; 2,4-ДП; 2М-4Х; 2М-4ХМ; 2М-4ХП; 2,4,5-Т); бензойні кислоти (2,3,6-ТБК; банвел-Д); галоїдозаміщені аліфатичні кислоти (ТХА, далапон); карбамати (хлор-ІФК; ІФК, карбін); тіокарбамати (діаллат, ентам, тиллам, тріалату, ялан); амідни (солан, пропанід, дифенамід); похідні сечовини (діхлоральмочевина, фенурон, монурон, діурон, которан, лінурон, метурін, монолінурон); похідні урацилу (ленацил), тріазіни (сімазин, атразин, пропазин, прометрин, десметрин); гербіциди інших груп (дактал, піклорам, трефлан і ін.) [8,17,23]. Як гербіциди в обмежених масштабах застосовують і деякі неорганічні речовини: амоній сульфамат, калій ціанат, натрій хлорат, магній хлор, кальцій хлор, натрій нітрат і ін [5].

За генетичною класифікацією похідні феноксиоцтової кислоти відносяться до помірно стійких пестицидів [8]. До відкритих водоймищ похідні 2,4-Д потрапляють не тільки при сільськогосподарських роботах, а й в результаті внесення їх до водойм для знищення водної рослинності [9, 14]. Сполуки 2,4-Д зберігаються в воді від 10 – 15 днів до 4 – 6 місяців в залежності від її чистоти, температури та рН. Хлорпохідні феноксиоцтових кислот легко проникають до організму через шкіряний покрив а також

органи травної системи. Деякі ефіри, наприклад бутилові, потрапляючи на шкіру викликають типові ознаки інтоксикації. Механізм токсичної дії гербіцидів групи 2,4-Д на організм полягає в порушенні енергетичного обміну на субклітинному рівні [17]. Спостерігається різке зниження рівня окисно-відновних процесів, ураження ЦНС (зміна умовно- і безумовнорефлекторної діяльності), а також м'язової системи, печінки і нирок – неспецифічними морфологічними, біохімічними і функціональними змінами. Змінюється склад крові, кількість еритроцитів та лейкоцитів [33].

При хронічному отруєнні похідними дихлорфеноксоцтової кислоти у риб спостерігається виснаження організму, атрофія скелетної мускулатури. Перикардіальна порожнина заповнена кров'ю, що майже не зсілася, відмічається жовтушність печінки. При гістологічному дослідженні найбільші зміни відмічені в печінці (застійна гіперемія міжтрабекулярних капілярів, зерниста дистрофія печінкових клітин, в окремих випадках в певних ділянках паренхіми каріо - та плазмопікноз і розпад поодиноких клітин) та міокарді (м'язеві волокна потончені, розрихлені з погано вираженою смугастістю) [24, 27, 42].

Що до такого пестициду як зенкор (4-аміно-6-третбутил-3- (метилтіо) - 1,2,4-триазин-5 (4Н) - ОН) - одного з представників триазинів, то його дію на організми гідробіонтів і, зокрема, риб, вивчено порівняно мало. Є відомості про зміни в складі крові та порушення обміну нуклеїнових кислот у зв'язку зі здатністю заміщувати піримідинові основи [29]. При збільшенні температури середовища сумісно з токсикозом відмічено також змінення таких показників токсикорезистентності, як латентний період інтоксикації, швидкість та процент загибелі тварин [41]. В той же час в літературі [32] вказано на зворотну залежність: при зниженні температури середовища до +2 - +4°C сильніше проявляється токсичний ефект зенкора на хід реакцій глюконеогенезу порівняно з показниками контрольної групи.

Триазини, загалом, досить токсичні для тварин, що мешкають у водному середовищі [8]. Протягом довгого часу похідні триазинів займають

перше місце по об'ємам виробництва та застосування в світовому землеробстві. Потрапляючи у водойми, вони викликають багаточисельні негативні наслідки для гідробіонтів в результаті безпосередньої токсичної дії або в результаті глибокого порушення ланцюгів живлення [24].

Як відомо, результати дослідів з визначення токсичності певних речовин для риб визначаються двома найважливішими змінними: концентрацією токсиканту та часом його дії [25]. За умови незмінного часу проведення експерименту, концентрація хімічної речовини відіграє провідну роль у визначенні ступеня прояву токсичної дії та при оцінюванні самого факту шкідливості досліджуваної сполуки для риб. Питання про концентрацію хімічної речовини, при якій вона стає токсичною чи летальною, залишається одним з найактуальніших в токсикології.

Враховуючи концентрацію вказаного токсиканта у воді, в якій перебувала риба (2 ГДК), можна стверджувати про кумуляцію токсиканта. Наступне потрапляння пестициду у водойму призведе до накопичення додаткової кількості токсиканта на фоні вже наявного та до прояву токсичної дії в результаті синергізму [9].

Аналізуючи результати дослідів з нагромадження пестицидів в тканинах (мозок, печінка, м'язова тканина) коропа різного віку (цьогорічки, дворічки) можна зробити висновок, що в процесі індивідуального розвитку та під впливом токсикантів змінюються морфологічні та поведінкові показники риби. Кожен період життєвого циклу організму характеризується власною системою зв'язків з навколишнім середовищем та своїми основними пристосуваннями до умов життя [24,29].

1.4. Морфологічні, фізіологічні та біохімічні зміни в організмі за дії токсикантів органічної та неорганічної природи

1.4.1. Гербіциди

Вплив на живі організми бутилового ефіру 2,4 – дихлорфеноксиоцтової кислоти (2,4 – ДБЕ)

Отрутохімікати цієї групи – селективні гербіциди системної дії, призначені для знищення дводольних бур'янів у посівах зернових культур, гречки, коріандру, використовуються також для хімічного прополювання водойм з метою знищення вищої і нижчої водної рослинності і тростини [1,16].

Медіанною летальною концентрацією 2,4–Д (ЛД₅₀ – летальні дози, що викликають загибель 50% тварин) для коропів при гострому отруєнні являється 100 мг/л. Підгостре отруєння коропів викликають концентрації 50–58 мг/л; хронічне отруєння розвивається при концентраціях 43 і 29 мг/л. Гербіцид 2,4 –Д не володіє функціональною кумуляцією.

По клінічним проявам інтоксикації похідні дихлорфеноксиоцтових кислот відносяться до групи нервово–паралітичних отрут. Клініка отруєння проявляється збудженням, підвищеною рухливістю і чутливістю до звукових і тактильних подразників, риба плаває по колу з порушенням координації рухів, спіралеподібно, заковтує повітря; спостерігається тремор лицьової і скелетної мускулатури, судомистий рух очей і плавців.

При патологоанатомічному розтині трупне окоченіння виражене. Внутрішні органи, особливо печінка, наповнені кров'ю. При хронічному отруєнні трупи виснажені, скелетна мускулатура атрофована. Перикардiальна порожнина заповнена кров'ю, яка погано згорнулася, відмічається жовтушність печінки.

Гістологічно відмічені найбільші зміни в печінці і міокарді. Найбільш яскраво вони спостерігаються при підгострому і хронічному отруєнні. В печінці – застійна гіперемія міжтрабекулярних капілярів, зерниста дистрофія

печінкових клітин, в окремих ділянках паренхіми – каріо– і плазмопікноз і розпад одиничних клітин. В серці основні зміни відмічаються з боку міокарду: м'язеві волокна стають тонкішими, розрихлені, з погано помітною поперечною смугастістю. Субтоксичні концентрації 2,4-Д при гострому отруєнні викликають у риб зміни в периферичній крові: великий відсоток округлих форм еритроцитів, ексцентрично розташоване ядро, відсоток незрілих форм складає 5–20, в еритроцитах відмічаються білі плями – включення, анізоцитоз, пойкилоцитоз, гіпохромні форми еритроцитів. В лейкоформулі знижена кількість лімфоцитів в 1,5 рази і підвищений вміст моноцитів, поліморфноядерних і нейтрофілів відповідно в 1,2; 2,3; 3,7 разів.

Субтоксичні концентрації отрутохімікатів при експозиції 72 години викликають зниження кількості еритроцитів (на 8,9–18,2%), лейкоцитів (на 22– 27%) і в окремих випадках гемоглобіну (до 14%). В лейкоцитарній формулі і формених елементах крові відмічаються аналогічні зміни. При інтоксикації 2,4-Д відбувається порушення синтезу білків (загальний білок сироватки крові знижується до 25%) і відбувається перерозподіл фракційного складу, що, очевидно, пов'язано в першу чергу з ураженням печінки. Порушення у білковому спектрі відмічаються вже на ранніх стадіях розвитку інтоксикації. При отруєнні гербіцидом відбувається різке зменшення запасів глікогену в печінці і гіперглікемія, що свідчить про інтенсивне використання вуглеводів організмом отруєних риб.

Субтоксичні концентрації 2,4-Д порушують газообмін: використання кисню рибою збільшується до 26%. При гострій інтоксикації розподілення 2,4 – Д в органах риб наступне (в %): шкіра – 8,7; зябра – 16,2; м'язи – 10; кишечник – 9,2; печінка – 15,9; нирки – 40,0 [15, 16].

Таким чином, розладами нервової системи: зміною фаз збудження і пригнічення, фібриляцією мускулатури [8]. При хронічному отруєнні відзначені виснаження риб, загальна анемія і ускладнення ектопаразитами. Анатомоморфологічні зміни характеризуються крововиливами, дистрофією і некробіозом печінкових клітин, епітелію сечових каналців, токсичним

набряком зябер. Отруєння 2,4-Д супроводжуються розпадом еритроцитів і лейкоцитів, появою молодих форм еритроцитів[21,23,33].

Діагноз на отруєння риб гербіцидами ставиться комплексно на підставі визначення передбачуваних препаратів у воді та органах риб з урахуванням симптомів, патологоморфологічних змін і аналізу токсикологічної ситуації[8].

Вплив на живі організми зенкору (триазин)

В останні роки застосовується для боротьби з рослинами-шкідниками картоплі, являє собою сірий порошок з дуже неприємним запахом, який погано розчиняється у холодній воді та добре – у гарячій. Його наукова назва – 4-аміно-3-метилмеркапто-6-трет-бутил-1,2,4-триазинон-5:

Отруєння зенкором призводить до поведінкових, гістологічних та енергетичних змін в організмі риб. Субтоксичні концентрації цього гербіциду накопичуються в ікрі та личинках риб, а також у тканинах дорослих організмів. Відбуваються зміни в крові риб, а саме: кількість еритроцитів знижується (на 10,5–11,8%), лейкоцитів – (на 25–28%), гемоглобін зменшується до 11%. В результаті токсикозу порушується газообмін, використання кисню рибою збільшується до 22%. Внутрішні органи кровонаповнені. Гістологічно найбільші зміни відбуваються в печінці і мозку. Білкові порушення мають місце при токсикозі: білок сироватки крові знижується до 15%. Спостерігається гіпохромія, що виникає як результат мікроцитозу або в результаті ненасиченості гемоглобіном нормальних за об'ємом еритроцитів. Дія зенкору супроводжується бурхливою руховою активністю піддослідних риб, особливо це стосується молодих особин [2, 28].

Поведінкові реакції отруєних риб можна використовувати як початкові ознаки порушень нормальної життєдіяльності. Дія зенкору, як і більшості розчинів отрут органічного походження [17,33], супроводжується бурхливою руховою активністю піддослідних риб, особливо це стосується цьогорічок. В той же час коропи, що перебувають під впливом 2,4 – Д проявляють більш рухову активність лише в перші години інтоксикації, однак у них

спостерігається перехід у поверхневий шар води і такий специфічний симптом, як заковтування повітря.

1.4.2. Важкі метали та їх сполуки

Важкі метали як мікроелементи постійно зустрічаються в природних водоймах і органах гідробіонтів. В залежності від геохімічних умов відзначаються широкі коливання їх рівня у навколишньому середовищі [42]. Важкі метали досить стійкі. Потрапляючи до водойм, вони включаються в кругообіг речовин і піддаються різним перетворенням. Неорганічні сполуки зв'язуються з буферною системою води і переходять в слаботорозчинні гідроксиди, карбонати, сульфіді і фосфати, а також утворюють металорганічні комплекси, адсорбуються донними покладами [22]. Крім того, метали здатні накопичуватися в різних організмах і передаватися в зростаючих кількостях по трофічному ланцюгу [24].

Більша частина неорганічних сполук металів надходить в організм риб з їжею. Через зябра і шкіру проникають розчинні дисоціюючі солі й металорганічні сполуки [27,33].

Токсична дія більшості важких металів на риб обумовлена їх іонами. Концентровані розчини їх солей, порушують функції органів дихання. Проникаючи в організм, вони порушують проникність біологічних мембран, знижують вміст розчинних протеїнів, зв'язуються з аміногрупами білків, викликаючи падіння активності ферментів [26,29].

Симптоми і патологоанатомічні зміни. Гострі отруєння риб солями важких металів проявляються спочатку різким збудженням, порушенням координації рухів. Потім настає стадія пригнічення, дихання сповільнюється і риби гинуть від задухи. При цьому шкіра і зябра часто покриваються білуватим нальотом коагульованого слизу [8]. При хронічному перебігу інтоксикації симптоми отруєння з'являються в пізні терміни і виявляються важкими порушеннями функцій нервової системи: стрибкоподібним рухом, судомами плавців, а потім повним пригніченням риб. Нерідко відзначають

виснаження риб. При патологоморфологічних дослідженнях встановлюють дистрофічні і некробіотичні зміни в зябрах, печінці, нирках, селезінці, гонадах та інших органах [25,33,42].

Отруєння риб важкими металами діагностують комплексно на підставі симптомів інтоксикації, патологоморфологічних змін і обов'язкового визначення окремих елементів у воді та органах риб [21]. Для визначення важких металів застосовують методи атомно-абсорбційної спектроскопії, хроматомаспектрометрії [10].

Для профілактики отруєнь риб важкими металами необхідно дотримуватися встановлених регламентів скидання стічних вод з підприємств, удосконалювати очистку стоків, а також контролювати рівень вмісту металів у воді та рибі з забруднених водойм [5]. Гранично допустимі концентрації важких металів у прісних рибогосподарських водоймах складають: ртуті - відсутність, кадмію 0,005 мг / дм³, міді 0,01, цинку 0,01, свинцю 0,1, олова 0,66, нікелю 0,01, кобальту 0,01 мг / дм³

В процесі індивідуального розвитку поряд з віком змінюються маса і розміри тіла риб. Тому при виконанні експериментальних робіт, присвячених мінливості токсикорезистентності риб в онтогенезі, повинні враховуватися вік і маса риб.

Апріорно можна вважати, що в залежності від хімічної природи речовини і механізму її дії на риб, при інших однакових умовах, розмір риб може мати суттєве значення, особливо в дослідах з контактною групою отрут, у визначенні тривалості виживання і рівня стійкості [12, 13].

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Об'єктом дослідження було обрано коропа лускатого (*Cyprinus carpio* L.) вагою 350-400 г. Досліди проводилися у модельних умовах в акваріумах об'ємом 200 дм³, в яких рибу розміщували з розрахунку 1 екземпляр на 40 дм³ води. Період акліматизації складав 3 доби. Риби витримувались в умовах досліду протягом 14 діб, що є достатнім для формування можливої адекватної відповіді організму [30]. Температура води коливалася в межах +15 - +16 °С, вміст розчиненого кисню знаходився в межах фізіологічної норми (5-7 мг/дм³). Воду змінювали кожні 3 доби.

У експерименті риби знаходилися у чотирьох варіантах: контроль, та за дії 2,4-Д бутилового ефіру, зенкору та Cu^{2+} . Вміст у воді відповідно дорівнював Cu^{2+} 200 мг на 200 дм³, зенкор - 57,2 мг на 200 дм³, 2,4-Д бутиловий ефір 16 мг на 200 дм³. Для аналізу використовували зразки печінки, м'язової тканини та мозку.

Для проведення експерименту з 16-х лабораторних щурів – самців, віком 4 місяці, за методом аналогічних груп, сформовано 4 групи щурів по 4 в кожній. З них одна група – інтактна (контрольна) та три дослідних. Умови утримання та годівлі тварин були однаковими в усіх групах. Після групування, лабораторним щурам забезпечили термін у 28 діб, перед проведенням експерименту, з метою виявлення можливих незаразних та інфекційних захворювань, поведінкових аспектів тварин та попередження можливого стресу. Температура приміщення коливалась в межах 20-22°C. Вологість повітря не перевищувала 30%. Приміщення обладнане системою вентиляції, тому концентрація газів не перевищувала допустимі значення. Інтенсивність освітлення була достатньою, використовували 12-годинний режим освітлення. Тварин утримували у пластмасових клітках з достатньою площею ($S = 1200 \text{ см}^2$), які були покриті металевими сітками з вмонтованими годівницями. В якості змінної підстилки у клітках

використовували тирсу. Типовий раціон щурів був збалансований за потребою у поживних речовинах і поживністю та складався з компонентів натуральної дієти [35], а саме: каша зварена з пшеничної та кукурудзяної крупи, сухарі, подрібнена морква, фураж, крейда. Годівлю тварин проводили регулярно о 8-й годині ранку та о 15-й годині опівдні. Протягом дослідження для необмеженого впою лабораторних щурів використовували чисту, кип'ячену воду залиту в автоматичні поїлки [23]. Питний режим визначали шляхом віднімання загального об'єму долитої води до залишку.

Попередньо за 7 діб до початку та протягом експерименту тричі (на початку експерименту, на 10 та 21 добу) проводили зважування тварин на електронних вагах «МНЗ 0,01-500 г» з максимальною похибкою $\pm 0,1$ г. Виведення тварин з експерименту проводили шляхом евтаназії з використанням тіопенталового наркозу у дозуванні 60 мкг/кг. Препарат вводили парентерально – внутрішньочеревно. Кров для гематологічних і біохімічних досліджень відбирали з правого шлуночка серця. Кров призначену для гематологічних досліджень стабілізували попереднім додаванням 0,1 мл ЕДТА в 1,5 мл мікропобірку для субстрату “Eppendorf”. Сироватку крові для біохімічного дослідження отримували нативним способом шляхом природнього згортання. Після маркування проби одразу доставляли в лабораторію.

Для дослідження нуклеїнових кислот потрібно використовували методи кількісного визначення їхнього вмісту в досліджуваному об'єкті і виділення їх в чистому вигляді [21]. Кожний із структурних компонентів нуклеїнових кислот дає специфічну хімічну реакцію, за якою можна судити про наявність, кількість і склад нуклеїнових кислот. Кількісний вміст нуклеїнових кислот розраховували за методом Цанева, Маркова 1960 [31].

Наважку тканини (100 мг) гомогенізували на холоді з 6 см³ 10% ТХУ і залишали на 30 хв. Утворений осад відділяли центрифугуванням при 3000 об/хв протягом 20 хв. Після чого осад промивали від пігментів і ліпідів ацетоном, сумішшю хлороформу та метанолу (2:1) та ефіром (двічі по 3 см³

кожним розчинником). Відмитий осад висушували в термостаті при 37⁰С. Окремі фракції нуклеїнових кислот одержували за допомогою м'якого лужного гідролізу. Для цього до осаду додавали 1н розчин гідрооксиду калію (1 дм³ лугу на 100 мг вихідної тканини) і залишали в термостаті на 18 год при температурі 37⁰С. Потім до охолодженого гідролізату добавляли 30% хлорну кислоту до рН=1 (біля 0,6 дм³), перемішували і залишали на 20 хв на холоді. Осад відділяли центрифугуванням при 3000 об/хв протягом 20 хв, його двічі промивали по 2 дм³ 1н НСІО₄. Центрифугат, що містить РНК, об'єднували і доводили до 5 дм³ 1н НСІО₄.

Із осаду екстрагували фракцію ДНК. Для цього до осаду додавали 2 дм³ 1н НСІО₄ і нагрівали на водяній бані при 80⁰С протягом 30 хв. Цю операцію повторювали двічі. Суміш охолоджували і відділяли осад центрифугуванням. Після чого обидва промиті екстракти об'єднували і доводили 1н НСІО₄ до об'єму 5 дм³. Концентрацію нуклеїнових кислот в розчинах визначали спектрофотометрично. Перед вимірюванням розчини розводили.

Для визначення концентрації нуклеїнових кислот використовували формулу:

$$P = \frac{K \times (E_{\lambda} - E_{\lambda_0}) \times V}{l \times W} \text{ мг \% P, де}$$

K - коефіцієнт молярної екстинції фосфора (561 для РНК та 800 для ДНК)

E_λ - оптична густина розчину, що містить РНК або ДНК

E_{λ₀} - оптична густина для білкових домішок

V - об'єм екстракту, в мл

W - наважка тканини, в мг

l – товщина кюветки, в см

Екстинції визначали для РНК при 260 і 286 нм, для ДНК при 268 і 284 нм.

Вміст загального білку розраховували за методом Лоурі [38]. Метод заснований на утворенні біуретового комплексу, який у присутності фенолу дає характерне забарвлення пропорційно кількості білку. Чутливість методу – 0,2 М в 0,05 дм³ досліджуваного розчину. Використовували спектрофотометр СФ – 4, фотоелектроколориметр.

Статистична обробка результатів проводилися загальноприйнятими методами, а вірогідне розходження між середніми арифметичними величинами визначали за допомогою t-критерію Стьюдента [11,19]. Відмінності між порівнюваними групами вважали вірогідними при *- $P < 0,05$.

РОЗДІЛ 3

ЗМІНИ ВМІСТУ НУКЛЕЇНОВИХ КИСЛОТ ТА АКТИВНОСТІ ФЕРМЕНТІВ-НУКЛЕАЗ У КОРОПА РІЗНОГО ВІКУ ЗА ДІЇ ТОКСИКАНТІВ

3.1. Динаміка нуклеїнового гомеостазу в тканинах коропа

Нуклеїнові кислоти виконують дуже важливу роль у процесах життєдіяльності організму, основною функцією яких є збереження та передача генетичної інформації, що проявляється у біосинтезі білків. Тривале навантаження на тканини призводить до змін вмісту РНК [26].

Аеробний шлях одержання енергії змінюється анаеробним шляхом, відбувається накопичення кислих органічних кислот, рН знижується і розвивається ацидоз [33]. Біохімічні зміни у тканинах риби за дії токсикантів та їх вікові особливості має надзвичайно важливе значення в умовах інтенсифікації рибництва. Дослідження вчених показують, що здатність до кумуляції та особливості метаболічних змін в тканинах риб для різних гербіцидів залежить від класу пестицидів, хімічної речовини якою його представлено, тканини та віку риб [22, 23].

За дії 2,4-Д вміст ДНК в білих м'язах цьогорічки коропа зменшується на 4 % (рис. 3.1), одночасно кількісні показники РНК зросли на 53% ($P \leq 0,001$).

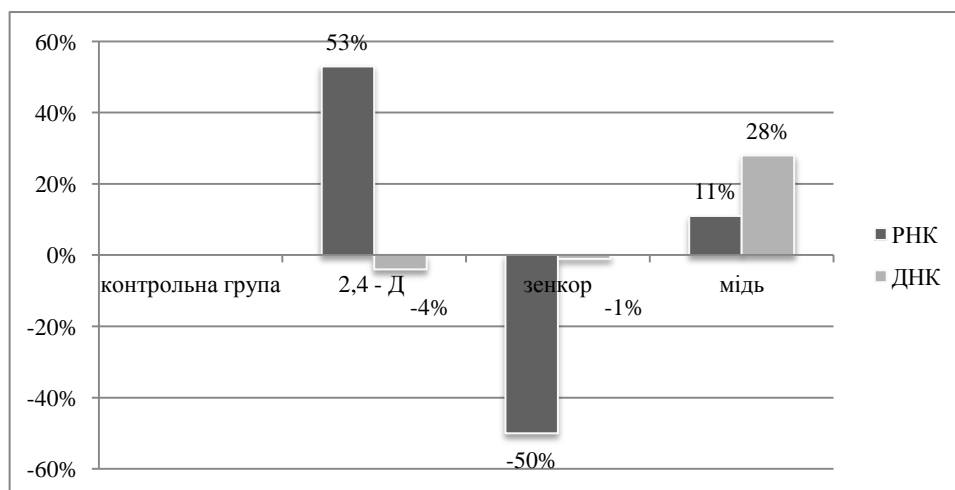


Рис. 3.1. Динаміка вмісту нуклеїнових кислот у м'язовій тканині цьогорічки коропа лускатого ($M \pm m, n=5$)

В білих м'язах за дії зенкору вміст ДНК не змінюється, в той же час кількість РНК зменшилась в 2 рази ($P \leq 0,001$). На відміну від гербіцидів, вплив іонів міді на коропа проявився у суттєвому (28 %, $P \leq 0,05$) збільшенні кількісного вмісту ДНК та у незначному підвищенні кількості РНК, що становить 11 % порівняно з контролем.

Незалежно від природи токсиканта після чотирнадцятидобового впливу активність ДНКаз збільшується (табл. 3.1), однак у різному ступені: в 1,5 рази порівняно з контролем за дії 2,4-Д ($P \leq 0,02$), на 1% та на 14% за дії зенкору та іонів міді відповідно.

Таблиця 3.1

Вміст нуклеїнових кислот і активність нуклеаз в білих м'язах коропа лускатого (цьогорічок) за дії токсикантів ($M \pm m, n=5$)

Показники	Вміст нуклеїнових кислот, мг/кг			Активність нуклеаз, Ю/мг білка	
	ДНК	РНК	Коефіцієнт співвідношення	ДНКаза	РНКаза
$M \pm m$ % P	Контрольна група				
	0,72 \pm 0,06	1,84 \pm 0,09	2,56 \pm 0,08	1,60 \pm 0,12	12,41 \pm 1,12
$M \pm m$ % P	2,4 – Д				
	0,69 \pm 0,01	2,81 \pm 0,21	4,07 \pm 0,11	2,41 \pm 0,24	14,82 \pm 0,64
	4 0,5	53 0,001	59 0,001	51 0,02	19 0,1
$M \pm m$ % P	Зенкор				
	0,71 \pm 0,07	0,92 \pm 0,10	1,31 \pm 0,09	1,61 \pm 0,18	14,64 \pm 2,18
	1 0,5	50 0,001	49 0,001	1 0,5	18 0,5
	Cu ²⁺				

M±m	0,92±0,07	2,05±0,21	2,23±0,14	1,82±0,14	12,22±4,02
%	28	11	13	14	2
P	0,05	0,2	0,05	0,5	0,5

РНКаза під впливом 2,4-Д також проявляє активність, вищу на показник риб контрольної групи на 19 %. Майже не відрізняється вплив зенкору на даний показник, активація порівняно з контролем сягає 18% . В той же час йони міді майже не спричиняють зміни активності РНКази порівняно з показником риб контрольної групи (12,41±1,12 та 12,22±4,02 ІО/мг білка у контролі та за дії йонів міді відповідно).

В результаті дії 2,4 – Д спостерігали збільшення співвідношення вмісту РНК/ДНК, що може свідчити про гальмування синтезу ДНК з одночасною стимуляцією синтезу білка. За дії зенкору відзначається різке зниження (49%) співвідношення РНК/ДНК, що свідчить про гальмування синтезу нуклеїнових кислот у білих м'язах цьогорічки коропа.

Вивчаючи вміст нуклеїнових кислот в печінці за дії токсикантів відмічено значні відхилення від норми при токсичній дії зенкору в тканинах печінки коропа (рис. 3.2) вміст нуклеїнових кислот значно зменшується (кількість РНК становить лише 37% від такої у риб контрольної групи, ($P \leq 0,001$). При інтоксикації 2,4 – Д, та Cu^{2+} вміст РНК і ДНК практично не змінювався і становив 99% та 89% для ДНК від показників риб, що знаходились у фізіологічних умовах. В той же час кількість РНК змінювалась неоднозначно, і, хоча відмінності порівнюваних показників невірогідні, можна простежити певні тенденції: за дії 2,4-Д вміст РНК зростає на 11 %, а під впливом Cu^{2+} зменшується на 6 % порівняно зі вмістом кислоти в тканині печінки риб контрольної групи.

Різде зменшення співвідношення РНК/ДНК у тканинах печінки коропа лускатого цьогорічки за дії зенкору також свідчить про гальмування синтезу нуклеїнових кислот. Хоча відмінності порівнюваних показників за дії 2,4 – Д та йонів міді невірогідні, можна простежити певні тенденції: за дії 2,4-Д

співвідношення РНК/ДНК зростає на 13 %, під впливом Cu^{2+} - на 6 % порівняно з показниками в тканинах печінки риб контрольної групи.

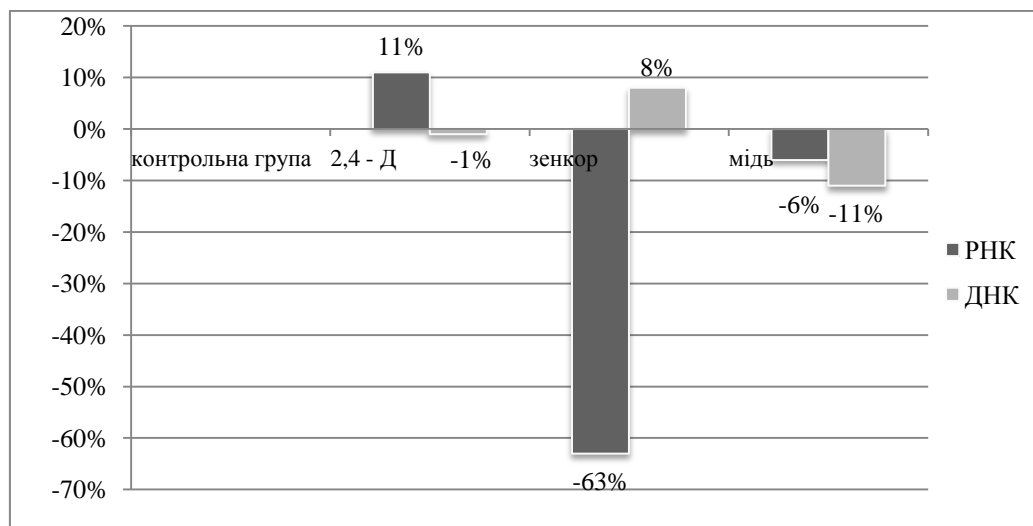


Рис. 3.2. Динаміка вмісту нуклеїнових кислот у печінці цьогорічки коропа лускатого ($M \pm m$, $n=5$)

Таблиця 3.2

Вміст нуклеїнових кислот і активність нуклеаз в печінці коропа лускатого (цьогорічок) за дії токсикантів ($M \pm m$, $n=5$)

Показники	Вміст нуклеїнових кислот, мг/кг			Активність нуклеаз, ІО/мг білка	
	ДНК	РНК	Коефіцієнт співвідношення	ДНКаза	РНКаза
$M \pm m$ % P	Контрольна група				
	0,91±0,08	2,62±0,12	2,88±0,10	2,41±0,14	16,41±0,84
$M \pm m$ % P	2,4 – Д				
	0,90±0,09 1 0,5	2,92±0,21 11 0,2	3,24±0,15 13 0,1	2,40±0,14 0 0,5	16,11±0,92 2 0,5
$M \pm m$ % P	Зенкор				
	0,98±0,06 8 0,5	0,98±0,10 63 0,001	1,00±0,08 65 0,001	2,46±0,21 2 0,5	18,12±4,22 10 0,5

	Cu^{2+}				
$M \pm m$	$0,81 \pm 0,04$	$2,46 \pm 0,12$	$3,04 \pm 0,08$	$2,56 \pm 0,14$	$13,11 \pm 2,11$
%	11	6	6	6	20
P	0,2	0,5	0,2	0,5	0,2

Активність нуклеаз найменш виражена при дії міді (РНКаза 80%) також 2,4 – Д (РНКаза 98%). Активність ДНКази наближається до контрольних значень (табл. 3.2)

При порівнянні контрольної групи з досліджуваною спостерігали значні відхилення від норми при токсичній дії 2,4 – Д в тканинах мозку (рис. 3.3) вміст ДНК зменшується на 37% ($P \leq 0,01$). При інтоксикації Cu^{2+} вміст нуклеїнових кислот практично не змінювався, відповідно ДНК становив 102%, РНК – 96%.

Вміст РНК збільшувався майже в 1,5 рази порівняно з контролем за дії 2,4 – Д ($P \leq 0,05$), в той же час токсична дія зенкеру проявляється в зворотному напрямку, вміст РНК зменшується на 45% від початкового.

В результаті дії 2,4 – Д співвідношення вмісту РНК/ДНК в тканинах мозку коропа цьогорічки збільшується в 2 рази, за дії зенкеру – значно зменшується (50%), що свідчить про гальмування синтезу нуклеїнових кислот, з одночасною стимуляцією синтезу білка.

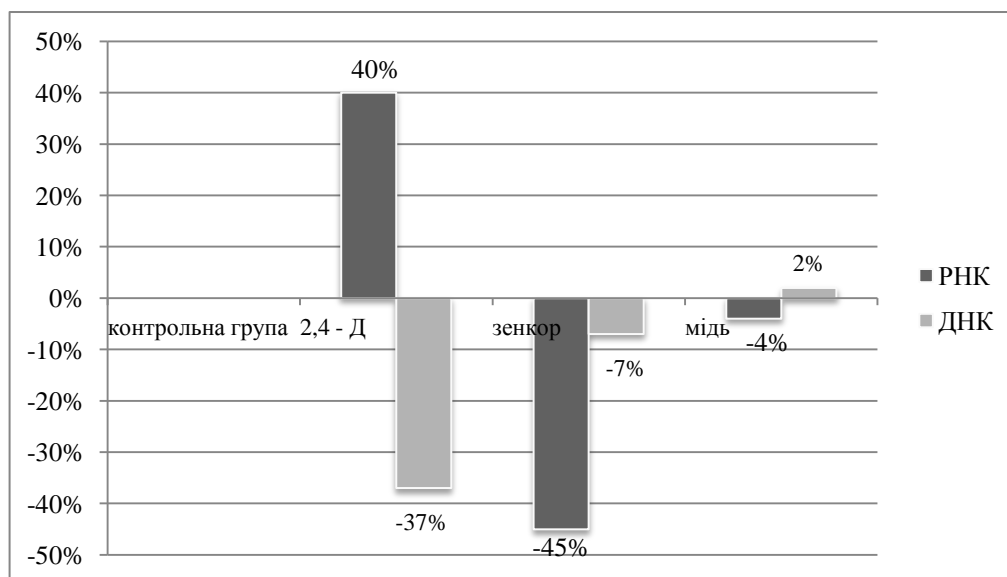


Рис. 3.3. Динаміка вмісту нуклеїнових кислот у тканинах мозку цьогорічки коропа лускатоного ($M \pm m$, $n=5$)

Активність нуклеаз найменш виражена при дії міді (ДНКаза 102%, РНКаза 105%). За дії зенкеру активність РНКази збільшується на 43% відносно показників контрольної групи, і хоча відмінності порівнюваних показників невіргодні, спостерігали зростання активності ДНКази і РНКази на 31% та 17% (табл. 3.3).

Таблиця 3.3

Вміст нуклеїнових кислот і активність нуклеаз в мозковій тканині коропа лускатоного (цьогорічок) за дії токсикантів ($M \pm m$, $n=5$)

Показники	Вміст нуклеїнових кислот, мг/кг			Активність нуклеаз, ІО/мг білка	
	ДНК	РНК	Коефіцієнт співвідношення	ДНКаза	РНКаза
$M \pm m$ % P	Контрольна група				
	0,43 \pm 0,02	1,46 \pm 0,10	3,41 \pm 0,06	1,80 \pm 0,21	13,33 \pm 0,92
$M \pm m$ % P	2,4 – Д				
	0,27 \pm 0,03 37 0,01	2,04 \pm 0,31 40 0,05	7,61 \pm 0,17 123 0,001	2,36 \pm 0,20 31 0,1	15,64 \pm 10,84 17 0,5
$M \pm m$ % P	Зенкор				
	0,40 \pm 0,06 7 0,5	0,81 \pm 0,06 45 0,001	2,03 \pm 0,06 40 0,001	1,74 \pm 0,18 3 0,5	19,11 \pm 6,11 43 0,2
$M \pm m$ % P	Cu ²⁺				
	0,44 \pm 0,06 2 0,5	1,40 \pm 0,17 4 0,5	3,20 \pm 0,12 6 0,2	1,84 \pm 0,16 2 0,5	14 \pm 2,70 5 0,5

Таким чином, в результаті аналізу стосовно нагромаджень гербіцидів та Cu²⁺ в тканинах коропа різного віку, а саме, цьогорічки можна зробити

висновок, що значно зменшувалася концентрація досліджуваних показників нуклеїнового гомеостазу. Проте, також переважали дистрофічні зміни, аутокаталітичні реакції зі зменшенням їх інтенсивності.

Водночас спостерігалось підвищення активності рибонуклеаз, що є проявом компенсаційної реакції на дію токсикантів різної хімічної природи

Дослідивши кількісний вміст ДНК і РНК різних тканин коропа (дворічки) за токсичної дії гербіцидів та міді можна зробити висновок, що суттєвих відмінностей у риб різного віку в одних і тих же тканинах не спостерігається при дії 2,4 – Д.

За дії 2,4 – Д вміст ДНК в білих м'язах дворічки зменшується на 16%, одночасно спостерігали незначне збільшення РНК всього на 11% відносно контрольної групи. За токсичної дії зенкору вміст РНК в цій тканині зменшується в 2 рази ($P \leq 0,001$). Вплив йонів міді на коропа дворічки в порівнянні з показниками коропа цьогорічки проявився у значному підвищенні кількісного показника РНК у 2,5 рази ($P \leq 0,001$) відносно контролю, тоді як вміст ДНК збільшився на 16% (рис. 3.4).

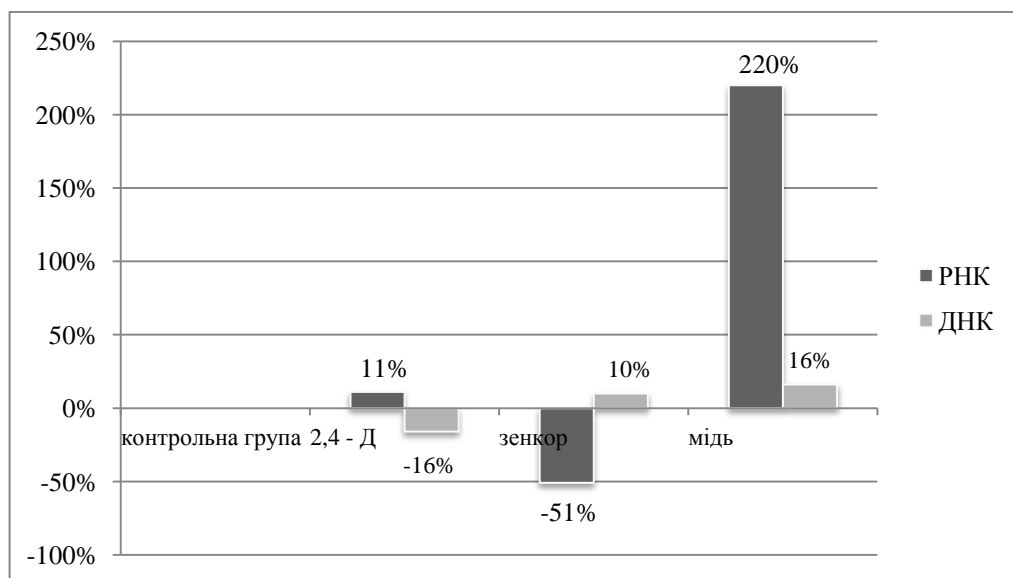


Рис. 3.4. Динаміка вмісту нуклеїнових кислот у м'язовій тканині дворічки коропа лускатого ($M \pm m$, $n=5$)

Незалежно від природи токсиканта активність ДНКаз в м'язовій тканині найменш виражена за дії йонів міді 95%. Активність РНКаз наближається до контрольних значень (табл. 3.4).

У коропа дворічки в результаті дії 2,4 – Д та йонів міді спостерігалось збільшення співвідношення вмісту РНК/ДНК відповідно на 32% та 174%, дія зенкору має зворотній характер – РНК/ДНК зменшується на 56% відносно риб контрольної групи. Це може свідчити про гальмування синтезу нуклеїнових кислот, зокрема, ДНК з одночасною стимуляцією синтезу білку.

Таблиця 3.4

Вміст нуклеїнових кислот і активність нуклеаз в м'язових тканинах коропа лускатого (дворічок) за дії токсикантів ($M \pm m$, n=5)

Показники	Вміст нуклеїнових кислот, мг/кг			Активність нуклеаз, ІО/мг білка	
	ДНК	РНК	Коефіцієнт співвідношення	ДНКза	РНКза
$M \pm m$ % P	Контрольна група				
	0,62 \pm 0,02	1,92 \pm 0,12	3,11 \pm 0,07	6,42 \pm 0,51	16,80 \pm 0,94
$M \pm m$ % P	2,4 – Д				
	0,52 \pm 0,03 16 0,05	2,14 \pm 0,21 11 0,2	4,12 \pm 0,12 32 0,001	6,83 \pm 0,81 6 0,5	18,36 \pm 2,13 9 0,5
$M \pm m$ % P	Зенкор				
	0,68 \pm 0,04 10 0,2	0,94 \pm 0,14 51 0,001	1,38 \pm 0,09 56 0,001	6,82 \pm 0,42 6 0,5	16,41 \pm 3,11 2 0,5
$M \pm m$ % P	Cu ²⁺				
	0,72 \pm 0,08 16 0,2	6,14 \pm 0,84 220 0,001	8,53 \pm 0,46 174 0,001	6,07 \pm 0,21 5 0,5	18,83 \pm 4,12 12 0,5

Порівнявши одержані дані вмісту ДНК та РНК і активності нуклеаз в тканинах печінки коропа різного віку (цъогорічки табл. 3.2 і дворічки табл. 3.5) можна зробити висновок, що значне зменшення вмісту РНК спостерігались при дії зенкору як у цъогорічного коропа (РНК - на 63%), так і

у дворічного (РНК - на 36%) ($P \leq 0,02$). За дії 2,4 – Д та йонів Cu^{2+} вміст РНК суттєво збільшився, відповідно на 74% ($P \leq 0,001$) та на 69% ($P \leq 0,01$) порівняно з показниками контрольної групи (рис. 3.5). Показники кількісного вмісту ДНК під дією токсикантів різної природи в тканинах печінки коропа дворічки наближаються до показників риб, що знаходились в фізіологічних умовах.

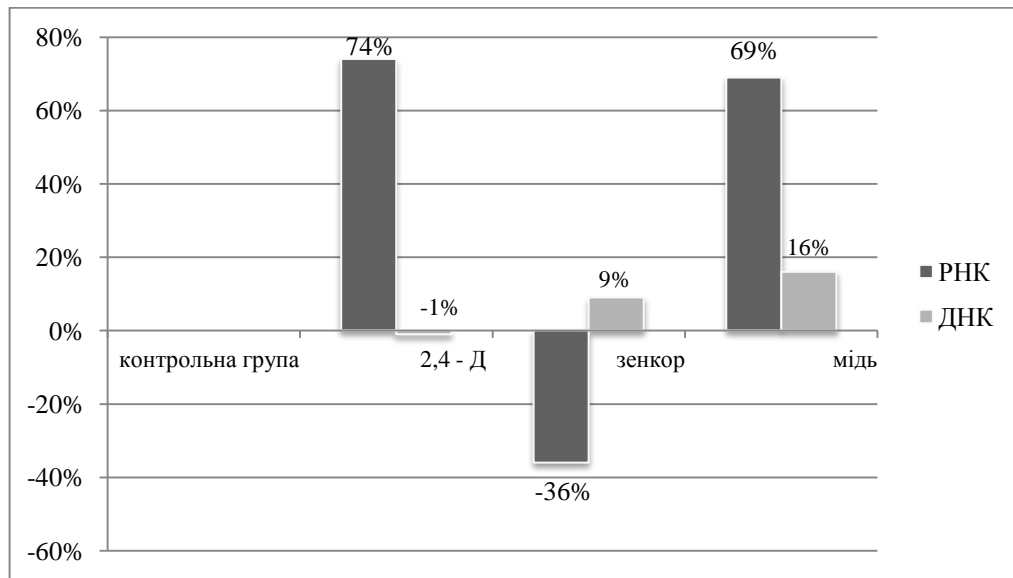


Рис. 3.5. Динаміка вмісту нуклеїнових кислот у печінці дворічки коропа лускатого ($M \pm m$, $n=5$)

ДНКазу під впливом зенкору та йонів міді проявляє меншу активність 79% та 73% відповідно. Активність РНКазу наближається до показників контрольної групи (табл. 3.5).

Рівень ДНК у тканинах (мозок, печінка, білі м'язи) коропа різного віку (цьогорічки і дворічки) сталий і дає уявлення про кількість клітин у досліджуваній тканині. Рівень ДНК залежить від кількості зруйнованих клітин, оскільки ДНК відображає ступінь деструкції. Рівень РНК мінливий. Він змінюється залежно від інтенсивності функціональної активності клітин та характеризує її здатність до синтезу.

У коропа дворічки в результаті дії 2,4 – Д та йонів міді в печінці спостерігалось збільшення співвідношення вмісту РНК/ДНК відповідно на 76% та 46%, дія зенкору має зворотній характер – РНК/ДНК зменшується на 41% відносно риб контрольної групи. За даними, у тканинах мозку дворічки,

спостерігали збільшення (112%) співвідношення вмісту РНК/ДНК, за дії зенкору відзначається зниження (18%) співвідношення РНК/ДНК. Це може свідчити про гальмування синтезу нуклеїнових кислот з одночасною стимуляцією синтезу білку.

Таблиця 3.5

**Вміст нуклеїнових кислот і активність нуклеаз в печінці
коропа лускатого (дворічок) за дії токсикантів ($M \pm m$, $n=5$)**

Показники	Вміст нуклеїнових кислот, мг/кг			Активність нуклеаз, ІО/мг білка	
	ДНК	РНК	Коефіцієнт співвідношення	ДНКаза	РНКаза
$M \pm m$ % р	Контрольна група				
	0,81 \pm 0,08	2,44 \pm 0,14	3,01 \pm 0,11	6,84 \pm 0,61	18,44 \pm 4,12
$M \pm m$ % р	2,4 – Д				
	0,80 \pm 0,06 1 0,5	4,24 \pm 0,41 74 0,001	5,3 \pm 0,24 76 0,001	6,87 \pm 0,42 0 0,5	20,12 \pm 2,18 9 0,5
$M \pm m$ % р	Зенкор				
	0,88 \pm 0,06 9 0,5	1,56 \pm 0,25 36 0,02	1,77 \pm 0,16 41 0,001	5,43 \pm 0,51 21 0,1	18,82 \pm 3,11 2 0,5
$M \pm m$ % р	Cu ²⁺				
	0,94 \pm 0,04 16 0,2	4,12 \pm 0,61 69 0,01	4,38 \pm 0,33 46 0,01	5,01 \pm 0,25 27 0,02	21,50 \pm 5,12 16 0,5

Аналізуючи вміст нуклеїнових кислот в тканинах мозку за дії токсикантів відмічено значні відхилення від норми, при токсичній дії 2,4 – Д кількість ДНК зменшується на 24% відносно контролю ($P \leq 0,001$), тоді як вміст РНК збільшується на 60% (рис. 3.6). При інтоксикації йонів Cu²⁺ вміст нуклеїнових кислот зростає, відповідно ДНК становить 124%, РНК – 116%. Вміст РНК зменшується порівняно з контролем на 10% за дії зенкору.

Таким чином, як свідчать наші дослідження нуклеїнових кислот і нуклеазної активності в різних тканинах *Cyprinus carpio* L. за дії токсичних умов, вираженість змін кількісного спектра нуклеїнових кислот і активності нуклеаз характеризується значною зміною їх вмісту і активності залежно від органічної, або неорганічної природи токсикантів. Виявлена безпосередня залежність між порушеннями нуклеїнового гомеостазу та токсиканту.

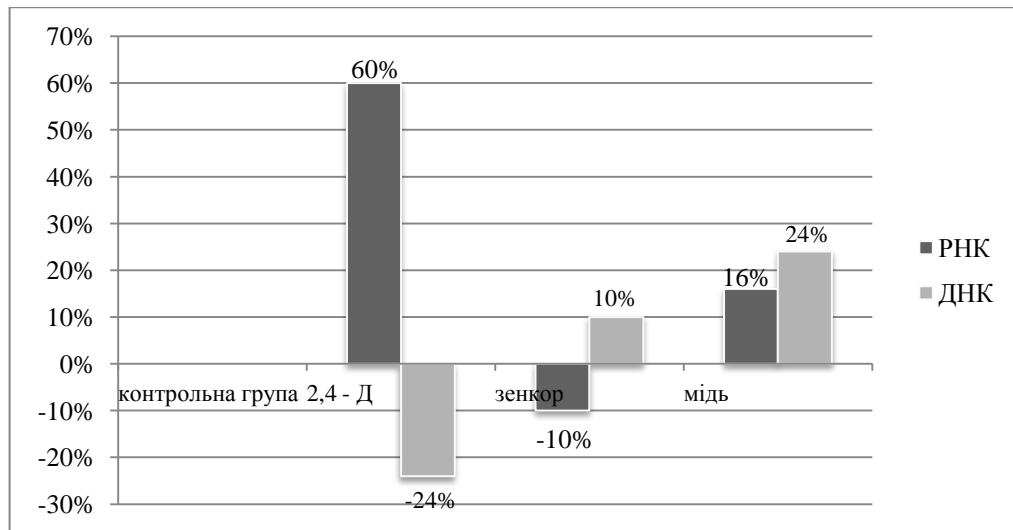


Рис. 3.5. Динаміка вмісту нуклеїнових кислот у тканинах мозку дворічки коропа лускатого ($M \pm m$, $n=5$)

Активність нуклеаз найменш виражена при дії міді (ДНКаз 9%, РНКаз 14%). За дії зенкору активність РНКаз збільшується на 31% відносно показників контрольної групи (табл. 3.6).

Таблиця 3.6

Вміст нуклеїнових кислот і активність нуклеаз в мозковій тканині коропа лускатого (дворічок) за дії токсикантів ($M \pm m$, $n=5$)

Показники	Вміст нуклеїнових кислот, мг			Активність нуклеаз, ІО/мг білка	
	ДНК	РНК	Коефіцієнт співвідношення	ДНКаз	РНКаз
$M \pm m$	Контрольна група				
%	0,41 \pm 0,01	1,83 \pm 0,18	4,46 \pm 0,10	3,16 \pm 0,08	16,43 \pm 4,11
p					
$M \pm m$	2,4 – Д				
%	0,31 \pm 0,01	2,93 \pm 0,42	9,46 \pm 0,22	4,18 \pm 0,64	14,34 \pm 4,11
p	24	60	112	32	13
	0,001	0,1	0,001	0,05	0,5
$M \pm m$	Зенкор				
%	0,45 \pm 0,04	1,64 \pm 0,34	3,64 \pm 0,19	3,25 \pm 0,34	21,60 \pm 4,12
p	10	10	18	2	31
	0,5	0,5	0,01	0,5	0,2
$M \pm m$	Cu ²⁺				
%	0,51 \pm 0,11	2,12 \pm 0,04	4,16 \pm 0,08	2,89 \pm 0,14	18,84 \pm 4,18
p	24	16	7	9	14
	0,2	0,001	0,05	0,2	0,5

Мідь є одночасно необхідним для життєдіяльності мікроелементом та токсичним важким металом для багатьох живих клітин. Мідь бере участь у перебігу багатьох важливих метаболічних процесів та проявляє значну бактеріостатичну та бактерицидну активність завдяки ушкодженню плазматичних мембран [34,35]. Механізм антибактеріальної дії міді заснований переважно на порушенні структури ДНК. Мідь селективно зв'язується з гуанозиновими залишками у молекулі ДНК [35], у результаті чого відбувається розрив одного або обох ланцюгів, а також модифікація основ [36, 37].

Дослідниками встановлена висока антибактеріальна активність наночастинок міді відносно резистентних клінічних штамів золотистого стафілококу, який є одним з найбільш поширених збудників гнійно-запальних процесів у травматології та ортопедії [6,7]. Дослідження механізму дії на бактерії свідчать про порушення бар'єрних властивостей мембран бактерій при взаємодії з частинками міді, але не можна стверджувати, що виявлення механізму є завершеним і не потребує подальшого експерименту. [6].

3.2. Динаміка нуклеїнового гомеостазу в крові пацюків

Знання про вміст нуклеїнових кислот у крові пацюків за дії токсикантів є важливим для медиків з кількох ключових причин, що стосуються розуміння механізмів токсичності, розробки діагностичних інструментів, оцінки ефективності лікування та інших аспектів медичної науки і практики. Пацюки часто використовуються як модельні організми в токсикологічних дослідженнях через їхню фізіологічну та генетичну подібність до людини. Вивчення вмісту нуклеїнових кислот у крові пацюків за дії токсикантів допомагає екстраполювати отримані дані на людей, що дозволяє краще зрозуміти, як токсиканти можуть впливати на людський організм. Вміст

нуклеїнових кислот у крові може бути маркером пошкоджень ДНК і РНК, спричинених токсикантами. Це дає змогу медикам розробляти методи ранньої діагностики токсичних уражень і вчасно вживати заходів для запобігання розвитку серйозних захворювань. Регулярний аналіз вмісту нуклеїнових кислот у крові може слугувати ефективним методом моніторингу стану здоров'я пацієнтів, які зазнають впливу токсичних речовин. Це дозволяє вчасно виявляти негативні зміни та коригувати лікування або умови праці.

Вивчаючи вміст нуклеїнових кислот в крові пацюків за дії токсикантів відмічено значні відхилення від норми при токсичній дії зенкору (рис. 3.6) вміст нуклеїнових кислот значно зменшується (кількість РНК становить лише 37% від такої у пацюків контрольної групи, ($P \leq 0,001$)). При інтоксикації 2,4 – Д, та Cu^{2+} вміст РНК і ДНК практично не змінювався і становив 99% та 89% для ДНК від показників тварин, що знаходились у фізіологічних умовах.

В той же час кількість РНК змінювалась неоднозначно, і, хоча відмінності порівнюваних показників невірогідні, можна простежити певні тенденції: за дії 2,4-Д вміст РНК зростає на 11 %, а під впливом Cu^{2+} зменшується на 6 % порівняно зі вмістом кислоти в крові тварин контрольної групи.

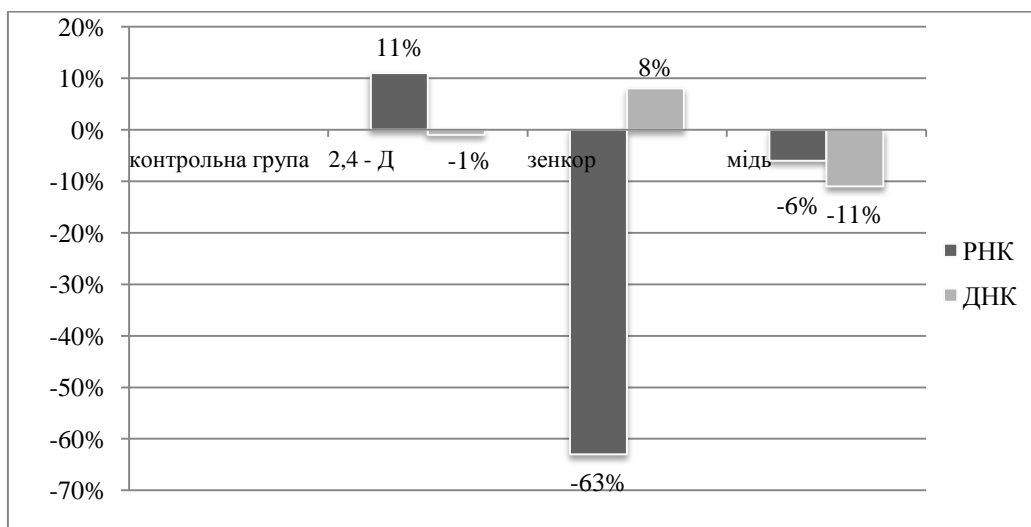


Рис. 3.6. Динаміка вмісту нуклеїнових кислот у крові пацюків ($M \pm m$, $n=4$)

Різке зменшення співвідношення РНК/ДНК у крові паціюків за дії зенкору також свідчить про гальмування синтезу нуклеїнових кислот. Хоча відмінності порівнюваних показників за дії 2,4 – Д та йонів міді невірогідні, можна простежити певні тенденції: за дії 2,4-Д співвідношення РНК/ДНК зростає на 13 %, під впливом Cu^{2+} - на 6 % порівняно з показниками в крові тварин контрольної групи.

Активність нуклеаз найменш виражена при дії міді (РНКаза 80%) також 2,4 – Д (РНКаза 98%). Активність ДНКази наближається до контрольних значень (табл. 3.7)

Таблиця 3.7

**Вміст нуклеїнових кислот і активність нуклеаз в печінці
коропа лускатого (цьогорічок) за дії токсикантів ($M \pm m$, n=5)**

Показники	Вміст нуклеїнових кислот, мг/кг			Активність нуклеаз, ІО/мг білка	
	ДНК	РНК	Коефіцієнт співвідношення	ДНКаза	РНКаза
$M \pm m$ % P	Контрольна група				
	0,91 \pm 0,08	2,62 \pm 0,12	2,88 \pm 0,10	2,41 \pm 0,14	16,41 \pm 0,84
$M \pm m$ % P	2,4 – Д				
	0,90 \pm 0,09	2,92 \pm 0,21	3,24 \pm 0,15	2,40 \pm 0,14	16,11 \pm 0,92
	1 0,5	11 0,2	13 0,1	0 0,5	2 0,5
$M \pm m$ % P	Зенкор				
	0,98 \pm 0,06	0,98 \pm 0,10	1,00 \pm 0,08	2,46 \pm 0,21	18,12 \pm 4,22
	8 0,5	63 0,001	65 0,001	2 0,5	10 0,5
$M \pm m$ % P	Cu^{2+}				
	0,81 \pm 0,04	2,46 \pm 0,12	3,04 \pm 0,08	2,56 \pm 0,14	13,11 \pm 2,11
	11 0,2	6 0,5	6 0,2	6 0,5	20 0,2

Уже кілька років існують побоювання про можливий зв'язок між використанням пестицидів і розвитком ракових захворювань. В Індії вчені університету м. Патіала, штат Пенджаб, провели дослідження, в ході якого було встановлено, що ДНК людей, задіяних у роботі з пестицидами змінені, що зробило їх більш сприйнятливими до ракових захворювань [39]. Як повідомили французькі та аргентинські вчені, пестициди - речовини, які вже понад півстоліття застосовуються в сільському господарстві для боротьби зі шкідниками є однією із причин чоловічого безпліддя. При обстеженні 225 аргентинців, зайнятих в сільському господарстві і страждають безпліддям, виявилось, що всі вони мали неодноразові контакти з пестицидами. Аргентина не випадково була обрана місцем для дослідження. Ця країна є світовим лідером із застосування отрутохімікатів у сільському господарстві [40].

Вивчення нуклеїнових кислот при токсичному впливі на організм має велике значення з кількох важливих причин:

Генетична стабільність - нуклеїнові кислоти, такі як ДНК і РНК, зберігають генетичну інформацію організму. Токсичні речовини можуть викликати мутації або пошкодження ДНК, що призводить до порушення генетичної стабільності. Вивчення цих пошкоджень допомагає зрозуміти, як токсини впливають на геном і як вони можуть сприяти розвитку хвороб, таких як рак.

Механізми клітинної відповіді - токсичний вплив може викликати зміни в експресії генів. Дослідження РНК, включаючи мРНК, тРНК та інших типів РНК, дозволяє виявити, які гени активуються або пригнічуються у відповідь на токсини. Це допомагає зрозуміти механізми клітинної відповіді на стрес і пошкодження, що сприяє розробці нових методів лікування і профілактики.

Розробка методів діагностики - аналіз змін у структурі і функції нуклеїнових кислот може слугувати основою для розробки нових діагностичних методів. Наприклад, виявлення специфічних мутацій або маркерів пошкоджень ДНК може бути використано для ранньої діагностики захворювань, викликаних токсичними агентами.

Токсикогеноміка - це відносно нова наука, яка вивчає взаємодію між генетичним матеріалом і токсичними речовинами. Вона допомагає ідентифікувати генетичні фактори, що впливають на чутливість або стійкість до токсинів, і розуміти, як ці фактори можуть бути використані для розробки більш ефективних заходів захисту.

Розуміння механізмів канцерогенезу - багато токсинів мають канцерогенну дію, тобто вони здатні викликати розвиток раку. Вивчення того, як токсини пошкоджують ДНК і які механізми репарації ДНК активуються у відповідь на ці пошкодження, дозволяє краще зрозуміти процеси канцерогенезу і розробити методи його запобігання.

Екологічний моніторинг - аналіз нуклеїнових кислот може бути використаний для оцінки впливу забруднювачів на екосистеми. Наприклад, дослідження ДНК організмів, що живуть у забруднених середовищах, дозволяє визначити рівень генетичних пошкоджень і оцінити загрозу для біорізноманіття.

Таким чином, вивчення нуклеїнових кислот при токсичному впливі на організм є критично важливим для розуміння того, як токсини впливають на генетичний матеріал, які наслідки це має для здоров'я і як можна розробити ефективні методи діагностики, лікування і профілактики токсичних впливів.

ВИСНОВКИ

1. За дії підвищених концентрацій гербіцидів в тканинах коропа лускатого змінюється вміст РНК: під впливом 2,4-Д в усіх досліджуваних тканинах показник збільшується незалежно від віку риби, зенкор має протилежну дію - вміст рибонуклеїнової кислоти значно зменшується. Зміни вмісту ДНК у цьогорічки коропа найбільше виражені у мозковій тканині при інтоксикації організму риби бутиловим ефіром 2,4-Д і сягають 63% від показника коропів контрольної групи. Аналогічні зміни спостерігаються і у дворічки коропа за дії 2,4-Д та йонів міді, однак зміни становлять 24 %.

2. Вплив йонів міді при 2 ГДК вірогідно не змінює вміст нуклеїнових кислот в білих м'язах, печінці та мозку цьогорічки коропа, на відміну від риби старшого віку, в тканинах яких йони міді після чотирнадцятидобової інкубації викликають вірогідне підвищення вмісту РНК в усіх тканинах. В той же час кількість РНК змінювалась неоднозначно, і, хоча відмінності порівнюваних показників невірогідні, можна простежити певні тенденції: за дії 2,4-Д вміст РНК зростає на 11 %, а під впливом Cu^{2+} зменшується на 6 % порівняно зі вмістом кислоти в крові тварин контрольної групи.

3. Вивчаючи вміст нуклеїнових кислот в крові пацюків за дії токсикантів відмічено значні відхилення від норми при токсичній дії зенкору вміст нуклеїнових кислот значно зменшується (кількість РНК становить лише 37% від такої у пацюків контрольної групи, ($P \leq 0,001$)). При інтоксикації 2,4 – Д, та Cu^{2+} вміст РНК і ДНК практично не змінювався і становив 99% та 89% для ДНК від показників тварин, що знаходились у фізіологічних умовах.

4. Виявлена зміна співвідношення РНК/ДНК за дії досліджуваних токсикантів опосередковано свідчить про наявність експресії геному, що пов'язано з біосинтезом специфічних адаптивних білків. Незалежно від природи токсиканта, віку та виду тварин та досліджуваної тканини активність нуклеаз наближається до показників тварин контрольної групи, за

виключенням активності ДНКаз у мозку дволітки коропа, що вірогідно активується за дії 2,4-Д бутилового ефіру.

5. Вивчення нуклеїнового гомеостазу за дії токсикантів має критичне значення для медицини, оскільки воно сприяє ранньому виявленню та діагностиці захворювань, розробці ефективних методів лікування і профілактики, персоналізованому підходу до терапії, покращенню моніторингу професійних захворювань, оцінці ризиків і встановленню стандартів безпеки, а також захисту здоров'я населення і навколишнього середовища.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Бауер О. Н., Мусселиус В. А., Ніколаєва В. М., Стрелков Ю. А. Іхтіологія. Київ : Харчова промисловість, 2007. 431 с.
2. Біохімія. Практикум. Київ : Изд-во КГУ, 2018. 128 с.
3. Врочинський К.К. Пестициди і охорона водних ресурсів. Київ : Урожай, 1987. 160 с.
4. Довідник з пестицидів (гігієна застосування та токсикологія) / За ред. А.В. Павлова. Київ : Урожай, 1986. 432 с.
5. Желай М., Ячна М., Мехед О., Третяк О. Адаптивні зміни іхтіологічних показників коропових риб за дії мікотоксину Т2. Природні ресурси прикордонних територій в умовах зміни клімату. VII Міжнародна наукова конференція: програма, тези доповідей (Україна, Чернігів, 27 – 29 вересня 2023 р.). Чернігів : Десна-Поліграф. 2023. С. 77-78
6. Коган Ю.С. Загальна токсикологія пестицидів. Київ : Здоров'я, 2001. 384 с.
7. Корнієнко Г. Г., Бойко Н. Є., Бугаєв Л. А., Дехта В. А. Фізіолого-біохімічні та генетичні дослідження іхтіофауни Азово-Чорноморського басейну. Методичний посібник. Ростов-на-Дону: Еверест, 2005. 105 с
8. Корсак К.В., Плахотнік О.В. Вплив пестицидів на екосистеми та людину. // Основи екології: навчальний посібник. - 2000. - С.167 - 171.
9. Кучеренко М.Є., Виноградова Р.П., Бабенюк Ю.Д. Біохімія: Підручник. Київ ;Либідь, 2005. С.271-301.
10. Лакин Г. Ф. Біометрія. Київ : Вища школа. 1990.352 с.
11. Левченко В.І., Новожицька Ю.М., Сахнюк В.В. Біохімічні методи дослідження крові тварин: Методичні рекомендації для лікарів хіміко-токсикологічних відділів державних лабораторій ветеринарної медицини України, слухачів факультетів підвищення кваліфікації та студентів факультету ветеринарної медицини Київ, 2004. 104 с
12. Левченко О.Є. Небезпечні хімічні речовини. Аварії на хімічно-небезпечних об'єктах: [навч. посіб.] . Київ: УВМА, 2013. 196 с.

13. Левченко О.Є. Хімічна безпека як елемент національної безпеки . Наука і практика: Міжвідомчий медичний журнал. 2014. № 1(2). С.38-49.
14. Левчук К.О. Цивільний захист: [навч. посіб.] / К.О. Левчук [та ін.]. Дніпродзержинськ: ДДТУ, 2016 р. 325 с.
15. Медицина катастроф. Військова медицина: [рек. анотований бібліогр. покажч.] / уклад.: Н.Б. Гавриш [та ін.]. Харків: 2018. 36 с.
16. Мосин О. В. Фізіологічна дія наночастинок міді на організм людини. NanoWeek. 2008. № 22. С. 34 – 38.
17. Пилипович Ю.Б., Єгорова Т.А., Севастьянова Г.А. Практикум із загальної біохімії. Київ : Просвіта, 2005. 318 с.
18. Підліснюк В.В., Стирановська Т.В. Заборонені та непридатні до використання пестициди: стан та перспективи. Безпека життєдіяльності. - 2004. - № 6. - С.23 - 28.
19. Посібник з клінічної лабораторної діагностики / П. д ред.В.Г. Денисюка. Київ : Здоров'я, 1992. - 296 с.
20. Скорюков В.І. Практикум з іхтіології. Львів : Агропромиславництво, 1986. 268 с.
21. Фізіологія адаптаційних процесів. Львів .: Наука, 2006. 635 с.
22. Фізіологія людини та тварин: 2 т. // Коган А.Б. та ін - Київ : Вища школа, 2014. 360 с.
23. Флеров Б. А. - У кн.: Вплив забруднюючих речовин на гідробіонтів та екосистеми водойм. Львів, 1979. С. 266-276.
24. Хлебівич В.В. Акліматизація водних тварин. Київ : Наука, 1981. 135 с.
25. Хочачка П.В., Сомеро Д.М. Біохімічна адаптація. Вінниця, 1988. 568с.

26. Цанєв Р.Г., Марков Г.Г. До питання кількісному спектрометричному визначенні нуклеїнової кислоти. Біохімія. 1960. Т. 25, № 1.С. 151-159.
27. Яковенко Б. В., Мехед О. Б. Біохімічні зміни в організмі коропа лускатого під впливом гербіцидного забруднення навколишнього середовища. Фальцфейнівські читання. Херсон, 2003 С.395-396
28. Aronson R. Ст, Precht W. F., Mac-intyre I. G., Murdoch T. J. Ecosystems Coral bleach-out in Belize. Nature, 2000. Vol. 405. P. 32-36.
29. Babij, S. O., O. O. Djomshina, and N. I. Shtemenko. "γ-glutamyl tranferase in a model of carcinogenesis in rats." Regulatory Mechanisms in Biosystems 1.1 (2010): 28-33.
30. Demirkan A. / A simple and inexpensive device for collecting urine samples from rats // Arda Demirkan, Mehmet Melli [Електронний ресурс]. – Веб-сайт. Режим доступу: [http:// newmeditech.com/products/lab-equipmentsproducts/vivarium/metabolic-cage-small-rodents/](http://newmeditech.com/products/lab-equipmentsproducts/vivarium/metabolic-cage-small-rodents/)
31. Bamburg J.R. The biological activities and detection of naturally occurring 12,13-epoxy-trichothecenes. Clinical toxicology. 1971. Vol.5-N4. P. 495-515.
32. Borkow G. Copper as a biocidal tool. Curr. Med.Chem. 2005. Vol. 12, No. 18. P. 2163 – 2175.
33. Diachenko, L. M.,& Stepchenko, L. M. (2018). Erythrocyte system of rat blood during the application of fodder additives of humic nature for combined stress. Theoretical and Applied Veterinary Medicine, 6(3), 34–38. doi: 10.32819/2018.63007 (in Ukrainian). – URI : [http:// dspace.dsau.dp.ua/jspui/handle/123456789/2388](http://dspace.dsau.dp.ua/jspui/handle/123456789/2388).
34. Effect of fulvic acid induction on the physiology, metabolism, and lipid biosynthesis-related gene transcription of *Monoraphidium* sp. FXY-10. Faculty of Life Science and Technology, Kunming University of Science and Technology, Kunming, China, Che R, Huang L, Xu JW, Zhao P, Li T, Ma H, Yu X. PMID 28042988

35. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purpose : Council of Europe. – Strasbourg, 1986. – 52 p
36. Hamayun M, Khan SA, Khan AL, Rehman G, Sohn EY, Shah AA, Kim SK, Joo GJ, Lee IJ. Phoma herbarum як новий gibberellin-producing and plant growth-promoting fungus. *J Microbiol Biotechnol.* 2009 Oct;19(10):1244-9.
37. Janos P. Separation methods in the chemistry of humic substances // *J. Chromatography A.* — 2003. — Vol. 983. — P. 1–18.
38. Kurien B. T. Experimental animal urine collection: a review / Biji T. Kurien¹, Nancy E. Everds² & R. Hal Scofield [Електронний ресурс] – Веб-сайт. Режим доступу: <https://journals.sagepub.com/doi/pdf/10.1258/0023677041958945>.
39. Lowry O. H. Determination of enzymes in the liver of the fish . *J. Biol. Chem.*, 1951. 193, № 1. P. 265– 275.
40. Lowry O. H., Rosebrough N. I., Farr A. I., Rendall R. I. Визначення природних речовин в риби. *J. Biol. Chem.*, 1951. 193, № 1. P. 265 - 275.
41. Metabolic role using a feed additive of humic nature “Humilid” on the organism of animals / [Lilia M. Stepchenko, Lyudmila I. Galuzina, Lina M. Diachenko et al.] // *Natural organic matters geochemical flows and properties: from theory to practice: Book of Abstracts international conference (Riga, 5-8 June 2019) / University of Latvia.* – Riga, 2019. – P. 63. – URL : <http://dspace.dsau.dp.ua/jspui/handle/123456789/1869>.
42. National Research Council. National Academy Press; Washington, D.C.: 1996. (Laboratory Animal Management—Rodents) Percy D.H., Barthold S.W. 1st ed. Iowa State Univ. Press; Ames: 1993. pp. 70–114. (Pathology of Laboratory Rodents and Rabbits)
43. Nikolaienko T., Ivashchenko M., Ivashchenko N., Mekhed O. Changes in Blood Parameters of Laboratory Animals Under the Influence of

Мусотоксин Т2. Актуальні питання біології та медицини : зб. наук. праць за матеріалами XVIII Всеукраїнської наукової конференції (м. Лубни, 02 червня 2023 р.). Лубни : Вид-во ДЗ «ЛНУ імені Тараса Шевченка», 2023. С. 64-67

44. Phoma herbarum [Електронний ресурс]. Режим доступу https://www.adfg.alaska.gov/static/species/disease/pdfs/fishdiseases/phoma_herbarum.pdf

45. Sagripant J. L. Sitespecific oxidative DNA damage at polyguanosines produced by copper plus hydrogen peroxide. *J. Biol. Chem.* 1989. Vol. 264, No. 3. P. 1729 – 1734.

46. Sagripanti J. L. Cupric and ferric ions inactivate HIV. *AIDS Res. Hum. Retroviruses.* 1996. Vol. 12, No. 4. P. 333 – 337.

47. Sierra M., Giovanela M., Parlanti E. et al. Fluorescence fingerprint of fulvic and humic acids from varied origins as viewed by single-scan and excitation/emission matrix techniques. *Chemosphere.* 2005. Vol. 58. P. 715–733.

48. Sierra M., Giovanela M., Parlanti E. et al. Structural description of humic substances from subtropical coastal environments using elemental analysis, FT-IR, and ¹³C —solid state NMR data. *J. Coastal Research.* 2004. Vol. 2. P. 219–231.

49. Toyokuni S. Increased 8-hydroxydeoxyguanosine in kidney and liver of rats continuously exposed to copper. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1994. Vol. 126, No. 1. P. 91 – 97.

50. Trckova M, Lorencova A, Babak V, Neca J, Ciganek M. The effect of leonardite and lignite on the health of weaned piglets. *Res Vet Sci.* 2018 Aug;119:134-142. doi: 10.1016/j.rvsc.2018.06.004. Epub 2018 Jun 12. PMID: 29929065.

51. Visser S.A. Effect of humic substances on mitochondrial respiration and oxidative phosphorylation. *Sci. Total Environ.* 1987. Vol. 62. P. 347-354.

52. Visser S.A. Some biological effects of humic acids in the rat. *Acta Biologica Et Medica Germanica*. 1973. Vol. 31. P. 569-581.
53. Whitehead RD Jr, Mei Z, Mapango C, Jefferds MED. Methods and analyzers for hemoglobin measurement in clinical laboratories and field settings. *Ann N Y Acad Sci*. 2019;1450(1):147-171. doi:10.1111/nyas.14124 44.
54. Young DF, Clifford CB. Biology and Diseases of Rats. *Laboratory Animal Medicine*. 2002;121-165. doi:10.1016/B978-012263951-7/50007-7

Автор: Ірина Миколаївна Остряньська

Співавтор:

Назва: Зміни нуклеїнового гомеостазу за дії токсикантів різної хімічної будови як маркер ризику для здоров'я населення

Науковий керівник: Демченко Наталія Ростиславівна Мехед Ольга Борисівна

Підрозділ: National University "Chernihiv Collegium"

Коефіцієнт подібності 1: 11.6%

Коефіцієнт подібності 2: 1.9%

Мікропробіли: 0

Заміна букв: 9

Інтервали: 0

Білі знаки: 0

Дата створення звіту: 2024-06-14 08:28:36.0