

I. L. Ryzhko, Y. V. Karavanskiy

I. I. Mechnykov Odesa National University, Ukraine

MORPHOLOGICAL PARAMETERS OF BLOOD OF SYRMAN GOBY PONTICOLA CEPHALARGOIDES (PINCHUK, 1976) AND RATTAN GOBY PONTICOLA RATAN (NORDMANN, 1840) IN THE ODESA BAY

Studied the morphological parameters of blood of syrman goby *Neogobius cephalargoides* (Pinchuk) and rattan goby *Neogobius ratan* (Nordmann) in the Odesa Bay. The comparative characteristic of hematological blood parameters of males and females. It was found the increase in the number of red blood cells with the deformation of the nucleus in the blood of males and females in the summer.

Keywords: erythrocytes, *Ponticola cephalargoides*, *Ponticola ratan*, Odesa Bay

УДК: 574+574.5/.6]:167/.168:177

О.В. РОМАНЕНКО, М.М. ГРУША

Національний медичний університет імені О. О. Богомольця
пр. Перемоги 34, Київ, 03057, Україна

БІОЕТИЧНІ АСПЕКТИ ГІДРОЕКОЛОГІЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

В статті висвітлено сучасні уявлення про застосування принципів та норм біоетики в плануванні, організації та проведенні гідроекологічних досліджень. Обговорюються біоетичні аспекти умов утримання водних тварин та їх використання при виконанні наукових досліджень. Наводяться методи анестезії та евтаназії водних тварин, прийняті міжнародною науковою спільнотою у відповідності до існуючих принципів та норм біоетики.

Ключові слова: біоетичні норми і принципи, гідробіонти, методологія наукових досліджень, екологічні та гідробіологічні дослідження

В сучасній гідроекології в біоіндикації та біотестуванні використовуються різноманітні методи: вивчення будови, перебігу фізіолого-біохімічних процесів та інших особливостей безхребетних та хребетних водних тварин [3]. Проте, згідно з чинними біоетичними нормами існують певні обмеження стосовно використання в наукових цілях тварин, вилучених з природних умов [11]. Воно повинно бути науково аргументовано та доведено, що результат, який планується отримати в ході дослідження, не може бути досягнутий іншими альтернативними шляхами. Такий підхід зумовлений не тільки прагненням збереження природного різноманіття, а й необхідністю при організації та проведенні наукової роботи дотримання сучасних біоетичних норм, зокрема спрямованих на: 1) пошук альтернативи дослідженням з використанням хребетних тварин, а також головоногих молюсків; 2) зменшення чисельності піддослідних тварин в тих експериментах, де очікуваний результат не може бути досягнутий за рахунок використання альтернативних підходів; 3) удосконалення протоколів досліджень з метою мінімізації больових відчуттів і страждань тварин [12, 17].

Біоетичні принципи мають бути закладені в методологію виконання наукової роботи ще на етапі планування і застосуватися в усіх процедурах, які організмам, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей, “можуть спричинити біль, страждання, занепокоєння чи завдати тривалої шкоди” [12].

Організація експериментальної наукової роботи з використанням тварин регламентується документами, в яких деталізуються біоетичні аспекти планування та проведення досліджень. До таких документів належать, зокрема, “Європейська конвенція про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей”, “Договір про функціонування Євросоюзу”, Директиви Євросоюзу 86/609/ЕЕС та 2010/63/EU, закон України “Про захист тварин від жорстокого поводження” тощо [1, 4, 9, 12], провідною ідеєю яких є застосування принципів і норм біоетики “до будь-якої тварини, що використовується або призначена для

використання у будь-якій дослідній або іншій науковій процедурі, якщо така процедура може спричинити біль, страждання, занепокоєння чи завдати тривалої шкоди” [12]. При цьому, підкреслюється що під дію цих норм підпадає “будь-яка жива хребетна тварина, яка не належить до людського роду, включаючи паразитуючі та/або відтворюючі личинкові форми” [12].

Відповідно до Директиви 2010/63/EU розширено список таксономічних груп, яких стосуються положення “Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей”. До нього включено таксон Круглороті (Cyclostomata), а також таксон Головоногі молюски (Cephalopoda) [11], що зумовлено високим ступенем розвитку когнітивних функцій в останніх [10]. Експериментальні дослідження з використанням хребетних водних тварин та головоногих молюсків можливі лише за умови відсутності альтернативних протоколів досліджень, які дали б змогу отримати очікувані результати [12]. При експериментальному вивченні процесів життєдіяльності гідробіонтів, використанні останніх для проведення процедур біотестування з метою оцінки екологічного стану водних об’єктів актуальним є залучення тих водних тварин, цілеспрямоване розведення яких протягом ряду поколінь відбувається в умовах спеціалізованого розплідника, але не тих водних тварин, що нещодавно вилучені з природних умов і в яких внаслідок цього може виникати стан стресу. Таким підходом до організації досліджень досягається більший ступінь подібності морфологічних, фізіолого-біохімічних та інших характеристик тварин, передбачених для забезпечення виконання наукової роботи, що в кінцевому результаті дозволяє зменшити кількість дослідів, необхідних для отримання достовірного наукового результату і, відповідно, кількість залучених для цього піддослідних організмів [11].

Сучасні вимоги до умов утримання водних тварин, призначених для забезпечення проведення досліджень, узгоджуються з загальноприйнятими біоетичними нормами, узагальнені в ряді документів [8, 11, 12, 16].

Особлива увага має приділятися протокольним процедурам, при виконанні яких є потреба в тимчасовому знерухомленні водних тварини, їх анестезії або евтаназії. Такі процедури вимагають чіткого дотримання регламентованих заходів, спрямованих на недопущення розвитку стресового стану у тварини, мінімізацію її больових відчуттів, забезпечення швидких знерухомлення і втрати твариною “стану свідомості”. При цьому “станом свідомості” вважають такий, у якому тварина здатна сприймати подразники і адекватно реагувати на них, а “станом несвідомості” – у якому тварина втрачає чутливість до зовнішніх подразників (такий стан спостерігається під час загального наркозу або коматозного стану) [13, 14]. При проведенні досліджень з використанням хребетних водних тварин та головоногих молюсків необхідно брати до уваги прийнятність застосування конкретного методу до пойкилотермних тварин, які знаходяться в стані “свідомості”, а також безпечність протокольних процедур для виконавця, їх стандартизацію та легкість відтворення [2, 12 – 15]. За природою методи евтаназії водних тварин поділяють на фізичні і хімічні (ін’єкційні та із зануренням тварин в середовище з специфічним агентом, внаслідок чого настає смерть тварини), а за особливостями протокольної процедури – на одноетапні та двоетапні [6, 7, 18]. До одноетапних методів відносять, як правило, більшість хімічних методів, в основі яких лежить ефективне проникнення відповідних фармакологічних агентів через шкіру та зябра водних тварин, що в кінцевому результаті спричинює анестезію, а за умови подальшого збільшення вмісту анестетика – смерть тварини [18]. До двоетапних методів відносять ін’єкційні хімічні методи та більшість фізичних методів. Першим етапом двоетапних методів є додавання у водне середовище анестетика, що забезпечує мінімізацію больових відчуттів твариною, її знерухомлення та втрату нею “свідомого стану”; другим етапом – є застосування одного з фізичних методів евтаназії або ін’єкційне введення в тіло тварини (внутрішньовенне, внутрішньом’язове, інтрацеломічне або внутрішньосерцеве) хімічної сполуки, здатної викликати її смерть [8].

Згідно Директиви 2010/63/EU основним методом евтаназії піддослідних водних тварин є передозування анестетика, з наступним проведенням додаткових маніпуляцій для підтвердження смерті тварини (припинення кровообігу, руйнування мозку, знекровлення) [11].

Пропонується [5] використання, наприклад, таких методів евтаназії риби, якщо та знаходиться в стані “свідомості”: 1) занурення у водне середовище, що містить одну з вказаних нижче сполук: трикаїну метаносульфат (MS-222, TMS), який є препаратом вибору, бензокаїн, хинальдину сульфат або 2-феноксіетанол; 2) мацерацію або гіпотермічний шок для тварини розміром не більше ніж 3,8 см, причому гіпотермічний шок виключно для стенотермних представників, які походять з тропічних та субтропічних регіонів; 3) анестезію, а після неї декапітацію або значну травматизацію головного мозку різким ударом з наступним знекровленням або руйнуванням структур центральної нервової системи. В ході виконання наукових досліджень інші методи евтаназії риб, прийняті в належній ветеринарній практиці, можуть бути застосовані за умови, що тварина знаходиться в “несвідомому стані” і гарантовано не вийде з нього під час проведення процедури евтаназії. Якщо при проведенні науково-дослідної роботи планується використання інших методів анестезії або евтаназії тварин, тоді необхідне наукове обґрунтування гуманності такої процедури або наукове обґрунтування неможливості досягнення мети процедури з використанням методів вказаних в Додатку IV до Директиви 2010/63/EU [11].

Для евтаназії безхребетних водних тварин пропонуються [5] методи із зануренням тварин у водне середовище з відповідними фармакологічними агентами, зокрема у випадку Cephalopoda – з солями магнію, що пригнічують нейронну активність, або з етанолом (1-5 %), що пригнічує роботу натрієвих і кальцієвих іонних каналів збудливих мембран, а у випадку Crustacea – з евгенолом або з ізоевгенолом чи з олією гвоздик. Застосування фізичних методів евтаназії безхребетних тварин (заморожування, занурення у окріп) допускається лише на другому етапі двоетапної процедури [5].

Дотримання біоетичних принципів і норм при вивченні водних тварин є обов'язковою складовою організації як наукової роботи, так і освітнього процесу у вищих навчальних закладах, має знаходити відповідне відображення при висвітленні результатів досліджень.

1. Закон України № 3447-IV “Про захист тварин від жорстокого поводження” // Відомості Верховної Ради України (ВВР). – 2006. – № 27. – С. 230. – (Офіційне видання).
2. Копаладзе Р. А. Методы эвтаназии экспериментальных животных – этика, эстетика, безопасность персонала / Р. А. Копаладзе // Успехи физиол. наук. – 2000. – Т. 31, № 3. – С. 79–90.
3. Методи гідроекологічних досліджень поверхневих вод / О. М. Арсан, О. А. Давидов, Т. М. Дьяченко [та ін.]; за ред. В. Д. Романенка. – НАН України. Ін-т гідробіології. – К.: ЛОГОС, 2006. – 408 с.
4. Australian code for the care and use of animals for scientific purposes, 8th edition / [M. Bate, C. Chippendale, A. Lucas]. – Canberra: NHMRC, 2013. – 92 p.
5. VMA Guidelines for the Euthanasia of Animals: 2013 Edition / [S. Leary, W. Underwood, R. Anthony et al.]. – Schaumburg: AVMA, 2013. – 102 p.
6. Broun L. A. Anesthesia in fish / L. A. Broun // Veterinary Clinics of North America: Small animal practice. – 1988. – Vol. 18, № 3. – P. 317–330.
7. CCAC guidelines on: euthanasia of animals used in science / R. Charbonneau, L. Niel, E. Olfert [et al.]. – Ottawa: CCAC, 2010. – 32 p.
8. CCAC guidelines on: the care and use of fish in research, teaching and testing / J. Batt, K. Bennett-Steward, C. Couturier [et al.]. – Ottawa: CCAC, 2005. – 88 p.
9. Consolidated version of the treaty on the functioning of the european // Official J. European Union. – 2012. – С. 326. – P. 47–199. – (Офіційне видання).
10. Darmaillacq A. Cephalopod Cognition / A. Darmaillacq, L. Dickel, J. Mather. – Cambridge: CUP, 2014. – 247 p.
11. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the council of 22 September 2010 (on the protection of animals used for scientific purposes) // Official J. European Union. – 2010. – L. 276. – P. 33 – 79. – (Офіційне видання).
12. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes // Official J. European Communities. – 1999. – L. 222. – P. 29 – 37. – (Офіційне видання).
13. Close B. Recommendations for euthanasia of experimental animals: Part 1 / B. Close, K. Banister, V. Baumans [et al.] // Laboratory Animals. – 1996. – Vol. 30. – P. 293–317.
14. Close B. Recommendations for euthanasia of experimental animals: Part 2 / B. Close, K. Banister, V. Baumans [et al.] // Laboratory Animals. – 1997. – Vol. 31. – P. 1–32.

15. **Forbes D.** Euroguide on the accommodation and care of animals used for experimental and other scientific purposes (Based on the revised Appendix A of the European Convention ETS 123) / D. Forbes, C. H. Blom, N. Kostomitsopoulos, G. Moore and G. Perretta. – London: FELASA, 2007. – 65 p.
16. **Guidelines** for the Use of Fishes in Research / J. A. Jenkins, Chair, H. L. Bart, Jr. [et al.]. – Bethesda: AFS, 2013. – 73 p.
17. **Russell W. M. S.** The Principles of Humane Experimental Technique (Special edition) / W. M. S. Russell, R. L. Burch. – South Mimms: UFAW, 1992. – 238 p.
18. **Stoskopf M.** Anesthesia and restraint of laboratory fish / M. Stoskopf, L. P. Posner // Anesthesia and analgesia in laboratory animals / [Edited by R. E. Fish, M. J. Brown, P. J. Danneman and A. Z. Karas]. – Second edition. – London: Elsevier, 2008. – Ch. 21. – P. 519–534.

A.B. Романенко, М.М. Груша

Национальный медицинский университет имени А. А. Богомольца, Киев, Украина

БИОЭТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ГИДРОЭКОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

В статье освещаются современные представления о внедрении принципов и норм биоэтики в планирование, организацию и проведение гидроэкологических исследований. Обсуждаются биоэтические аспекты условий содержания водных животных и их использования при выполнении научных исследований. Приводятся методы анестезии и эвтаназии водных животных, принятые международным научным сообществом в соответствии с существующими принципами и нормами биоэтики.

Ключевые слова: биоэтические нормы и принципы, гидробионты, методология научных исследований, экологические и гидробиологические исследования.

O.V. Romanenko, M.M. Grusha

O.O. Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine

BIOETHICAL ASPECTS OF HYDROECOLOGY RESEARCH

The article highlights the modern views on the implementation of the principles and norms of bioethics in planning, organizing and conducting hydroecology research. Bioethical aspects of the conditions of aquatic animals and their use in carrying out scientific research are discussed. The methods of anesthesia and euthanasia of aquatic animals, adopted by the international scientific community, in accordance with existing norms and principles of bioethics are presented.

Keywords: bioethical norms and principles, hydrobiots, research methodology, ecological and hydrobiological research

УДК 591.524.1 : (595.371 : 591.543.1)

**В.Д. РОМАНЕНКО, Ю.Г. КРОТ, Т.І. ЛЕКОНЦЕВА, А.Б. ПОДРУГІНА,
Т.В. ФРИНОВСЬКА**

Інститут гідробіології НАН України

пр. Героїв Сталінграда, 12, Київ, 04210, Україна

СТРУКТУРНО–ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН УГРУПОВАНЬ ГАМАРИД МІЛКОВОДНОЇ ЗОНИ КИЇВСЬКОГО ВОДОСХОВИЩА ПІД ВПЛИВОМ ВИСОКИХ ТЕМПЕРАТУР

Проведено оцінку структурно-функціонального стану угруповань гамарид у мілководній зоні Київського водосховища при підвищенні температури води до 26–30 °С. Основу угруповань становили *Dikerogammarus haemobaphes* (Eichwald, 1841), *Dikerogammarus villosus* (Sowinsky, 1894), *Chaetogammarus ischnus* (Stebbing, 1898), *Pontogammarus robustoides* (Sars, 1894). Показано вплив локальних температурних умов середовища на особливості