

УДК [502/504:582.232]:615

**ПІДБІР І ВИКОРИСТАННЯ МОЛЕКУЛЯРНИХ МАРКЕРІВ
ДЛЯ ОЦІНКИ БІОБЕЗПЕКИ ЗАБРУДНЮВАЧІВ ВОДНОГО
СЕРЕДОВИЩА**

Горин О. І., Сорока О. В., Ковальська Г. Б., Боднар О. І.

Тернопільський національний педагогічний університет
імені Володимира Гнатюка

E-mail: horynoi@tnpu.edu.ua

Впродовж останніх років рівень фармацевтичних препаратів та їх похідних у навколишньому середовищі невпинно зростає, що викликає стурбованість науковців та громадськості. Так, одне з європейських агентств з навколишнього середовища (UBA), оприлюднило дані, що у Європейському водному просторі понад 156 лікарських засобів присутні у небезпечних для живих організмів, у тому числі людини, мікромолярних концентраціях: 0,1–10,0 мкг/л. Аналогічна ситуація характерна і для ціанотоксинів та пестицидів. Особливості сучасного антропогенного пресу та комплексна дія численних чинників, що реалізується на тлі змін клімату, вимагають нових підходів у виявленні та встановленні біобезпеки новітніх забруднювачів, оскільки традиційні хімічні методи не забезпечують об'єктивного бачення [<https://www.fao.org/3/cb3411en/cb3411en.pdf>].

З погляду постійних адаптивних процесів біоти до умов існування в антропогенно-трансформованих водоймах важливим є встановлення діапазону резистентності організму, а також розвиток стратегії цих компенсаторних процесів. В Україні зазначені питання є малодослідженими, тому важливими є результати, які доповнюють цю проблему актуальними даними і дозволяють оцінити як екологічну небезпеку окремих забруднювачів, так екотоксикологічну ситуацію загалом. Результати нашого комплексного дослідження забезпечили важливий крок у розумінні фізіолого-біохімічних процесів, а

відтак адаптивних змін в еволюційно консервативних сигнальних механізмах стійкості, до впливу поширених новітніх забруднювачів водного середовища (ціанотоксинів, фармацевтиків, пестицидів, УФ-фільтрів). Власне, нами застосовано інтегральне використання молекулярних, фізіологічних та цитогенетичних підходів, які пов'язують молекулярні і клітинні реакції із характеристиками стресу та життєздатності для оцінки множинних впливів фармацевтиків, пестицидів та ціанотоксинів.

Для реалізації експериментальної частини відбиралася коропова риба *Cyprinus carpio* із рибогосподарського ставу та *Danio rerio*, яка закуплялася у зоомагазині. З водою відбиралися зразки води для ідентифікації філаментів штамів роду *Cylindrospermopsis* і *Aphanizomenon*, які в подальшому культивувалися для отримання монокультури ціанобактерій, що використовувалася для приготування безклітинних екстрактів. Коропа та смугастого данію піддавали у лабораторному експерименті впливу пестицидів (гербіцидів та інсектицидів поокремо та у суміші), гіпохолестеринемічного препарату класу статинів, нестероїдного протизапального препарату, екстрактів ціанотоксинів – препаратів циліндроспермопсину, мікроцистину та поліметокси-1-алкenu протягом 14 діб.

Виконання роботи передбачало використання як загальноприйнятих підходів до вибору матеріалів і методів та постановки токсикологічних експериментів, так і специфічного набору лабораторних інструментів та аналізу отриманих даних. Системне дослідження реакцій організму риб охоплювало ряд показників: 1) антиоксидантного захисту; 2) окисного ушкодження, 3) цитотоксичності, 4) нейротоксичність, 5) апоптозу, 6) ушкодження та репарація ДНК, 7) імунного статусу, 8) ендокринних розладів; 9) стан системи I та II трансформації ксенобіотиків; 10) метаболізму ліпідів.

У результаті виконання роботи ми: **1)** довели, що досліджувані екстракти центральноєвропейських штамів ціанобактерій *Aphanizomenon gracile* та *Raphidiopsis raciborskii* є токсичними для смугастого данію, причому механізми токсичності досліджуваних біоактивних сполук, вилучених із зазначених штамів відрізняються від очищених

циліндроспермопсину (CYN) та мікроцистину-LR (MC-LR), а також з'ясували, що на відміну від CYN та MC-LR, *A. gracile* та *R. raciborskii* не проявляли генотоксичного потенціалу; 2) з використанням екстрактів трьох штамів ціанобактерій *A. gracile* та *R. raciborskii* з різних районів Центральної Європи та очищених препаратів ціанотоксинів виявили у *Danio rerio* появу ознак окисного стресу та нейротоксичності, пригнічення експресії Nrf2 та CYP26B1, порушення процесів фосфорилування / дефосфорилування у клітинах, а також зазначені речовини викликали деструктивні зміни цитоскелету (встановленими за рівнем експресії актину / тубуліну), стимулювали апоптотичну активність у печінці та порушували процеси ліпідного обміну залежно від природи діючого чинника. Механізми впливу різних штамів відрізнялися як один від одного, так і від дії чистих токсинів; 3) виконали дослідження токсичності екстрактів *Aphanizomenon gracile*, *Aphanizomenon sp.*, прісноводного штаму *Planktothrix agardhii* та двох штамів *Raphidiopsis raciborskii* 25- та 70-денних культур, що дозволило аргументувати відсутність чіткої закономірності щодо ступеня токсичності стадії «цвітіння» ціанобактерій. Це означає, що молоді ціанобактеріальні цвітіння, які тільки формуються, можуть становити не менш токсичну загрозу для водних хребетних та функціонування екосистеми, як ті, що є дозрілими з тенденцією до руйнування; 4) провели порівняльний аналіз впливу двох поширених органічних УФ-фільтрів (енсулізол і октокрилен) на коропову рибу *D. rerio*, який засвідчив токсичний ефект аналізованих речовин після впливу сублетальних доз (100 мкг/л), незважаючи на відсутність гострої реакції на екологічно реальні концентрації (10 мкг/л). Негативний ефект впливу вищих концентрацій, оцінений за показниками окисного ушкодження, рівнем апоптозу та маркерами запалення, був сильнішим за дії гідрофільного УФ-фільтра енулізолу, у порівнянні з гідрофобним біоакумулюючим октокриленом. На відміну від октокрилену, де рівень стресових реакцій залежав від концентрації, вплив енулізолу спричиняв більш виражений токсичний ефект при впливі низьких концентрацій, порівняно з високими, що підтверджує необхідність включення низьких концентрацій УФ-фільтрів у тестування токсичності

навколишнього середовища та необхідність подальших досліджень з більш високою роздільною здатністю експериментальних тестових концентрацій; **5)** показали, що органофосфатні пестициди малатіон і хлорпірифос в екологічно релевантних концентраціях, поряд із з іншими фоновими забруднювачами водойм – УФ-фільтрами та ціанотоксинами, обумовлюють розвиток окисного стресу, виснаження пулу клітинних тіолів, збільшення активних форм кисню, карбонілу та нітрогену, репродуктивні розлади, зростання рівня набрякання мітохондрій та зменшення стійкості лізосомальних мембран у смугастого данію, як нецільового організму. Хлорпірифос був більш токсичним для данію, ніж малатіон. Порушення стабільності лізосомальних мембран відбувається узгоджено з активацією катепсину *D* ($r = -0,6$, $p < 0,001$) та дестабілізацію зовнішніх мембран мітохондрій ($r = 0,45$, $p = 0,013$), що, в свою чергу, викликає загибель гепатоцитів *D. rerio*. Концентрація імуноглобуліну *M* та ацетилхолінстеразна активність належать до показників, які на етапі попереднього аналізу за принципом «система ранньої оцінки» дозволяють ідентифікувати ступінь ризику токсиканту для нецільового організму; **6)** обґрунтували, що атразин проявляє більший пошкоджуючий вплив, порівняно з раундапом, при чому домінантою є природа діючого чинника, концентраційна залежність має другорядний характер. Відповідь данію на вплив екологічно реальної концентрації раундапу можна класифікувати як низькотоксичну – в межах адаптивного потенціалу, тоді як висока концентрація діючого чинника і атразин в обох досліджуваних концентраціях проявляє чітко виражений негативний ефект на фізіолого-біохімічні системи данію. Раундап та, особливо, атразин мають чіткий ендокрин- та імунодизруптивний ефекти, тоді як загальноприйнятих ознак нейротоксичності (за показником АХЕ активності у мозку данію) зареєстровано не було; **7)** за результатами використання методу головних компонент та дискримінантного аналізу встановили, що показники ендокринних розладів (вітелогенін), окисного стресу (загальна антиоксидантна активність, глутатіон) та біотрансформації належать до домінантних для специфікації груп за типом та глибиною пошкоджуючих ефектів; **8)** довели, що гемфібозил та ібупрофен уже в екологічно реальних

концентраціях викликають глибокі зміни в антиоксидантній системі з одночасною індукцією біогенезу лізосом. Разом з цим, ібупрофен сприяв карбонілюванню протеїнів та збільшував кількість вітеллогеніноподібних протеїнів, що свідчить про його вищу небезпеку для водної біоти та навколишнього середовища, ніж гемфіброзилу; 9) на основі аналізу отриманих даних запропонували оцінювати ступінь пошкоджувального впливу новітніх забруднювачів на водні екосистеми за сукупністю показників окисного стресу, ендокринних розладів та цитотоксичності у тканинах печінки і крові коропових риб з обрахунком інтегрального ефекту (індексу) та класифікувати його як «адаптивна відповідь», «перевищення лімітів толерантності, стрес», «переддепресивний стан», «помірна токсичність», «гостра токсичність».

Результати проекту можуть бути застосовані в екологічному моніторингу прісноводних екосистем, для передбачення ризиків пошкоджуючого впливу ціанотоксинів, УФ-фільтрів, фармацевтиків та широкоживаних в сільськогосподарських угіддях України пестицидів, для оцінки ефектів впливу токсикантів на біоту з подальшою екстраполяцією результатів на вищих тварин, а відтак для людини.

Робота виконана за підтримки Національного фонду досліджень України (№ 2020.02/0270) та Міністерства освіти і науки (№ МВ-2).

УДК 616.61-091.08-02:616.1/9-008]-085.361:611.013-092.9

БІОХІМІЧНИЙ АНАЛІЗ ЗМІН НИРКОВИХ МАРКЕРІВ У КРОВІ ЩУРІВ ЗА УМОВ ГОСТРОГО РЕСПІРАТОРНОГО ДИСТРЕС-СИНДРОМУ

Палій І.Р., Довгалик А.І., Довбуш А.В., Грималюк О.І.

Тернопільський національний медичний університет
імені І.Я. Горбачевського

E-mail: palii@tdmu.edu.ua

Гострий респіраторний дистрес-синдром (ГРДС) асоціюється з високою смертністю [2]. Системна запальна реакція, пов'язана з ГРДС, не тільки спричиняє ураження легень, але й суттєво впливає на серцево-судинну, ниркову та